

УДК 616.31-008.87:615.212.7]-092.4/9

В. Б. Фік, Й. М. Феденко, Ю. Я. Кривко  
 Львівський національний медичний університет ім. Д. Галицького

## ДИСБІОЗИ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ ПРИ ТРИВАЛОМУ ВПЛИВІ ОПІОЇДНОГО АНАЛЬГЕТИКА В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Експерименти проводились на білих щурах-самцях (20), віком 3,5-7,5 міс. Тварини отримували опіоїдний анальгетик, похідне морфіну (10 тижнів). Проводили мікроскопічне дослідження мазків і бактеріологічні посіви.

Мікробіологічні дослідження вказують, що при опіатній інтоксикації розвивається дисбактеріоз ротової порожнини, з'являються патогенні та активізуються умовнопатогенні види бактерій. Результати наших досліджень співпадають з даними літератури, які вказують на значення грампозитивної мікрофлори у розвитку гнійно-запальних процесів у ротовій порожнині, зокрема значення *St. aureus*, якому властивий широкий діапазон адаптаційних властивостей та наявність токсинів з некротичною дією.

**Ключові слова:** ротова порожнина, опіоїд, мікробіологічне дослідження.

*Робота є фрагментом НДР: «Структурна організація, ангіоархітектоніка та антропометричні особливості органів у внутрішньо-та поза утробному періодах розвитку, за умов екзо- та ендопатогенних факторів» (№0115 U000041).*

Зловживання психоактивними речовинами стало одним з найбільш актуальних питань сучасної наркології, особливо в час складних соціально-економічних перетворень в суспільстві. Зокрема, наркоманія сприяє розвитку і ускладнює перебіг усіх стоматологічних захворювань, утруднює проведення диференціальної діагностики та лікування патології органів ротової порожнини [3].

Згідно із сучасними уявленнями, мікрофлора ротової порожнини складає особливий мікробіоценоз, який в нормі бере участь у певних фізіологічних процесах, але при порушеннях видового і кількісного складу стає етіологічним фактором при розвитку хвороб зубів і пародонту. При цих процесах спостерігаються виражені зміни складу мікрофлори зубної бляшки та гінгівальних кишень з переважанням грамнегативної мікрофлори, зокрема анаеробних видів [1, 4, 9, 10, 11]. При поширенні запального процесу на тканини пародонту можливе проникнення мікроорганізмів у порожнину зуба з подальшим розвитком пульпіту, етіологічним фактором якого є анаеробна грамнегативна мікрофлора [4, 10]. При гнійно-запальних процесах тканин пародонту, зокрема, ясен часто виділяються коагулазонегативні та коагулазопозитивні стафілококи, зокрема, *St. aureus* [5, 8].

Проте, питання про зв'язок між видовим складом і кількісними співвідношеннями мікробіоценозів ротової порожнини та формою і стадією запальних процесів пародонту залишається дискусійним і потребує подальшого вивчення із застосуванням сучасних методик мікробіологічних досліджень [2]. Мікробіологічні дослідження дають можливість конкретизувати етіологічні фактори при різних захворюваннях ротової порожнини і вибрати оптимальні способи лікування і профілактики [1, 4, 12].

**Метою** роботи було дослідити зміни мікробіоценозів ротової порожнини експериментальних тварин при тривалій дії опіоїдного анальгетика та виявлення мікробних агентів, що спричиняють розвиток патологічних змін у тканинах пародонту.

**Матеріал та методи дослідження.** Експерименти проводились на білих щурах-самцях (20 особин) віком 3,5-7,5 місяців, масою тіла 160-200 г. Усі тварини, відібрані для експерименту, перебували в умовах віварію, в якому забезпечувались умови згідно «Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин». Візуально визначався стан слизової оболонки в ділянках власне ротової порожнини та присінку рота. При ретельному огляді звертали увагу на відсутність запальних змін чи інших патологічних явищ, орієнтуючись на вологість та колір слизової, відсутність ерозій, нальотів, виразок. У піддослідних тварин слизова була помірно зволожена, блідо-рожевого кольору, без видимих патологічних змін.

Опіоїдну інтоксикацію у тварин відтворювали за методикою [6]. Піддослідні тварини протягом 70 днів (10 тижнів) отримували опіоїдний анальгетик («Налбуфін», похідне морфіну). Опіоїд вводили дом'язово, один раз в день, в однаковий час з поступовим, через 2 тижні, підвищенням дози.

Протягом усього періоду експерименту велись спостереження за станом слизової власне ротової порожнини та присінку рота з оцінкою ступеня вираженості патологічних змін: 0 балів –

без видимих змін; ступінь 1–зміна кольору, набряк слизової; ступінь 2– зміна кольору, набряк слизової, ерозії; ступінь 3– зміна кольору, набряк слизової, ерозії, виразки; ступінь 4– зміна кольору, набряк слизової, ерозії, виразки, некротичні зміни. Бактеріологічні дослідження проводились на початку експерименту та наприкінці спостереження (десятий тиждень). Ці дослідження включали мікроскопічне дослідження мазків і бактеріологічні посіви з метою оцінки видового і кількісного складу мікрофлори [7]. Матеріал забирався за допомогою стерильної каліброваної бактеріологічної петлі (0,02 мл.) з поверхні зубів (зубної бляшки), а також з вільної частини ясен в пришийковій ділянці зуба. Посіви проводили в пробірки з цукровим бульйоном, на м'ясо-пептонний агар, жовтково-сольовий агар, середовище Ендо і середовище Сабуро. Кількісні показники визначались в колонієутворюючих одиницях на 0,02 мл (КУО \ 0,02мл). Виділені культури ідентифікували за комплексом морфотинкторіальних, культуральних і біохімічних властивостей. Паралельно готували препарати-мазки для мікроскопічного дослідження за методом Грама. У мазках оцінювали наявність клітинних елементів слизової, еритроцитів, лейкоцитів і морфотинкторіальні типи мікрофлори.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Перед початком дослідження, при мікроскопії, у складі мікрофлори зубної бляшки піддослідних тварин виявлено переважання грампозитивної кокової і паличкоподібної мікрофлори. Виявлялись поодинокі епітеліальні клітини та лейкоцити.

При бактеріологічному дослідженні виявлялась грампозитивна кокова мікрофлора (коагулазонегативні стафілококи, негемолітичні та  $\alpha$ - гемолітичні стрептококи), неспорові та спорові грампозитивні палички, а також грамнегативні коки та палички. Патогенні види бактерій не виявлялись. Від однієї піддослідної тварини виділялось до 5 видів аеробних бактерій у різних комбінаціях, у яких переважали негемолітичні та  $\alpha$ - гемолітичні стрептококи, коагулазонегативні стафілококи, спорові та неспорові грампозитивні палички та в окремих тварин – ешерихії в помірних кількостях (рис. 1). На десятому тижні експерименту практично у всіх тварин (95%) відмічались запальні зміни слизової власне ротової порожнини, присінку рота та ясен. Вираженість цих змін була різною.

Набряк і значне почервоніння слизових без ерозій чи виразок (ступінь 1) виявлено у 10% тварин. Такі ж зміни з поверхневими ерозіями слизової (ступінь 2) відмічались у 30% тварин. Більш глибокі ураження з утворенням виразок (ступінь 3) розвинулись також у третини піддослідних тварин. У 25% щурів зміни слизових набули характеру некротичного процесу (табл. 1).

При мікроскопічному дослідженні мазків виявлено певні особливості в залежності від ступеня розвитку процесу. При першому ступені виявлено епітелій слизової - клітини до 10 в полі зору, на поверхні яких часто спостерігалась адсорбція кокової мікрофлори. Лейкоцити - до 20 у полі зору. При другому – третьому ступені розвитку патологічного процесу збільшувалась кількість лейкоцитів до 70 в полі зору, епітеліальних клітин з ознаками дегенерації, мікробних клітин – по всьому полі зору, часто у вигляді скупчень (бляшок) які можна було ідентифікувати як стафілококи чи стрептококи. При четвертому ступені мікроскопічна картина вказувала на запально-некротичний процес, зокрема, виявляли епітеліальні клітини з

ознаками дегенеративних змін та руйнування, по всьому полі зору – мононуклеари та сегментоядерні лейкоцити, еритроцити, автофагоцитоз еритроцитів. Переважала грамнегативна мікрофлора, сформована у вигляді скупчень–бляшок, а також скупчення кокової грампозитивної мікрофлори (рис. 2).

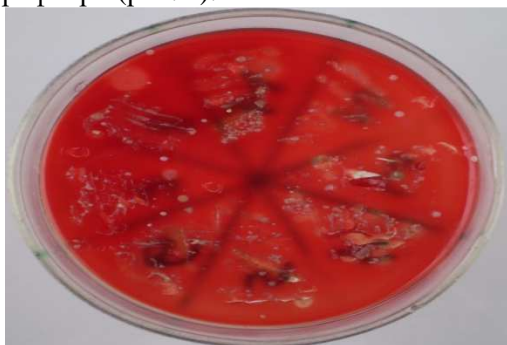


Рис. 1. 36. 1 x 1. Ріст різних видів бактерій на кров'яному агарі (первинний посів з ротової порожнини щура).

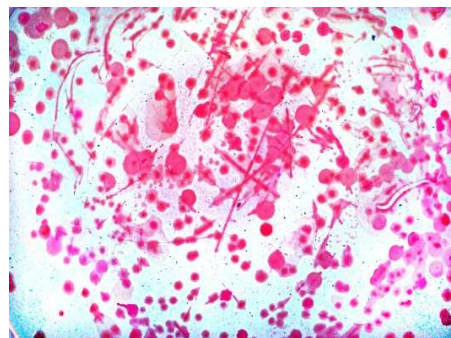


Рис. 2. 10-й тиждень. Мікрофото зубної бляшки. Об. x 90, ок. x 80. Ознаки запально-некротичного процесу.

**Результати бактеріологічних досліджень мікрофлори ротової порожнини щурів при тривалій опіатній інтоксикації**

Вираженість процесу	Кількість тварин	Мікробні асоціації			Патогенні та умовно-патогенні види	
		≥5 видів	3-4 види	1-2 Види	Назва виду	Кількісні показники КУО(0,02мл)
0	1 (5%)	1	-	-	St. aureus	не виявл.
					Е. coli гемолітична	не виявл.
					Коагулазонегативні стафілококи	22±3,1
					Е. coli	26±3,4
					α- гемолітичні стрептококи	29±3,1
1	2(10%)	1	1	-	Candida	11±1,7
					St. aureus	9±1,3
					Е. coli гемолітичні	поодин. кол
					Коагулазонегативні стафілококи	56±2,6
					Е. coli	23±1,6
2	6(30%)	-	4	2	α- гемолітичні стрептококи	52±3,3
					Candida	5±0,5
					St. aureus	13±1,2
					Е. coli гемолітичні	поодин. кол
					Коагулазонегативні стафілококи	65±3,6
3	6 (30%)	-	2	4	Е. coli	24±2,5
					α- гемолітичні стрептококи	56±2,8
					Candida	10±0,6
					St. aureus	21±2,1
					Е. coli гемолітичні	поодин. кол
4	5(25%)	-	-	6	Коагулазонегативні стафілококи	68±2,9
					Е. coli	26±1,9
					α-гемолітичні стрептококи	61±3,1
					Candida	5±0,5
					St. aureus	35±2,4
					Е. coli	34±2,2
					α- гемолітичні стрептококи	61±3,6
					Candida	5±0,3
					Коагулазонегативні стафілококи	72±3,4
					Е. coli гемолітичні	поодин. кол

Як видно з табл. 1, із слизової оболонки ротової порожнини виділялись мікробні культури як асоціації різних видів. Склад цих асоціацій, а також кількісні характеристики окремих видів залежав від ступеня розвитку запального процесу. У всіх піддослідних тварин виявлено патогенні види - St. aureus, ешерихії з гемолітичними властивостями. При початкових ступенях виділялося по 3-4 види бактерій, а при виражених запальних та некротичних змінах – по 1-2 види, але в значно більших кількостях.

Кількість St. aureus зросла в 4 рази. Також зростала кількість умовно-патогенних та сапрофітних бактерій, зокрема ешерихій, коагулазонегативних стафілококів, гемолітичних стафілококів (рис. 3) та α-гемолітичних стрептококів. Постійно виділялись гриби Candida (рис. 4).



Рис. 3. 10-й тиждень. Зб. 1 x 4. На середовищі кров'яного агару колонії гемолітичних і негемолітичних стафілококів.

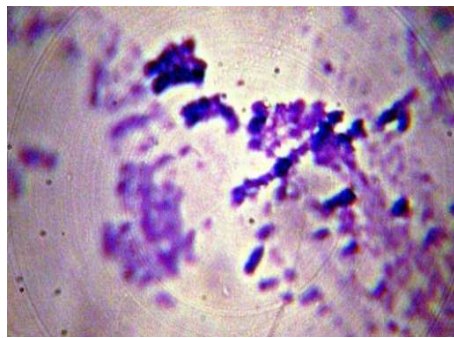


Рис. 4. 10-й тиждень. Мікрофото із зубної бляшки. Об. х 90, ок. х 80, імерсія. Клітини грибів Candida.

### Висновок

Таким чином, мікробіологічні дослідження вказують, що при опіатній інтоксикації розвиваються зміни мікрофлори ротової порожнини піддослідних шурів, які можна характеризувати як дисбактеріоз, при якому з'являються патогенні та активізуються умовно-патогенні види бактерій. При цьому сапрофітні бактерії, серед яких можливі мікроби-антагоністи перестають виділятися або виділяються в менших кількостях. Очевидно, що патогенна та умовно-патогенна мікрофлора стає етіологічним фактором запальних процесів у слизовій порожнині рота, включаючи присінок та ясна, оскільки ступінь бактеріологічних змін корелює із ступенем розвитку патологічного процесу. Результати наших досліджень співпадають з даними літератури [8], які вказують на значення грам-позитивної мікрофлори у розвитку гнійно-запальних процесів у ротовій порожнині, зокрема значення *St. aureus*, якому властивий широкий діапазон адаптаційних властивостей та наявність токсинів з некротичною дією [5].

*Перспективи подальших досліджень.* Одержані результати вказують на необхідність подальших досліджень з використанням запропонованої моделі, але з більш тривалим періодом спостереження.

### Список літератури

1. Dobrovol'ska M. K. Stan biocenozu klinichnih zubojasennih kishen' hvorih na generalizovanij parodontit / M. K. Dobrovol'ska, V. M. Gelej, N.I. Gelej // Klinichna stomatologija . – 2014, № 2.- S. 17-19
2. Zorina O. A. Vzaimosvjaz' kachestvennogo i kolichestvennogo sostava biocenozov rotovoj polosti i individual'nogo geneticheskogo profilja na fone vospalitel'nyh zabolevanij parodonta: avtoref. dis. na soiskanie nauch. stepeni dokt. med. nauk: spec. 14.01.14 «Stomatologija» / O. A. Zorina // – Moskva, - 2011. – 42 s.
3. Kolchev A. A. Kliniko-laboratornaja harakteristika sostojanija organov i tkanej polosti rta u podrostkov bol'nyh opijnoj narkomaniej: avtoref. dis. na soiskanie nauch. stepeni kand. med. nauk:spec. 14.01.06 «Psihijatrija» / A. A. Kolchev // – Moskva, - 2005. – 21 s.
4. Lebedev D.V. Mikrobiocenozy polosti rta u bol'nyh generalizovannym paradontitom, sposob diagnostiki i korrekcii: avtoref. dis. na soskanie nauch. stepeni kand. med. nauk: spec. 03.02.03 «Mikrobiologija» / D.V. Lebedev // – Moskva, - 2011. – 23 s.
5. Panchenko A. V. Rasprostranennost' i biologicheskie svoystva stafilokokkov, kolonizirujushhh polost' rta pri kariese i parodontite: avtoref. dis. na soiskanie nauch. stepeni kand. med. nauk: spec. 03.02.03 «Mikrobiologija» / A.V.Panchenko // – Volgograd: - 2011. – 25 s.
6. Patent № 71438 Україна, МПК 2006. 01. Sposib modeljuvannja povedinkovyh reakcij v eksperimental'nyh tvarin pri hronichnomu vplivi opioidu / Pal'tov Є.V., Fik V.B., Vil'hova I.V., Onis'ko R.M., Fit'kalo O.S., Krivko Ju.Ja.; Zajavnik i patentovlasnik L'vivs'kij nac. med. un-t imeni Danila Galic'kogo. – Nomer zajavki u 2012 00427; zajavl. 16.01.2012; opubl. 10.07.2012, Bjul. № 13
7. Patent № 79565 Україна, МПК 2006.01. Sposib kontrolju za rozvitkom gnijno-zapal'nyh procesiv rotovoi porozhnini na foni vplivu opioidnogo anal'getika v umovah modeljuvannja / Fik V.B., Fedechko J.M., Krivko Ju.Ja., Pal'tov Є.V., Onis'ko R.M., Fit'kalo O.S.; Zajavnik i patentovlasnik L'vivs'kij nac. med. un-t imeni Danila Galic'kogo. – Nomer zajavki u 2012 12479; zajavl. 01.11.2012;opubl. 25.04.2013; Bjul. № 8
8. Fursa A. A. Osobennosti diagnostiki i lechenija ostrych gnojnyh zabolevanij mjagkih tkanej u bol'nyh s dissocial'nym tipom povedenija: avtoref. diss. na soisk. nauch. stepeni kand. med. nauk: spec. 14.01.17. – “Hirurgija” / A.A. Fursa // - Moskva, - 2011. – 25 s.
9. Aas J. A. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity / J.A. Aas, V.J. Paster, L.N. Stokes [et al.] // J.Clin. Microbiol. - 2005. - Vol.43, №11. - P.5721-5732.
10. Botero J. E. Occurrence of periodontopathic and superinfecting bacteria in chronic and aggressive periodontitis subjects in a Colombian population / J.E. Botero, A. Contreras, G. Lafaurie [et al.] // J. Periodontol. - 2007. -Vol.78, №4. - P.696-704.
11. Damir T. Effects of different blood groups on the reproduction of periodontal pocket bacteria / T. Damir, H. Uslu, R. Orbac [et al.] // Int Dent J., - 2009. - Vol. 59, №2. - P. 83-86.
12. Naka S. Distribution of periodontopathic bacterial species in Japanese children with developmental disabilities / S. Naka, A. Yamana, K. Nakano [et al.] // BMC Oral Health. - 2009. -Vol.23, №9. - P.24.

## Реферати

**ДИСБИОЗЫ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ ПРИ  
ДЛИТЕЛЬНОМ ВЛИЯНИИ ОПИОИДНОГО  
АНАЛЬГЕТИКА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**  
Фик В.Б., Федечко Й.М., Крывко Ю.Я.

Эксперименты проводили на белых крысах-самцах (20), возраст 3,5-7,5 мес. Животные получали опиоидный анальгетик, производное морфина на протяжении 10 недель. Проводили микроскопическое исследование мазков и бактериологические посеы. Микробиологические исследования указывают, что при опиатной интоксикации развивается дисбактериоз ротовой полости, появляются патогенные и активизируются условнопатогенные виды бактерий. Результаты наших исследований совпадают с данными литературы, которые указывают на значение грамположительной микрофлоры в развитии гнойно-воспалительных процессов в ротовой полости, в частности, значение *St. aureus*, которому свойственны широкий диапазон адаптационных свойств и наличие токсинов с некротическим действием.

**Ключевые слова:** ротовая полость, опиоид, микробиологическое исследование.

Статья надійшла 1.03.2015 р.

**ORAL CAVITY DYSBIOSIS UNDER THE  
DURABLE OPIOID ANALGESIC INFLUENCE IN  
EXPERIMENT.**

**Fik V. B., Fedechko Y. M., Kryvko Y. Ya.**

Experiments were hold on white male rats (20) aged 3,5-7,5 months. Experimental animals had been receiving opioid analgesic, derivative of morphine, once a week during 10 weeks. Bacteriological investigation included taking a culture and microscopic investigation of the smear. Microbiological investigations show that changes of bacterial population of the oral cavity which develop under the opioid intoxication can be characterized as dysbiosis. Results of our investigation which indicate the importance of the gram-positive microflora in development of inflammatory process in the oral cavity, in particular, importance of the *St. aureus*, which has wide range of adaptability characteristics and toxins with necrotic influence.

**Key words:** oral cavity, opioid, microbiological investigation.

Рецензент Куш О.Г.

UDC 612.17.015.3:616.441-008.64-08]:612.6.03

**О. І. Чупашко**  
**Danylo Haltsky Lviv National Medical University**

**MAJOR PATHWAYS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION UNDER EXPERIMENTAL MILD  
HYPOTHYROIDISM**

Present research demonstrates metabolic correlation between mild hypothyroidism and endothelial dysfunction (ED). The subclinical hypothyroidism is associated with increased serum levels of LDL and reduced HDL, and finally, with increased atherogenic index ( $0,530 \pm 0,035$ ), that can be interpreted as atherogenic dyslipidemia, which largely contributes to ED. Parameters of nitric oxide system showed decrease in nitrite-ion concentration in rat blood. It can predict the tendency to endothelial dysfunction in SH. According to our research, thyroid function is significantly related to the changes of free-radical component of metabolism. We found the activation of lipoperoxidation (LPO) processes in blood, and, moreover, the antioxidant enzymes activity was to the contrary depressed under mild thyroid failure. Intermittent hypoxic training (IHT) was tested with a purpose to correct the biochemical abnormalities and showed positive effects, in fact, in regard to all investigated parameters.

**Key words:** subclinical hypothyroidism, nitrite - ion, intermittent hypoxic training.

*The study is conducted as part of scientific research «Investigation of functional and metabolic stress-limiting body reserves in extreme conditions with a purpose to identify effective ways of correction» (№ state register. 0111U000121).*

Subclinical hypothyroidism (SH) or mild thyroid failure reflects declined thyroid activity without clear symptoms, but with elevated thyroid stimulating hormone (TSH) and normal range of free thyroxine (FT4) and triiodothyronine (FT3) as the diagnostic indicators [6,8]. The endothelial dysfunction, is one of the earliest signs for atherosclerosis, which frequently observed in experimental and clinical investigations, prior to any overt manifestations of SH [3]. The predisposition to ED under condition of SH may be partially explained by the factors including changes in lipid profile, oxidative stress, disturbances in NO synthesis [1, 3]. Therefore, endothelial dysfunction would be a favorable trigger factor to investigate the correlation between SH and cardiovascular disease [7, 11]. The detailed mechanisms underlying the correlation remains unknown. The present study is trying to establish novel aspects linking SH and endothelial function.

**The aim** of research was to determine and investigate mechanisms of early, potentially reversible pre-atherosclerotic changes in the endothelium under subclinical hypothyroidism, compare our results to the recent literature data, giving a new interpretation to all indexes mentioned above. With a purpose to correct thyroid failure has been proposed and tested a method of IHT (intermittent hypoxic training).

**Material and methods of research.** The experiments were carried out on the intact male rats (weight 180-220g, control and experimental group). The model of mild thyroid failure was induced by the oral administration of mercazolilum in doses of 3 mg/kg during 3 weeks (method, proposed by E.S.Detyuk et al.). Function of thyroid gland was assessed by the serum concentration of thyroid