

*Г.М. Захарова*

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-МОРФОЛОГІЧНА  
ОЦІНКА ПЕЧІНКИ ПРИ  
ЕНДОТОКСИНОВОМУ УРАЖЕННІ**

Вивчено особливості морфологічних змін тканин печінки на ультраструктурному рівні при ендотоксिनній інтоксикації в експерименті. При впливі ендотоксину кишкової мікрофлори визначалися виражені дисциркуляторні зміни, жирова та гідропічна дистрофія гепатоцитів з ознаками токсичного ушкодження їхніх ядер, але разом з тим зберігалася підвищена гіперпластична активність синусоїдальних клітин. Виявлені зміни пов'язані як із прямою токсичною дією ендотоксину, так і з наслідками окисного стресу, потужним індуктором якого і є ендотоксин. Будучи чинником токсичного ураження печінки, ендотоксин призводить до погіршення її морфологічної структури та функціональних властивостей.

**Ключові слова:** ендотоксин, печінка, щури, морфологія.

*A.N. Zacharova*

**EXPERIMENTAL-MORPHOLOGICAL  
EVALUATION OF THE LIVER BY ENDOTOXIN  
INTOXICATION**

Pekuliarities of morphological changes of liver tissues at ultra-structural level by endotoxin intoxication has studied

The following results were revealed in actions of endotoxins of the intestinal microflora were founded severe discirculatory changes, fat and hydropic dystrophy of hepatocytes with symptoms of toxic damage of the nucleus, meanwhile the hyperplastic activity of sinusoidal cells were present. This changes happened due to direct effects of the endotoxin, and also as a result of oxidized stress. Powerful inductor of these changes is endotoxin. It has been shown that endotoxin is the main factor of increasing level of toxic compounds which leads to worsening of vital activity of the liver.

**Key words:** endotoxin, liver, rats, morphology.

*Поступила 27.08.12*

УДК 616.314.17-008.1:579.84:616.33/345

*И.И. Соколова, Е.Н. Рябоконт, В.В. Олейничук  
Харьковский национальный медицинский университет*

**ВИДОВОЙ СОСТАВ АНАЭРОБНОЙ МИКРОФЛОРЫ  
ПАРОДОНТАЛЬНЫХ КАРМАНОВ У БОЛЬНЫХ  
ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМИ ФОРМАМИ ПАРОДОНТИТА  
НА ФОНЕ ПАТОЛОГИИ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ**

Проведено сравнительное изучение видового состава анаэробной микрофлоры пародонтальных карманов у больных генерализованным пародонтитом, протекающим на фоне *H. pylori*-ассоциированной патологии органов пищеварения методом мультипраймерной полимеразно-цепной реакции. Установлено, что при контаминации пародонтальных карманов *H. pylori* в них увеличивается количество анаэробной микрофлоры. Предложенная схема полимеразно-цепной реакции может быть полезна для диагностики и обоснования выбора метода антимикробной терапии.

**Ключевые слова:** полимеразно-цепная реакция, *H. pylori*, пародонтит.

Факт существования тесной связи между заболеваниями пародонта и патологией органов пищеварительной системы общеизвестен [1, 2]. Высокая распространённость и особенности клинического течения болезней органов пищеварения делают их значимой медико-социальной проблемой [3]. Инфекционная теория генеза патологии гастродуоденальной системы после открытия австралийскими учёными В. Marshal и Р. Warren бактерии *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) является приоритетной в гастроэнтерологии

[4]. В литературе появились публикации, авторы которых доказывают способность *H. pylori* индуцировать не только болезни органов пищеварения, но и внегастральную патологию [5–8]. Данная проблема является актуальной для разных отраслей медицины, в том числе и для стоматологии, поскольку бактерия в высоких концентрациях выявляется в зубном налёте и пародонтальных карманах [9]. Многие исследователи считают микробный фактор пусковым механизмом в развитии заболеваний

© И.И. Соколова, Е.Н. Рябоконт, В.В. Олейничук, 2012

пародонта, определяющим характер течения воспалительных реакций.

В 1994 – 1995 гг. ВОЗ рекомендовала среди нормальной или резидентной флоры полости рта выделять так называемые «периодонтопатогенные виды», относящиеся к группе анаэробов, которые обладают высокими адгезивными, инвазивными и токсическими свойствами по отношению к тканям пародонта. К ним относят бактерии *Actinobacillus (Aggregatibacter) Actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus (Tannerella forsythia)* и *Treponema denticola*. Отличительной особенностью этих бактерий является то, что при их разрушении выделяются чрезвычайно активные эндотоксины, которые приводят к длительному воспалению и разрушению тканей десны и альвеолярного отростка челюсти [10]. Они также вызывают общую интоксикацию организма с поражением иммунной и эндокринной систем, провоцируют развитие атеросклероза сосудов мозга и сердца, повышают риск развития инсульта и инфаркта миокарда [11]. Ввиду того, что тесные анатомические, нервные и гуморальные взаимосвязи между органами пищеварения и полостью рта создают предпосылки для вовлечения пародонта в воспалительный процесс при патологии органов пищеварения, возникает вопрос: как отражается контаминация *H. pylori* на видовом составе микрофлоры пародонтальных карманов у больных с генерализованным пародонтитом, протекающим в сочетании с *H. pylori*-ассоциированной патологией органов пищеварения?

Следует указать, что основная трудность изучения как анаэробных бактерий, так и *H. pylori* связана с техническими проблемами культивирования данных микроорганизмов. Полимеразно-цепная реакция (ПЦР), как современный метод молекулярной биологии, позволяет решить эту проблему. Обладая высокой специфичностью, ПЦР даёт возможность идентифицировать видоспецифичный фрагмент бактериальной ДНК и, таким образом, типировать и дифференцировать штаммы бактерий. Материалом для проведения диагностики могут служить биоптаты слизистой оболочки, смывы из полости рта, зубной налёт, содержащее пародонтальных карманов [12].

Целью данной работы явилось сравнительное изучение видового состава анаэробной микрофлоры пародонтальных карманов у больных генерализованным пародонтитом в сочетании с *H. pylori*-ассоциированной патологией органов пищеварительной системы.

**Материал и методы.** Было сформировано

две группы обследуемых по 20 человек в каждой: 1-я – лица с генерализованным пародонтитом I–II степени тяжести, с хроническим течением, обусловленным местными неблагоприятными факторами (аномалии прикуса, нерациональное протезирование, плохая гигиена полости рта), без гастродуоденальной патологии, проходившие лечение на клинической базе кафедры терапевтической стоматологии в учебном стоматологическом центре ХНМУ; 2-я группа – лица, имеющие аналогичный пародонтальный статус, но проходившие стационарное лечение в гастроэнтерологическом отделении областной клинической больницы г. Харькова, с установленным диагнозом язвенная болезнь желудка или язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки. Пациенты 2-й группы имели положительный результат ПЦР на инфицированность *H. pylori* биоптатов, полученных при фиброгастродуоденоскопии.

Детекцию патогенов в полости рта осуществляли методом мультипраймерной ПЦР. Материал исследования – зубной налёт и содержимое пародонтальных карманов. Забор материала осуществляли стерильными бумажными абсорбирующими штифтами (Meta Dental, Корея) № 35. ДНК выделяли щелочным методом с помощью наборов «ДНК-экспресс» (НПФ «ЛИТЕХ», Москва). В качестве ДНК-мишени использовали нуклеотидные последовательности генов *H. pylori*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola*. Амплификацию осуществляли под контролем компьютерной программы МС16 на мультициклере «Терцик» МС-2 (АО «ДНК-Технологии», Москва). Температурный режим реакции: предварительная денатурация ДНК при температуре 94 °С в течение 5 мин; 35 циклов, включающих денатурацию ДНК при 95 °С в течение 1 мин, отжиг праймеров при 61 °С в течение 1 мин, синтез комплементарной цепи при 72 °С в течение 2 мин. До проведения электрофоретического разделения к амплификационной смеси добавляли раствор бромистого этидия, образующий с двухцепочечными фрагментами ДНК прочные соединения внедрения. Эти соединения под действием ультрафиолетового облучения способны флуоресцировать, что регистрировалось в виде оранжево-красных светящихся полос после электрофоретического разделения амплификационной смеси в 1,5%-ном агарозном геле в трис-боратной буферной системе.

Молекулярно-генетические методы обследования проведены на базе Научно-производственной фирмы «АНАЛИТИКА», г. Харьков (лицензия МОЗ Украины № 202798).

**Результаты и их обсуждение.** Полученные результаты исследования отражены в таблице.

ния *H. pylori*, рассматривать *H. pylori* как симбионт, приспособленный к жизнедеятельности

*Микрофлора пародонтальных карманов больных генерализованным пародонтитом по данным ПЦР*

Виды микроорганизмов	1-я группа (n=20)		2-я группа (n =20)	
	n	%	n	%
<i>Helicobacter pylori</i>	3	15	20	100
<i>Bacteroides forsythus</i>	7	35	11	55
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	3	15	5	25
<i>Prevotella intermedia</i>	8	40	10	50
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	8	40	12	60
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	4	20	7	35
<i>Treponema denticola</i>	9	45	14	70

В результате исследований зубного налёта и содержимого пародонтальных карманов было установлено, что *H. pylori* встречался у всех пациентов 2-й группы (100%) и у 3 пациентов 1-й группы (15%). *Bacteroides forsythus* – у 7 пациентов 1-й группы (35%) и у 11 пациентов 2-й группы (55%). Выявлено 3 положительных результата детекции *Fusobacterium nucleatum* у больных 1-й группы (15%) и у 5 больных 2-й группы (25%); *Prevotella intermedia* встречалась у 8 пациентов 1-й группы (40%) и у 10 – 2-й (50%). *Porphyromonas gingivalis* определялась у 8 пациентов 1-й группы (40%) и у 12 – 2-й (60%). *Actinobacillus actinomycetemcomitans* был обнаружен у 4 пациентов 1-й группы (20%) и у 7 пациентов 2-й группы (35%). Положительный результат детекции *Treponema denticola* в 1-й группе был получен у 9 пациентов (45%) во 2-й – у 14 (70%). Не было обнаружено корреляции между наличием в пробе какого-либо микроорганизма и степенью тяжести генерализованного пародонтита, однако полученные данные позволяют выявить некоторые закономерности.

Так, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* и *Fusobacterium nucleatum* встречались реже других анаэробов как в 1-й, так и во 2-й группе. Доля таких микроорганизмов, как *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, была диагностически значимым показателем. Тем не менее, встречаемость представителей анаэробной микрофлоры была выше у больных 2-й группы. Данный факт можно трактовать следующим образом.

Хотя физико-химические условия полости рта значительно отличаются от таковых в желудке, приспособляемость *H. pylori* к условиям существования остаётся высокой, что подтверждается положительными результатами ПЦР, полученными у больных 2-й группы. Если учитывать оральный путь инфицирова-

в неблагоприятных условиях желудка, среди которых наиболее агрессивные штаммы становятся патогенными, а также учитывать, что бактерия обладает мощной уреазной активностью, закономерно будет предположить, что колонизация пародонтальных карманов *H. pylori* не может не отразиться на микробном пейзаже пародонтальных карманов. В то же время возникающие вследствие язвенной болезни дисфункции различных регуляторных систем влекут за собой снижение барьерных свойств эпителия, благодаря чему возникают благоприятные условия для проявления патогенности условно-патогенной микрофлоры полости рта.

#### Выводы

1. Показано, что инфекция *H. pylori* в значительной мере отягощает течение генерализованного пародонтита. Контаминация *H. pylori* пародонтальных карманов может использоваться в качестве диагностического маркера смещения качественного состава микробиоценоза последних в сторону увеличения анаэробной микрофлоры.
2. Учёт выявленных особенностей изменения микрофлоры позволит более точно и своевременно прогнозировать, диагностировать и проводить адекватное лечение заболеваний пародонта у больных с гастроудоденальной патологией, ассоциированной с инфекцией *H. pylori*.

#### Список литературы

1. Робакидзе Н.С. Развитие гастроудоденальной патологии у больных, инфицированных *Helicobacter pylori*, в стоматологическом аспекте / Н.С. Робакидзе, А.В. Цимбалитов, М.А. Дубова // Вестник С.-Пб. ун-та. – 2006. – Сер. 11. – Вып. 1. – С. 110–116.
2. Лосев В.М. Воспалительные заболевания пародонта у пациентов с язвенной болезнью две-

- надцятиперстної кишки: особливості лічення / В.М. Лосев // Матер. VI Съезда Научного общества гастроэнтерологов России. – М., 2006. – С. 259.
3. Голубчиков М.В. Статистичний огляд захворюваності населення України на хвороби органів травлення / М.В. Голубчиков // Сучасна гастроентерологія і гепатологія. – 2000. – № 1. – С. 17–20.
  4. Свинцицкий А.С. Патогенез язвенной болезни в свете современных представлений / А.С. Свинцицкий, Г.А. Соловьева // Сучасна гастроентерологія. – 2000. – № 1. – С. 27–28.
  5. Фадеенко Г.Д. Helicobacter pylori и внегастральные проявления / Г.Д. Фадеенко // Укр. терап. журн. – 2004. – № 2. – С. 95–99.
  6. Исмоилов А.А. К вопросу о патогенетической взаимосвязи заболеваний пародонта с состоянием других органов и систем (обзор литературы) / А.А. Исмоилов, Д.Т. Махмудов // Стоматология Таджикистана. – Душанбе, 2008. – № 1. – С. 48–51.
  7. Николаев А.И. Особенности течения воспалительных заболеваний пародонта на фоне язвенной болезни с наличием дуоденогастрального рефлюкса / А.И. Николаев, М.Г. Сойхер // Сб. трудов VI Межрегиональной научн.-практ. конф. врачей Приволжско-Уральского округа «Актуальные вопросы военной и практической медицины». – Оренбург, 2005. – Т. II. – С. 347–349.
  8. Young K. A. Morphological analysis of Helicobacter pylori from gastric biopsies and dental plaque by scanning electron microscopy / К.А. Young, R.P. Allaker, J.M. Hardie // Oral Microbiol. Immunol. – 2001. – № 3. – P. 178–181.
  9. Bauermeister C.-D. Микробиологическая диагностика заболеваний тканей пародонта / С.-D. Bauermeister // Новое в стоматологии. – 2003. – № 7. – С. 27–30.
  10. Starka M. Parodontologia 2000 / M. Starka // N. Y., 2000. – Vol. 1 – P. 64.
  11. Царёв В.Н. Перспективы применения молекулярно-генетических методов исследования в диагностике пародонта / В.Н. Царёв, Е.Н. Николаева, Л.А. Плахтий // Рос. стомат. журн. – 2002. – № 5. – С. 6–9.

**I.I. Sokolova, E.M. Ryabokon, V.V. Oleynichuk**  
**ВИДОВИЙ СКЛАД АНАЕРОБНОЇ**  
**МІКРОФЛОРИ ПАРОДОНТАЛЬНИХ**  
**КИШЕНЬ У ХВОРИХ**  
**ГЕНЕРАЛІЗОВАНИМИ ФОРМАМИ**  
**ПАРОДОНТИТУ НА ФОНІ ПАТОЛОГІЇ**  
**ОРГАНІВ ТРАВНОЇ СИСТЕМИ**

Проведено порівняльне вивчення видового складу анаеробної мікрофлори пародонтальних кишень у хворих на генералізовані форми пародонтиту, поєднані з *H. pylori*-асоційованою патологією органів травлення методом мультипраймерної полімеразно-ланцюгової реакції. Встановлено, що при контамінації пародонтальних кишень *H. pylori* в них збільшується кількість анаеробної мікрофлори. Запропонована схема полімеразно-ланцюгової реакції може бути корисною для діагностики й обґрунтування вибору методу антимікробної терапії.

**Ключові слова:** полімеразна ланцюгова реакція, *H. pylori*, пародонтит.

**I.I. Sokolova, E.N. Ryabokon, V.V. Oleynichuk**  
**SPECIFIC STRUCTURE OF ANAEROBIC**  
**MICROFLORA OF PERIODONTAL POCKETS**  
**AT PATIENTS WITH GENERALIZED**  
**FORMS OF A PERIODONTAL DISEASE**  
**AGAINST PATHOLOGY OF BODIES OF THE**  
**GASTROINTESTINAL HIGHWAY**

The comparative study of specific composition of anaerobic microflora of periodontal pockets is conducted for patients by the generalised forms of periodontitis combined with *H. pylori*-combined with pathology of organs of gastrointestinal tract by the method of polymerase chain reaction PCR. It is set that at contamination in parodontal pocket *H. pylori* increases in them amount of anaerobic microflora. An offer chart of PCR can be useful to diagnostics and ground of choice method of antimicrobial therapy.

**Key words:** polymerase chain reaction, *H. pylori*, periodontitis.

**Поступила 18.10.12**