

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИКО-
СТОМАТОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ А.И. ЕВДОКИМОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

СЛАЖНЕВА ЕКАТЕРИНА СЕРГЕЕВНА

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ
МЕТОДОВ УДАЛЕНИЯ МИКРОБНОЙ БИОПЛЕНКИ НА
УЛЬТРАСТРУКТУРУ ЦЕМЕНТА КОРНЯ ЗУБА**

3.1.7 – Стоматология (медицинские науки)

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель

доктор медицинских наук, профессор

АТРУШКЕВИЧ Виктория Геннадьевна

Москва – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1.1 Современные представления о микробной этиологии пародонтита.....	16
1.2 Структура и свойства поддесневой микробной биопленки	25
1.3 Роль цемента в регенерации тканей пародонта	27
1.4 Роль поддесневой обработки поверхности корня в лечении воспалительных заболеваний пародонта.....	29
Резюме главы 1	32
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	34
2.1 Дизайн исследования и методология.....	34
2.2 Материалы и методы клинических исследований.	38
Обследование пациентов и оценка клинического состояния полости рта и тканей пародонта.....	38
2.3 Лабораторные методы исследования.....	41
2.3.1 Молекулярно-генетический метод.....	41
2.3.2 Сканирующая электронная микроскопия с 3D-визуализацией.	47
2.4 Проведение поддесневой обработки поверхности корня.....	50
2.5 Статистические методы исследования	52
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	54
3.1 Результаты клинических исследований	54
3.1.1 Стоматологический и пародонтологический статус пациентов до начала лечения	55
3.1.2 Сравнительная оценка динамики изменений клинических показателей в ходе лечения	58
3.2 Результаты молекулярно-генетического исследования.....	69
3.2.1 Состав микробиома пародонтального кармана у пациентов в группах сравнения до лечения	70
3.2.2 Состав микробиома пародонтального кармана после удаления поддесневой микробной биопленки.....	73
3.2.2.1 Изменение частоты обнаружения микроорганизмов после лечения	74
3.2.2.2 Оценка изменения общей бактериальной массы после удаления поддесневой микробной биопленки различными методами.....	78

3.2.2.3 Сравнительная оценка изменения количества пародонтопатогенных микроорганизмов	82
3.2.3 Изменение структуры микробного сообщества до и после проведения удаления поддесневой микробной биопленки.....	98
3.2.4 Корреляционный анализ	106
3.3 Результаты сканирующей электронной микроскопии с 3D-визуализацией	108
3.3.1 Строение поддесневой микробной биопленки	109
3.3.2 Ультраструктура цемента интактных зубов	117
3.3.3 Ультраструктура поверхности цемента зубов, пораженных хроническим генерализованным пародонтитом	123
3.3.4 Сравнение эффективности разных методов удаления поддесневой микробной биопленки и их воздействие на ультраструктуру цемента корня зуба	130
Резюме главы 3	135
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ	137
ВЫВОДЫ	154
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	156
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	157
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	159

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Пародонтит – это хроническое воспалительное прогрессирующее заболевание, характеризующееся разрушением зубо-альвеолярного прикрепления и резорбцией альвеолярной кости, приводящее в конечном итоге к потере зуба [72; 115]. На сегодняшний день воспалительные заболевания пародонта рассматриваются с точки зрения сложных механизмов взаимодействия между микробиотой пародонтального кармана, иммунной реакцией организма и окружающей средой, указывая на то, что заболевания пародонта не являются классическими инфекциями, вызываемыми одним или несколькими патогенами [19; 52; 64; 119; 160]. В этой парадигме пародонтит рассматривается как дисбиотическое заболевание, которое развивается в результате трансформации нормофлоры в патогенное сообщество в результате сдвига в таксономическом составе и количественном соотношении микроорганизмов, и не является результатом внедрения экзогенных патогенов [6; 24; 27; 83; 96; 160; 188]. Известно несколько бактериальных комплексов, связанных с развитием пародонтита. Это так называемый «красный комплекс» (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* и *Treponema denticola*) и «оранжевый комплекс» (*Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium periodonticum*, *Peptostreptococcus micros*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* и *Campylobacter rectus*) пародонтопатогенов, которые имеют высокий и умеренный риск развития пародонтита соответственно [100; 130; 137].

Элиминация пародонтопатогенных микроорганизмов и снижение бактериальной нагрузки является важной стратегией в лечении хронического генерализованного пародонтита. [130; 135; 169; 170; 181; 183]. Механическое разрушение бактериальной биопленки на поверхности корня зуба с помощью различных инструментов и методов является основой базового этапа лечения хронического генерализованного пародонтита [3; 125]. Большое количество исследований, посвященных сравнительной оценке клинических исходов после поддесневой обработки поверхности корня, показывают, что не существует

способа, явно демонстрирующего своего превосходства над другими. Качественная и количественная оценка композиционного микробного сдвига, в частности в отношении пародонтопатогенов красного и оранжевого комплексов, является не только важным индикатором эффективности проведенных лечебных процедур, но и способствует пониманию механизмов дальнейших динамических изменений в структуре микробного консорциума пародонтального кармана после лечения, связи качества удаления биопленки с процессом последующей реколонизации поверхности корня, возможности возвращения к восстановлению нормальных соотношений микроорганизмов.

В то же время в стремлении избавиться от биопленки, содержащей пародонтопатогенные виды бактерий, необходимо помнить, что критерием успешного лечения хронического генерализованного пародонтита, является не только ликвидация воспалительных явлений в тканях пародонта, но и восстановление структур и функций тканей пародонта с одновременным формированием устойчивого комплекса кость - периодонтальная связка – цемент. Таким образом цемент корня зуба, на котором происходит формирование и созревание поддесневой бактериальной биопленки, играет важную роль в регенерации тканей пародонта, содействуя образованию нового пародонтального прикрепления [40; 74; 139; 161]. Инструменты, используемые для удаления поддесневых зубных отложений, могут негативно воздействовать на структуру цемента, приводя к возникновению шероховатости поверхности или чрезмерному его удалению [2; 11; 29; 33; 88; 182]. Учитывая роль цемента в дальнейшем восстановлении пародонта перечисленные воздействия должны быть сведены к минимуму [29].

Поиск методов лечения хронического генерализованного пародонтита, позволяющих эффективно удалять один из главных этиологических факторов этого заболевания – микробную биопленку с поверхности корня зуба и в тоже время сохранять целостность цемента, является актуальной задачей в пародонтологии, связанной с поддержанием длительности ремиссии хронического генерализованного пародонтита и прогнозом сохранения зубов.

Степень разработанности темы исследований.

В середине 1960-х годов на основе классических экспериментальных исследований гингивита была предложена микробная этиология заболеваний пародонта. С тех пор многочисленные исследования посвящены фундаментальной роли микробиоты полости рта в возникновении и прогрессировании хронического генерализованного пародонтита. Последние достижения в области методов лабораторной идентификации микроорганизмов способствовали лучшему пониманию сложных взаимосвязей в микробиоме полости рта как в состоянии здоровья, так и при патологии. Пародонтит в настоящее время считается мультибактериальным воспалительным заболеванием, при котором различные виды микроорганизмов в зубной биопленке находятся в дисбиотическом состоянии, и этот дисбаланс способствует возникновению хронических воспалительных заболеваний и, в конечном счете, разрушению тканей, поддерживающих зуб [137].

Современные культурально-независимые методы исследования микроорганизмов, такие как полимеразная цепная реакция (ПЦР) в реальном времени были использованы для идентификации широкого спектра микробных таксонов, обитающих в десневой борозде и пародонтальном кармане, а также для количественной оценки бактерий поддесневой микробной биопленки [4; 5; 9; 26; 27; 43; 157]. Подтверждено, что удаление поддесневых зубных отложений является эффективным методом лечения пародонтита. В то же время не существует универсального протокола или клинических рекомендаций по выбору метода удаления поддесневых зубных отложений [16]. Огромный пласт исследований посвящен оценке изменений качественного и количественного состава пародонтопатогенных микроорганизмов после лечения хронического генерализованного пародонтита [5; 16; 34; 42; 62; 76; 87; 94; 99; 112; 128; 132; 148; 164; 183; 194].

Большая разнородность полученных результатов диктует необходимость дальнейшего изучения изменений в поддесневом микробном сообществе.

Несомненно, что микробиологические методы оценки эффективности лечения хронического генерализованного пародонтита еще долгие годы будут являться ведущими в пародонтологии. Однако определение количества микроорганизмов, относящихся к пародонтопатогенным видам в свете теории о бактериальном сдвиге (дисбиозе), на сегодняшний день является недостаточным для оценки эффективности проводимого лечения. Важно оценить изменение соотношения патогенов к общей бактериальной массе после проведенного лечения.

Важным и недостаточно изученным рубежом в микробиологии полости рта остается исследование роли грибов [45; 60; 116; 176]. Прежде всего речь идет о дрожжеподобных грибах рода *Candida*. Многие исследователи рассматривают дрожжеподобные грибы, как один из этиологических факторов в развитии и прогрессировании осложненного течения ХГП [3; 13; 23; 36; 41; 54; 116].

Структурный анализ биопленок полости рта с использованием сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), начавшийся более трех десятилетий назад, значительно расширил наши представления о строении этих микробных сообществ, но разрешение изображений было ограничено [14; 25; 191; 192; 197]. Микрофотографии, полученные с помощью сканирующей электронной микроскопии, по-прежнему остаются 2D-изображениями. Обнаружение трехмерной структуры поверхности на основе СЭМ-изображений позволило бы обеспечить более информативную визуализацию исследуемых объектов [15; 28]. В настоящее время в сканирующей электронной микроскопии появились новые возможности и подходы для изучения архитектоники биопленок, что делает это научно-практическое направление перспективным и актуальным [15; 28; 185; 192].

Знания о цитологии, гистологии, патоморфологии цемента корня зуба все еще отстают от того, что известно о строении других твердых тканей зубов, а попытки регенеративных вмешательств часто терпят неудачу. Изучение ультраструктуры цемента может являться актуальной областью исследований и одним из ключевых моментов для разработки успешных методов его восстановления и регенерации, а использование новых возможностей СЭМ в виде 3D визуализации получаемых изображений позволили бы получить более

достоверное представление о пространственной организации цемента корня зуба и других структур пародонта [47; 191; 200].

В основу выполнения данного исследования положена научная рабочая гипотеза о том, что качественное и щадящее по отношению к цементу корня удаление поддесневой микробной биопленки приводит к купированию воспалительных явлений в тканях пародонта, за счёт снижения обсемененности пародонтального кармана микроорганизмами, способствует изменению соотношения микроорганизмов с позиции дисбиотического сообщества, прогнозирует более длительный период формирования новой микробной биопленки и, следовательно, более стойкую ремиссию заболевания.

Цель исследования

Повышение эффективности лечения хронического генерализованного пародонтита путем клинико-морфологической оценки качества удаления микробной биопленки различными методами с поверхности корня зуба и их влияния на ультраструктуру цемента.

Задачи исследования

1. Сравнить клиническую эффективность удаления поддесневой микробной биопленки с помощью ручных инструментов, ультразвуковой системы с полировочной суспензией и комбинированной методики.

2. Провести сравнительную оценку эффективности удаления поддесневой микробной биопленки с помощью ручных инструментов, ультразвуковой системы с полировочной суспензией и комбинированной методики путем оценки качественного и количественного состава пародонтопатогенов «красного» и «оранжевого комплексов» до и после обработки поверхности корня зуба.

3. Оценить изменения структуры поддесневого бактериального сообщества после обработки поверхности корня зуба различными методами путем определения доли пародонтопатогенов в общей бактериальной массе.

4. Дать сравнительную оценку состояния поверхности цемента корня зуба в норме и при хроническом генерализованном пародонтите с помощью сканирующей электронной микроскопии с 3D-визуализацией.

5. Оценить влияние различных методов удаления поддесневой микробной биопленки на поверхностные и ультраструктурные характеристики цемента корня зуба с помощью сканирующей электронной микроскопии с 3D визуализацией.

Научная новизна исследования

Впервые описаны изменения в соотношении пародонтопатогенных микроорганизмов относительно общей бактериальной массы в структуре поддесневого микробного сообщества до и после лечения с использованием различных методов удаления поддесневой микробной биопленки. Полученные результаты позволили описать качественные и количественные изменения в составе поддесневого микробного сообщества на разных сроках после проведенной терапии.

Впервые проведено сопоставление результатов молекулярно-генетического исследования и сканирующей электронной микроскопии в оценке эффективности *in vivo* удаления микробной биопленки с поверхности цемента корня зуба различными методами, а также влияние этих методик на ультраструктуру цемента корня зуба. Использование метода сканирующей электронной микроскопии с 3D визуализацией позволило уточнить особенности строения поддесневой микробной биопленки и ее видовой состав на различных участках корня зуба.

Впервые проведена сравнительная оценка ультраструктурных особенностей цемента корня в норме и при хроническом генерализованном пародонтите. На основании результатов этих исследований выявлены различия в строении поверхностного слоя цемента в корональной и апикальной части корня интактного зуба, а также показаны изменения в ультраструктуре поверхностного и внутреннего слоя цемента корня зуба при пародонтите.

С помощью метода сканирующей электронной микроскопии с 3D визуализацией впервые описаны изменения поверхности цемента корня зуба под воздействием различных способов удаления микробной биопленки. Полученные данные позволили оптимизировать выбор метода поддесневой обработки корней зубов при хроническом генерализованном пародонтите, позволяющие эффективно

удалять биопленку с сохранением поверхностных и структурных характеристик цемента корня зуба.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость диссертационной работы заключается в подтверждении рабочей гипотезы о том, что удаление поддесневой микробной биопленки способствует изменению соотношения микроорганизмов с позиции дисбиотического сообщества, прогнозирует более длительный период формирования новой микробной биопленки, в составе которой преобладают бактерии эубиотического спектра, что ведет к купированию воспалительных явлений в тканях пародонта.

Показано что, структура цемента корня зуба в норме и при заболеваниях пародонта значительно различается. При развитии пародонтита и разрушении зубо-альвеолярного соединения (пародонта), аккумуляции поддесневой микробной биопленки поверхность цемента теряет свою структуру «галечной мостовой», появляются участки нарушенного внешнего слоя, что говорит о невозможности полноценной регенерации тканей пародонта и прежде всего периодонтальных волокон. Использование различных инструментов и методов для удаления поддесневой микробной биопленки оказывает влияние на ультраструктуру поверхности цемента корня зуба, что также может оказывать влияние на последующую регенерацию тканей пародонта.

Практическая значимость исследования заключается в формулировании рекомендаций по использованию метода удаления поддесневой микробной биопленки на различных этапах лечения хронического генерализованного пародонтита (базовая терапия, поддерживающее лечение). У пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней и тяжелой степени, впервые обратившихся за пародонтологическим лечением, у которых имеется большое количество поддесневых зубных отложений, а также у пациентов в период обострения хронического генерализованного пародонтита, у которых отмечается

наиболее выраженное дисбиотичное микробное сообщество, рекомендовано использование комбинированной методики удаления поддесневой микробной биопленки с последовательным применением в одно посещение ручных инструментов (зоноспецифических кюрет Грейси) и ультразвуковой системы Вектор. Пациентам с хроническим генерализованным пародонтитом средней и тяжелой степени, находящимися на этапе поддерживающего пародонтологического лечения, рекомендовано использование ультразвуковой системы Вектор для удаления поддесневой микробной биопленки, так как данная методика показала сопоставимую микробиологическую эффективность в сравнении с другими исследуемыми методами, но оказалась более щадящей по отношению к цементу корня зуба, что имеет определенное значение, поскольку частота сеансов поддерживающей терапии достаточно высокая и составляет 1 раз в 3 месяца.

Методология и методы исследования

Диссертационное исследование проходило в два этапа. Для реализации задач первого этапа исследования было проведено стоматологическое обследование и лечение 107 пациентов с диагнозом хронический генерализованный пародонтит (ХГП) средней и тяжелой степени. В зависимости от способа проведения поддесневой обработки поверхности корня пациенты были разделены на 3 группы (основную и две группы сравнения). Основная группа исследования (группа 1(Кюреты)) включала 38 человек, в ней удаление поддесневой микробной биопленки проводили с помощью зоноспецифических кюрет Грейси. Первая группа сравнения (группа 2 (УЗСВ)) включала 36 человек, в ней удаление поддесневой микробной биопленки проводили с помощью ультразвуковой системы Вектор (УЗСВ), металлических насадок и полировочной суспензии, входящих в комплект системы. Вторая группа сравнения (группа 3 (Кюреты + УЗСВ)) группа включала в себя 33 человека, в ней удаление поддесневой микробной биопленки проводилось с помощью комбинированной методики с последовательным использованием в начале зоноспецифических кюрет Грейси, а затем ультразвуковой системы Вектор (УЗСВ), металлических насадок и

полировочной суспензии, входящих в комплект системы в одно посещение. Поддесневую обработку поверхности корней зубов и удаление поддесневой микробной биопленки во всех группах исследования проводили по сегментам полости рта с интервалом не более 48 часов. Группы были сопоставимы по полу, возрасту и диагнозу.

Методы исследования включали в себя стоматологическое обследование и оценку клинического состояния тканей пародонта, а также молекулярно-генетическое исследование содержимого пародонтального кармана, проведенного при помощи ПЦР в реальном времени, позволяющее дать количественную оценку пародонтопатогенных бактерий (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola*), гриба *Candida albicans* и общей бактериальной массы. Важным аспектом с точки зрения методологии исследования является изучение на базе 16S-секвенирования количественного соотношения пародонтопатогенов к общей бактериальной массе, что в свете последних теорий о дисбиотической природе пародонтита, может являться одним из наиболее точных методов определения эффективности способа лечения. Регистрация клинических показателей и молекулярно – генетическое исследование проводилось до лечения, через 10 дней и через 6 недель после удаления поддесневой микробной биопленки. Обработка полученных данных проводилась методами вариационной статистики при помощи пакета прикладных программ.

Целью второго этапа исследования было изучение и сравнительная оценка ультраструктуры поверхности цемента корня зуба с помощью сканирующей электронной микроскопии с возможностью 3D визуализации. Доступ к поддесневой поверхности цемента можно получить только путем удаления зуба. Поэтому для решения задач второго этапа исследования проводилось удаление интактных зубов по ортодонтическим показаниям и зубов с неблагоприятным пародонтологическим прогнозом у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом. У части пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом тяжелой степени перед удалением зубов *in vivo* было проведено удаление

поддесневой микробной биопленки с помощью методов перечисленных выше аналогично клинической части исследования.

Исследование завершалось сопоставлением данных полученных в двух этапах исследования, для формулирования клинических рекомендаций в использовании исследуемых методов удаления поддесневой микробной биопленки при лечении хронического генерализованного пародонтита средней и тяжелой степени.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Исследуемые методы удаления поддесневой микробной биопленки показали сопоставимую клиническую эффективность в сроки наблюдения до 6 недель после лечения независимо от результатов молекулярно-генетического исследования, в то время как наиболее выраженные изменения в микробиоме, заключающиеся в тенденции к суммарному снижению доли бактерий красного наблюдались при комбинации ручных инструментов с УЗСВ.

2. Ультроструктура цемента в результате прогрессирования хронического генерализованного пародонтита претерпевает изменения, имеющие значение для дальнейшего прогноза развития заболевания и сохранения зубов.

3. Удаление поддесневой микробной биопленки с использованием кюрет Грейси приводит к более выраженному повреждению и удалению цемента корня зуба.

Степень достоверности и апробация результатов

Материалы диссертации доложены и обсуждены на Аспирантской сессии МГМСУ им. А.И. Евдокимова в рамках «Dental Review» (Москва, 2020), Всероссийской конференции молодежной секции Российской Пародонтологической ассоциации «Интересные случаи в ежедневной практике врача-стоматолога» (Москва,2020), Всероссийской межвузовской научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы стоматологии» ЦГМА (Москва,2021), V Всероссийском открытом конкурсе молодых ученых и студентов на лучший научный доклад в

области стоматологии и челюстно-лицевой хирургии (Москва,2021), 28 Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва,2021).

Диссертация доложена, обсуждена и одобрена на совместном заседании кафедр сотрудников стоматологического факультета ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова» Минздрава России: пародонтологии, ортопедической стоматологии, микробиологии, вирусологии и иммунологии 1 июля 2021, г. Москва.

Личный вклад автора в выполнение работы

Автором лично сформулированы рабочая гипотеза, методология и дизайн исследования, научно обоснована актуальность диссертационного исследования, путем анализа научной литературы. Диссертантом самостоятельно было проведено обследование, лечение и динамическое наблюдение 107 пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом. Автор самостоятельно осуществлял забор содержимого пародонтального кармана проб (в общей сложности 321 образца). Диссертант принимал непосредственное участие в сканирующей электронной микроскопии удаленных зубов, самостоятельно описывал и интерпретировал результаты полученных изображений. Автором были проведены анализ и статистическая обработка результатов, предложены выводы и практические рекомендации, написаны статьи по результатам диссертационного исследования и текст диссертации.

Внедрение результатов работы

Результаты исследования внедрены в практическую деятельность кафедры пародонтологии стоматологического факультета, отделения пародонтологии №2 и профилактики стоматологических заболеваний «Клинического центра стоматологии» ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова», г. Москва.

Материалы диссертационной работы используются в учебном процессе при чтении лекций, на теоретических и практических занятиях при обучении студентов, ординаторов и аспирантов, слушателей циклов последипломного образования на кафедре пародонтологии стоматологического факультета ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова».

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 8 печатных работ, в том числе 6 публикаций в журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, из которых 1 работа в журнале, индексируемом в базе данных Scopus.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 184 страницах машинописного текста, включает: введение, главу обзор литературы, главу материалы и методы исследования, главу результаты собственных исследований, главу обсуждение результатов исследования и заключение, выводы, практические рекомендации, список литературы. Работа иллюстрирована 12 таблицами и 99 рисунками. Список литературы содержит 200 библиографических источника, из них 27 отечественных и 173 зарубежных авторов.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Хронический генерализованный пародонтит (ХГП) – это многофакторное заболевание, характеризующееся микробно-ассоциированным воспалительным ответом, которое приводит к потере пародонтального прикрепления [72; 115]. ХГП является шестым по распространенности заболеванием для человечества и основной причиной потери зубов во взрослом возрасте, что делает его актуальной проблемой общественного здравоохранения [93]. Совместно с этим многочисленные клинические и экспериментальные исследования показали наличие связи между ХГП и некоторыми системными заболеваниями, в частности с сердечно-сосудистыми заболеваниями, сахарным диабетом, заболеваниями легких и осложнениями беременности. Учитывая, что этиология воспаления в пародонте может быть связана со сложными взаимодействиями хозяина и патогенов, элиминация пародонтопатогенных микроорганизмов, содержащихся в поддесневой биопленке, стала важнейшей стратегией в лечении ХГП.

1.1 Современные представления о микробной этиологии пародонтита

Воспаление и разрушение тканей, связанное с заболеваниями пародонта, возникает в ответ на возмущенный (дисбиотический) субгингивальный микробиом [16]. Термин "микробиом" был введен в 2001 году Нобелевским лауреатом, микробиологом Джошуа Ледербергом. Можно дать следующее определение понятию микробиом – это характерное микробное сообщество, занимающее достаточно четко определенную среду обитания, которая обладает определенными физико-химическими свойствами [187]. Развитие технологий секвенирования следующего поколения и проект «Микробиом человека», начавшийся в 2008 году, значительно расширили представления о микробных сообществах здоровых людей, в том числе и полости рта, в частности наддесневого и поддесневого зубного налета. Секвенирование следующего поколения позволяет проводить масштабные исследования микробиома полости рта на основе информативных

маркерных генов, таких как 16S рибосомальная РНК, инвентаризации генов сообщества (метагеномика) и анализа функционирования этих генов (метатранскриптомика) [103]. Что касается микробиома полости рта, в этом проекте были получены следующие наиболее значимые результаты и выводы : разнообразие бактерий в наддесневой и поддесневой микробной биопленке сопоставимо с разнообразием бактерий в кишечнике; существуют различия в составе микробиома в состоянии здоровья и при различных заболеваниях полости рта; наблюдается сильная нишевая специализация в разнообразии и обилии видов микроорганизмов полости рта как у каждого индивидуума, так и в сравнении между несколькими индивидуумами даже в состоянии здоровья; было установлено, что наддесневая зубная бляшка является самой нестабильной нишей по составу микробного сообщества, подтверждая предположение о том, что структура микробиома человека формируется за счёт сложных взаимодействий между организмом и окружающей средой, а также общим состоянием здоровья, приемом медикаментов, характером питания и т.п. [30; 77; 103; 120]. Передовым открытием проекта "Микробиом человека" явился факт того, что микробиом является таксономически гетерогенным, но конгруэнтным функционально, то есть различные бактериальные консорциумы могут создавать функционально однородную здоровую экосистему [101].

Помимо того, что проект «Микробиом человека» стал началом для определения здорового микробиома полости рта, он также стал началом новой эры исследований в области микробиологии пародонта. Методы секвенирования следующего поколения, позволяющие изучать все бактериальное сообщество полностью, а не только патогенные виды, создали беспрецедентную возможность правильно оценить широту и глубину сложного микробиома пародонта, например, обнаружить большое количество видов микроорганизмов, которые ранее не было возможно изучить культуральными методами. Для анализа микробных биопленок полости рта стали применять такие термины, как альфа и бета-разнообразие, изменчивость, устойчивость, временные рамки, которые обычно используются в макроэкологии [119; 124; 162; 168]. Результаты этих исследований в изучении

состава микробных сообществ в состоянии здоровья пародонта, при гингивите и хроническом пародонтите [61; 78; 188], по мере прогрессирования хронического пародонтита [91], до и после лечения воспалительных заболеваний пародонта [179], при наличии факторов риска [35; 107; 189] подтверждали или оспаривали уже известные положения, приводили к появлению новых концепции в микробной этиологии воспалительных заболеваний пародонта [78; 103; 188].

Появились сведения, позволяющие очертить ядро микробиома, связанного с здоровым состоянием тканей пародонта и с заболеваниями пародонта [103; 166]. Типом бактерий, который наиболее ассоциирован с хроническим генерализованным пародонтитом, были признан тип *Spirochaetes*. Далее следовали следующие типы: *Synergistetes*, *Firmicutes*, *Saccharibacteria* (TM7), *Bacteroidetes*, *Fusobacteria*, *Chloroflexi* и *Tenericutes*. Типы *Proteobacteria* и *Actinobacteria* были признаны связанными со здоровым состоянием пародонта. Роды бактерий *Porphyromonas*, *Treponema*, *Prevotella*, *Filifactor*, *Tannerella*, *Fusobacterium*, *Desulfobulbus*, *Mycoplasma*, *Selenomonas*, *Peptostreptococcus*, *Pseudoramibacter*, *Parvimonas* и *Eubacterium* с наибольшей частотой обнаруживались при хроническом пародонтите. А частота обнаружения родов *Streptococcus* и *Rothia*, а также следующих за ними родов *Haemophilus*, *Corynebacterium*, *Capnocytophaga*, *Leptotrichia*, *Actinomyces*, *Neisseria* и *Bergeyella* была выше у людей со здоровым пародонтом в сравнении с людьми, страдающими хроническим генерализованным пародонтитом. Видами бактерий, частота встречаемости которых увеличивалась при хроническом пародонтите были *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola* и *Filifactor alocis*, *Porphyromonas endodontalis*, *P. intermedia*, *Eubacterium saphenum*, *Phocaeicola abscessus*, *Mycoplasma faucium* и *Fusobacterium simiae*. В то время как различные виды *Streptococcus*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Neisseria elongata*, *Leptotrichia goodfellowii*, *Gemella morbillorum*, *Eubacterium saburreum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus sanguinis*, *Granulicatella adiacens*, *Neisseria subflava*, *Porphyromonas catoniae*, *Capnocytophaga ochracea*, *V. parvula.*, *Rothia aeria* и *Streptococcus mitis* были видами, которые были ассоциированы со здоровым состоянием тканей пародонта [31; 65; 69–71; 73; 103; 110; 127; 154; 174; 188; 190].

Наиболее признанные пародонтопатогены, такие как *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, названные Socransky в 1998 году пародонтопатогенами «красного комплекса», в исследованиях с помощью секвенирования нового поколения подтвердили свою высокую значимость в развитии воспалительных заболеваний пародонта [78; 130; 188]. В этих исследованиях также была подтверждена роль комменсальных таксонов в поддержании здоровья пародонта и было обнаружено, что у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом в клинически здоровых участках микробный профиль был истощен таксонами, совместимыми со здоровьем и обогащен патогенными таксонами [76; 103].

В настоящее время многими исследователями принята экологическая концепция развития воспалительных заболеваний пародонта, согласно которой хронический генерализованный пародонтит инициируется не отдельными видами микроорганизмов, а патогенным микробным сообществом, существующим в виде полимикробной биопленки [49; 159]. Предполагают, что здоровое микробное сообщество сначала претерпевает трансформацию в дисбиотическое состояние, а затем интегрированные действия компонентов этого микробного сообщества приводят его к патогенному состоянию, становясь причиной развития воспалительных заболеваний пародонта [76; 111].

Следует сказать о том, что также существует идея “ключевого патогена”, которая утверждает, что некоторые ключевые виды могут изменять гомеостаз в комменсальной микробиоте путем качественных и количественных изменений часто за счет изменения иммунного ответа хозяина [97]. Эти предположения легли в основу концепции «полимикробной синергии и дисбиоза», согласно которой воспалительные заболевания пародонта инициируются микробиотой, в которой различные члены или их специфические комбинации выполняют различные роли, которые заключаются в формировании и стабилизации провоцирующего заболевание микробного сообщества [98]. Сторонники этой концепции ставят под сомнение важность пародонтопатогенов красного комплекса для возникновения и развития хронического генерализованного пародонтита. Однако тем самым

ключевым патогеном, о котором идет речь, является член красного комплекса – *P. gingivalis* [59; 76].

Передовые исследования в области метагеномики и метатранскриптомики пародонта также подтвердили значительную роль классических пародонтопатогенов красного комплекса в развитии хронического пародонтита и обнаружили, что организмы, традиционно не относящиеся к числу пародонтопатогенов, могут продуцировать большое количество факторов вирулентности [65; 91; 143]. В этих исследованиях впервые стали обращать внимание на метаболическую активность микроорганизмов, которая определяла развитие заболевания, а именно на поглощение железа, транспорт аминокислот, реакции окислительного стресса, синтез липополисахаридов и жгутиков. Таким образом становилось понятно, что определенные метаболические сигнатуры согласуются с наличием и прогрессированием хронического пародонтита и что все микробное сообщество ответственно за увеличение его вирулентности, которое приводит в итоге к заболеванию [103; 166].

Вместе с бактериями грибковая флора также составляет здоровый микробиом ротовой полости человека. Хотя грибковая нагрузка у здоровых людей оценивается на несколько порядков ниже, чем бактериальная, размер и морфология грибковых клеток и их синергетические взаимодействия с бактериями предполагают важную роль этих организмов в формировании зубного налета [16; 116]. Несмотря на сложности культивирования и отсутствие стандартного лабораторного протокола для извлечения ДНК грибов, недавние исследования с использованием секвенирования выявили многочисленные роды с высокой численностью и распространенностью в слюне, включая *Candida*, *Cryptococcus*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Emericella*, *Eurotium* и другие [60]. Как известно, *Candida spp.* – это условно-патогенные микроорганизмы, которые часто колонизируют на слизистой оболочке полости рта, коже здоровых людей, не вызывая при этом заболевание [133]. Наиболее часто встречается вид *Candida albicans*. Однако также из полости рта были выделены и другие виды: *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* и *Candida dubliniensis* [56].

Широкие адаптационные способности *Candida albicans* позволяют ему колонизировать в различных средах, создавая смешанные биопленки как с комменсальными, так и с патогенными бактериями, как в аэробных, так и анаэробных условиях [193]. Было обнаружено, что пародонтальный карман и зубодесневая жидкость являются благоприятной средой для прорастания и гифального роста *Candida albicans*. Гифы *Candida* обладают большей способностью прилипать к клеткам хозяина и проникать в ткани по сравнению с дрожжевыми клетками. Причем в процессе развития структура гифов *Candida albicans* в биопленке становится более склонной к бактериальной коадгезии, поскольку грибковые клетки обнажают на своей поверхности несколько соединений, которые восприимчивы к неспецифическим, главным образом, гидрофобным или электростатическим взаимодействиям с бактериями [37].

Известно, что *Candida albicans* способен взаимодействовать с такими бактериями, как *Streptococcus gordonii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, и образовывать с ними смешанные биопленки, что, возможно, делает его активным участником воспалительно-деструктивного процесса при хронических заболеваниях пародонта [37; 117]. Как оказалось, взаимодействия между *Candida albicans* и микроорганизмами биопленки сложны и до конца не изучены, а роль самого *Candida albicans* в патогенезе ХГП не проста. Так, было обнаружено, что *Candida albicans* более эффективно вторгается в слизистую оболочку полости рта в присутствии *S. oralis*, а *S. gordonii* можно считать помощником прикрепления и образования нитей псевдомицелия *Candida albicans*, в то время как, стрептококки группы *Viridans* (включая *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis* и *Streptococcus sanguinis*) увеличивают свою колонизацию и образование биопленок в присутствии *Candida albicans* [178]. *S. gordonii* также способствовал образованию гифов *Candida albicans*, когда оба вида присутствовали в смешанной биопленке, что было опосредовано межвидовой сигнальной молекулой аутоиндуктор 2 (AI-2) [171]. Кроме того, используя молочную кислоту, созданную стрептококками, в качестве источника углерода для роста, *C. albicans* снижает уровень напряжения

кислорода, что выгодно для *S. gordonii*. Интересно, что стрептококки также образуют адгезионные участки для *Candida albicans* в полости рта. Таким образом формируется мутуалистическая грибково-бактериальная связь [186]. Интересно, что в качестве мостиковых молекул при коагрегации между *S. aureus* и нитевидной формой *Candida albicans* в многовидовых биопленках полости рта могут выступать везикулы *P. gingivalis*, содержащие гингипаины, которые связываются со специфическими рецепторами на поверхностях обоих микроорганизмов [37].

Было обнаружено, что жизнеспособность *Candida albicans* сильно зависит от протеолитического потенциала *P. gingivalis*, независимо от его адгезивных свойств. Кроме того, совместный рост и конкуренция за поверхностное поселение в аэробных условиях способствуют адгезии клеток *Candida albicans* и развитию гифов, которые поддерживают жизнеспособность бактериальных клеток. Есть данные о том, что в анаэробных условиях, предпочитаемых бактериями для роста, выживание грибковых клеток зависело от активности гингипаинов *P. gingivalis*. В противоположность этому есть данные о том, что, когда на поверхности сначала оседают клетки *C. albicans*, сформировавшие зрелую биопленку, в которой гифальная форма гриба является доминирующей и создает гипоксические условия внутри биопленки, наблюдается повышенная адгезия *P. gingivalis*, сопровождающаяся значительным повышением жизнеспособности клеток, особенно в нормоксических условиях. Эти наблюдения подтверждают гипотезу о том, что биопленки *C. albicans* образуют защитную среду для роста бактерий. Недавние исследования также показали, что *Candida albicans* может сотрудничать со строго анаэробными бактериями (*P. gingivalis*, *P. intermedia* и *A. actinomycetemcomitans*) в аэробных условиях, тем самым позволяя этим бактериям выживать и размножаться в неблагоприятной окружающей среде и, возможно, индуцировать появление ассоциированного с болезнью фенотипа [37]. Что касается других бактерий, в исследованиях *in vitro* установлено, что *A. actinomycetemcomitans* способен ингибировать образование биопленок *Candida albicans* [50], а сочетания *Candida albicans* с *F. nucleatum* были получены из

различных очагов заболеваний полости рта, включая рефрактерный пародонтит [57].

Таким образом, способность дрожжей сосуществовать с комменсальными или патогенными бактериями является важным фактором их вирулентности, а формирование микробных сообществ является разнообразным и динамичным процессом, который обеспечивает новыми свойствами оба микроорганизма и позволяет им колонизировать на новых нишах.

Стоит отметить, что *Candida spp.* обладает способностью адаптироваться к разным нишам полости рта, экспрессируя различные фенотипы и факторы вирулентности в зависимости от pH, наличия кислорода или полисахаридов. Он секретирует протеиназы, которые высвобождают токсичные или антигенные агенты, которые могут усилить воспаление тканей и активировать иммунологический ответ, похожий на тот, который возникает в ответ на протеазы *P. gingivalis* [56]. *Candida spp.* также способна секретировать фосфолипазы, которые облегчают ее адгезию к тканям и разрушают клеточные мембраны, способствуя цитолизу [149]. Кроме того, *Candida albicans* стимулирует выработку оксида азота (NO) фибробластами десны [36]. Считается, что выявление *Candida albicans* является показателем состояния иммунитета организма. Эти условно – патогенные микроорганизмы могут длительное время персистировать в различных нишах полости рта без клинических проявлений, однако при снижении иммунного статуса (например, сахарный диабет, иммунодефициты, детский и пожилой возраст), изменении условий их обитания они могут вызывать появление заболеваний, за счет своих факторов вирулентности [92; 152].

Scaling и root planning, а также хорошая гигиена полости рта являются стандартным лечением ХГП. Тем не менее, для некоторых пациентов это традиционное лечение не является эффективным и приходится прибегать к более инвазивным методам, назначению антибактериальной терапии, что может способствовать прогрессированию роста дрожжевых грибов и ухудшению течения ХГП [163]. Эта ситуация может быть усугублена, если и так есть усиленный рост гифов грибов [149]. Таким образом, возможно, осложненное течение ХГП связано

с замещением дрожжеподобными грибами пародонтопатогенов в пародонтальном кармане и неконтролируемым ростом в них *C. albicans*.

Хотя выделение грибов рода *Candida* из полости рта само по себе не означает заболевания, мнения о роли blast, выделенных из пародонтальных карманов, разнятся [172]. Есть предположения, что грибы могут действовать в сочетании с поддесневыми бактериальными патогенами или как ко-фактор, индуцируя выработку провоспалительных цитокинов, что в результате приводит к возникновению заболеваний пародонта [55]. Представители грибов рода *Candida* наиболее часто обнаруживаются в микро- и микобиоме человека и являются наиболее изученными. Условно-патогенный гриб *Candida albicans* играет преобладающую роль среди других видов своего рода при воспалительных заболеваниях пародонта. Наличие его гифов было продемонстрировано в соединительной ткани пародонта пациентов в ассоциации с высоко инвазивными анаэробными бактериями, такими как *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* и *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* [149; 176]. В тоже время исследования последних лет сообщают, что грибы рода *Candida* являются комменсальными микроорганизмами и принадлежат к нормальной микробиоте полости рта, колонизируют слизистую оболочку, язык, обнаруживаются в наддесневой и поддесневой микробной бляшке, слюне у пациентов без признаков воспалительных заболеваний пародонта или кандидоза полости рта [172]. Такие заболевания, как ВИЧ, сахарный диабет, онкологические заболевания, сопровождающиеся иммуносупрессией, а также прием некоторых лекарственных препаратов (антибиотики, иммунодепрессанты, препараты для химиотерапии) приводят к активации патогенных свойств грибов рода *Candida* и усилению колонизации биотопов полости рта. Возрастает интерес к распространенности и важности и других видов грибов рода *Candida*, таких как *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* и *Candida dubliniensis*, которые в недавнем времени были выделены из полости рта не только у иммунокомпрометированных лиц, но и здоровых субъектов [172].

Результаты большого количества исследований, посвященных изучению возможной роли грибов рода *Candida* в развитии и течении воспалительных заболеваний пародонта, являются противоречивыми. Опубликованные данные свидетельствуют как в пользу того, что грибы рода *Candida* способствуют более тяжелому течению ХГП, так и в пользу того, что не отмечается различий в их обнаружении у пациентов с клинически здоровым пародонтом и воспалительными заболеваниями пародонта. Следует отметить, что в большинстве исследований грибы рода *Candida* у пациентов с ХГП выделялись из слюны, различных участков со слизистой оболочки полости рта (щека, язык, десна), смывов из ротовой полости, а не из пародонтальных карманов. В то время, как даже изоляция от слюны и удаление наддесневой зубной бляшки с поверхности зубов перед забором содержимого пародонтального кармана может иметь значение для качественной и количественной идентификации данных грибов. К тому же исследования часто имели дизайн с отсутствующей группой контроля пациентов с клинически здоровым пародонтом.

Необходимы дальнейшие исследования по визуализации локализации и коагрегации партнеров грибов в поддесневой бляшке, изучению роли грибов в функционировании поддесневых сообществ и изучению патогенного потенциала грибов [75].

1.2 Структура и свойства поддесневой микробной биопленки

Поддесневая микробная бляшка представляет собой сложную биопленку. Биопленка это – структурированное микробное сообщество, характеризующееся клетками, которые прикреплены к поверхности или друг к другу, и заключены в матрикс синтезированных ими внеклеточных полимерных веществ [7; 10; 12; 18; 21; 24]. Формирование поддесневой биопленки и ее непрерывная адаптация к изменяющимся условиям окружающей среды определяется динамическим равновесием между микроорганизмами, клеточной и гуморальной защитой хозяина, а также множеством анаболических и катаболических продуктов и

сигнальных факторов, продуцируемых как микробиотой, так и тканями пародонта. Это приводит к сложной экологии биопленки, где бактерии ведут себя принципиально иначе, чем в суспензионных культурах, где они проявляют планктонное существование. Понимание роли микроорганизмов при заболеваниях полости рта нуждается в объединяющей концепции, включающей разнообразие биопленок, их структуру и функции [155]. Дентальные биопленки имеют сложную многоуровневую трехмерную организацию. Первая стадия развития поддесневой микробной биопленки включает первичных колонизаторов, прилипающих к субстрату. Микроорганизмы используют для прикрепления твердую поверхность корня зуба. Десневая жидкость, содержащая макромолекулы, полученные от хозяина, обеспечивает постоянный приток питательных веществ для микробного сообщества, а также иммунных клеток защиты [198]. На следующем этапе происходит рост клеток, деление и производство внеклеточного матрикса, что приводит к образованию микроколоний. Третья стадия включает обширную коагуляцию отдельных клеток и других групп клеток в растущую биопленку. На заключительном этапе биопленка созревает в сложное многовидовое сообщество [6; 7; 14; 24].

Изучение поддесневой бляшки значительно сложнее по сравнению с наддесневой из-за расположения внутри пародонтального кармана. Доступ к ненарушенным естественным поддесневым биопленкам можно получить только путем удаления зуба. Достаточно большое количество методов, позволяющих провести визуализацию сформировавшихся бактериальных пленок, существует в настоящее время [12]. Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) широко используется во многих научных дисциплинах, включая биологические, и давно зарекомендовала себя как метод, позволяющий проводить цитоморфологические исследования состава поддесневой биопленки. Структурный анализ биопленок полости рта с использованием электронной микроскопии, начавшийся более трех десятилетий назад, значительно расширил наши представления о строении этих микробных сообществ, но разрешение изображений было ограничено [22; 191; 192].

Как правило, идентификация биопленок основана на визуализации по крайней мере двух из следующих трех критериев: 1) прикрепление микробов к поверхности, 2) структурированные сборки микробных клеток и 3) наличие экзополимерной матрицы. Однако СЭМ микрофотографии по-прежнему остаются 2D-изображениями. Обнаружение трехмерной структуры поверхности на основе СЭМ-изображений позволило бы обеспечить более информативную визуализацию исследуемых объектов. В настоящее время в сканирующей электронной микроскопии появились новые возможности и подходы для изучения архитектоники биопленок, что делает это научно-практическое направление перспективным и актуальным [8; 15; 28; 191; 192].

1.3 Роль цемента в регенерации тканей пародонта

Цемент можно описать как минерализованную ткань, которая покрывает корни зубов и служит для прикрепления зуба к альвеолярной кости через коллагеновые волокна периодонтальной связки [53; 161]. Существуют морфологические, гистологические и функциональные различия в строении цемента по длине корня в зависимости от наличия или отсутствия в нем клеток и происхождению коллагеновых волокон матрикса. Различают промежуточный цемент (обнаруженный в цементно-эмалевом соединении), ацеллюлярный цемент (обнаруженный в корональной и средней частях корня) и клеточный цемент (присутствующий в апикальной и межрадикулярной частях корня, содержит цементобласты). Ацеллюлярный внешний волокнистый цемент (первичный цемент или бесклеточный цемент) обнаруживается в пришеечной области и верхних двух третях корня. Он развивается очень медленно и считается бесклеточным, так как образующие его клетки остаются на его поверхности. Очень большое количество основных волокон периодонтальной связки вплетаются в бесклеточный цемент (где они называются шарпеевскими волокнами), это указывает на его важную функцию в прикреплении зубов. Общая степень минерализации бесклеточного цемента составляет около 45-60%, но самый

внутренний слой менее минерализован, а внешние слои характеризуются чередующимися полосами большего и меньшего содержания минералов, идущими параллельно поверхности корня [40; 161].

Целлюлярный внутренний волокнистый цемент (вторичный цемент, клеточный цемент) распределен вдоль апикальной трети или половины корня и в зонах фуркации. Поскольку клеточный внутренний волокнистый цемент также производится в качестве «ремонтной» ткани, которая заполняет резорбтивные дефекты и переломы корней, он также может быть обнаружен дополнительно коронально. Коллаген, вырабатываемый цементобластами (внутренние коллагеновые волокна), и наличие цементобластов, захваченных в лакуны внутри матрикса, который они производят (цементоциты), являются характерными чертами клеточного внутреннего волокнистого цемента. Гетерогенная организация коллагена, его быстрая скорость образования, а также наличие клеток и лакун могут быть причиной того, что эта разновидность цемента менее хорошо минерализована, чем ацеллюлярный внешний волокнистый цемент. Клеточный внутренний волокнистый цемент представляет собой внутренний компонент клеточного смешанного стратифицированного цемента, который обладает стратификацией, полученной из последовательно нанесенных чередующихся слоев бесклеточного внешнего волокнистого цемента и клеточного внутреннего волокнистого цемента. Экспериментальные данные подтверждают концепцию о том, что периодонтальная связка является хранилищем клеток, участвующих в образовании цемента, самой периодонтальной связки и альвеолярной кости, однако природа и точное расположение клеток-предшественников еще предстоит определить [74; 141].

Очень упрощенно мы можем определить цемент как внеклеточный матрикс, состоящий из кальцифицированных волокон Шарпи, коллагена, гликозаминогликанов, протеогликанов и неорганического гидроксиапатита. Так же мы можем сказать, что основная функциональная роль цемента состоит в том, чтобы служить анатомическим структурным образованием для прикрепления Шарпеевских волокон периодонтальной связки. Однако, чем больше мы изучаем

эту ткань, тем сложнее оказывается ее структура и функции. Цемент не только действует как барьер для ограничения роста эпителия, который может препятствовать прикреплению пародонтальных волокон, но также наличие непрерывного слоя цемента необходимо для того, чтобы действовать как микробный барьер, и что дефекты в этой ткани могут привести к развитию пародонтита [40].

1.4 Роль поддесневой обработки поверхности корня в лечении воспалительных заболеваний пародонта

Современные данные свидетельствуют о том, что наилучшим способом борьбы с воспалительными заболеваниями пародонта является контроль патогенных видов, обитающих в этих тканях. Начиная с 1990-х годов исследования предпринимали попытки оценить, каким образом лечение влияет на отдельные виды бактерий, определить продолжительность эффекта терапии воспалительных заболеваний пародонта, установить взаимосвязь между микробиологическими и клиническими исходами, а также определить, какую диагностическую и прогностическую ценность имеет оценка целевых пародонтопатогенов до и после лечения хронического пародонтита [76; 146].

Конечными точками для активного пародонтологического лечения были предложено использовать измерение глубины зондирования пародонтальных карманов (на уровне участка) и кровоточивости при зондировании (на уровне всей полости рта) в качестве основных параметров для определения здоровья. Наличие остаточных глубоких пародонтальных карманов и большого количества участков, кровоточащих при зондировании, после лечения хронического пародонтита являются факторами риска дальнейшего прогрессирования заболевания [68, 123].

Ранее было сказано, что микробное сообщество в клинически здоровых участках пародонта у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП) является дисбиотичным с более высокой долей пародонтопатогенных микроорганизмов в составе микробной биопленки, чем у пародонтологически

здоровых лиц [76; 80; 170]. Исследования, посвященные микробиологическим эффектам лечения ХГП свидетельствуют о том, клиническая эффективность и ремиссия связаны с значительным снижением уровня или пропорции пародонтопатогенов красного и оранжевого микробных комплексов и реколонизацией новым микробным сообществом, в котором наблюдаются более высокие доли микроорганизмов, ассоциированных со здоровьем пародонта (*V. parvula*, *Actinomyces spp.*, *Streptococcus spp.*) [76; 95; 128; 180]. Было установлено, что после лечения хронического пародонтита бета-разнообразие микроорганизмов снижается [78]. Что касается результатов таксономических исследований удаления поддесневой микробной биопленки с помощью различных методов было выявлено, что снижалась представленность типов Bacteroidetes, Spirochaetes, Fusobacteria, Firmicutes, видов из родов *Treponema*, *Porphyromonas*, *Tannerella*, *Filifactor*, *Desulfobullus*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, а представленность типов Actinobacteria, Proteobacteria, Firmicutes, Saccharibacteria и видов из родов *Actinomyces*, *Rothia*, *Streptococcus*, *Neisseria*, *Leptotrichia*, *Prevotella*, *Corynebacterium*, *Capnocytophaga*, *Kingella* увеличивалась [31; 43; 58; 76; 81; 84; 99; 104; 121; 126; 129; 131; 151; 165]. То есть таксоны микроорганизмов, которые были обнаружены в повышенных количествах при ХГП снижались, а увеличивались те таксоны, которые обычно обнаруживались в отсутствии воспалительных заболеваний пародонта [76]. Невозможно сделать окончательные выводы о влиянии конкретных протоколов лечения на микробиологические показатели ввиду того, что все эти исследования были очень неоднородными с позиции включенных пациентов, используемых методов лечения и продолжительности последующего наблюдения [76].

Микробная биопленка состоит из микроколоний бактериальных клеток, распределенных определенным образом в форменном матриксе или гликокаликсе, который впоследствии минерализуется до образования зубного камня. Пародонтопатогенные бактерии в составе микробной биопленки, формирующейся на поверхности корня зуба, выделяют липополисахариды (ЛПС) – эндотоксины, который согласно большинству последних исследований, накапливаются лишь в поверхностном слое цемента корня [197]. Многие исследования показали, что

удаление контаминированного цемента не является необходимым для успешного лечения пародонта и, наоборот, сохранение цемента должно быть предпочтительным, так как он является источником факторов роста и играет важную роль для регенерации пародонта, содействуя образованию нового пародонтального прикрепления [155; 185; 197]. Поддесневая бляшка не подвергается таким же гигиеническим / терапевтическим воздействиям, как наддесневая бляшка и защищена от слюны и жевательных воздействий. Тщательному удалению поддесневой микробной биопленки препятствует ее относительная невидимость, механические или физические трудности, а также ее химическая стойкость эта цель может быть достигнута периодическим механическим удалением поддесневой микробной биопленки. Таким образом поддесневая санация является ключевой терапией, как во время хирургического вмешательства, так и при нехирургическом подходе для борьбы с воспалительными заболеваниями пародонта [51; 85; 123; 125].

Еще одна цель поддесневой обработки – биосовместимая и гладкая поверхность корня для снижения риска реколонизации поддесневой биопленки. Поддесневая обработка корня может быть выполнена с помощью ручных инструментов или с помощью ультразвуковых (магнитострикционных; пьезоэлектрических, осциллирующих) скейлеров. Также возможно совместное использование как ручных инструментов, так и силовых скейлеров. Долгое время поддесневая обработка поверхности корня с помощью ручных инструментов (*scaling & root planning*) считалась золотым стандартом пародонтальной терапии. В настоящее время принято считать, что ручные и ультразвуковые скейлеры схожи по своей эффективности в удалении поддесневой биопленки. В то же время есть данные подтверждающие, что ручные инструменты менее эффективны для удаления зубных отложений в зонах со сложной морфологией корня, например, в зонах фуркации. Прецизионные тонкие наконечники ультразвуковых скейлеров значительно тоньше рабочего конца кюрет, что позволяет им входить в узкие зоны фуркации. Все чаще ультразвуковая поддесневая обработка поверхности корня становится предпочтительным выбором для начального этапа лечения. Удаление

поддесневой биопленки и обработки поверхности корня может приводить к таким нежелательным явлениям как шероховатость, неровность поверхности и чрезмерное удаление цемента. В то же время до сих пор существуют некоторые разногласия по поводу эффективности имеющихся вариантов лечения. По мнению некоторых авторов, ультразвуковые скейлеры оставляют на поверхности корня больше загрязненного цемента по сравнению с ручными инструментами (кюретами), и по этой причине они рассматривают их как дополнение к ручным инструментам для очистки поверхности зуба. Кроме того, была высказана озабоченность по поводу влияния пародонтального инструментирования на поверхность корней, поскольку несколько исследований накопления зубного налета обнаружили положительную корреляцию между шероховатостью корней и ростом зубного налета, с большим количеством налета на более шероховатых, чем на гладких поверхностях. Идеальное пародонтологическое лечение должно гарантировать эффективное очищение поверхности корня от бактериальной биопленки и зубных отложений и сохранение целостности структуры зуба [25; 29; 68; 167].

Резюме главы 1

Поддесневая микробная бляшка является одним из инициирующих этиологических факторов заболеваний пародонта. Как показали современные микробиологические исследования, по-видимому, ни один микроорганизм, как фактор моноинфекции, не участвует в переходе от здоровья к заболеванию тканей пародонта. Развитие болезни связывают с переходом всего сообщества субгингивальных микроорганизмов, которые присутствуют в здоровом пародонте, в состояние дисбиоза, при котором изменяется структура сообщества, видовой состав и численность в сторону патогенного состояния. Тем не менее, вероятно, некоторые микроорганизмы, например, *P. gingivalis*, могут выступать в качестве ключевых патогенов, изменяя симбиотическую микробиоту на дисбиотическую путем модификации реакции хозяина [16].

Пародонтопатогенные микроорганизмы на поверхности корня существуют в виде биопленки, механическое разрушение и удаление которой, является одним из первых и самых важных этапов в лечении хронического генерализованного пародонтита при первичном обращении пациентов, а также в ходе поддерживающего этапа для контроля течения пародонтита.

Удаление микробной биопленки с помощью различных методов может неблагоприятно воздействовать на цемент корня зуба, роль которого в последующей регенерации структур пародонта признана важной. Поэтому поиск методик поддесневой обработки поверхности корня, эффективно удаляющих микробную биопленку и щадяще относящихся к цементу, является актуальной областью исследований.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Дизайн исследования и методология

Настоящее рандомизированное клиническое проспективное сравнительное исследование было проведено на клинической базе кафедры пародонтологии Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова. Исследование было одобрено Межвузовским комитетом по этике (протокол № 12-20). С 1 января 2018 года по 1 июля 2019 года было обследовано 720 пациентов, обратившихся в отделение пародонтологии № 2 и профилактики стоматологических заболеваний Клинического центра стоматологии Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова.

Для формирования групп исследования были определены критерии включения, не включения и исключения.

Критериями включения пациентов в исследование являлись:

- возраст старше 18 лет;
- наличие у пациента установленного в ходе обследования диагноза хронический генерализованный пародонтит средней и тяжелой степени;
- наличие у пациентов в полости рта не менее 14 зубов и не менее 5 зубов с глубиной зондирования ≥ 5 мм.

Критериями не включения пациентов в исследование являлись:

- факт проведения пародонтологического лечения в течение предшествующих 6 месяцев;
- прием антибактериальных препаратов менее, чем за 6 месяцев на момент обследования;
- наличие у пациента тяжелых системных заболеваний в декомпенсированной стадии;
- беременность и лактация у женщин.

Критериями исключения пациентов из исследования являлись:

- отказ пациента подписывать информированное добровольное согласие на участие в исследовании;
- пропуск пациентами регламентированных контрольных точек осмотра;
- несоблюдение пациентами предписанных рекомендаций;
- отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании.

В результате было отобрано 119 пациентов (68 женщин и 51 мужчина) в возрасте 26-70 лет (средний возраст $47,0 \pm 12,5$ лет) с установленным диагнозом хронический генерализованный пародонтит средней и тяжелой степени. Все участники подписали форму информированного согласия перед началом исследования.

Пациентам был проведен клинический осмотр, оценка состояния полости рта, забор содержимого пародонтального кармана для микробиологического исследования.

Далее пациенты случайным образом были распределены в 3 группы исследования в зависимости от планируемого метода удаления поддесневой микробной биопленки и обработки поверхности корня. В группе 1 (Кюреты) поддесневая обработка поверхности корня должна была проводиться с помощью зоноспецифических кюрет Грейси, в группе 2 (УЗСВ) – с помощью ультразвуковой системы Вектор, в группе 3 (Кюреты + УЗСВ) – поддесневая обработка поверхности корня и удаление микробной биопленки в которой проводилась с помощью комбинированной методики с применением вначале зоноспецифических кюрет Грейси, а затем с ультразвуковой системы Вектор в одно посещение.

Оценку клинического состояния тканей пародонта и забор содержимого пародонтального кармана повторяли через 10 дней и через 6 недель после проведения процедуры поддесневой обработки поверхности корня. Указанные временные промежутки обусловлены сроками формирования зрелой биопленки на поверхности корня и сроком формирования соединительнотканного прикрепления тканей пародонта к цементу корня.

В ходе исследования 12 человек выбыло в связи с тем, что они не явились в контрольные сроки для осмотра (7 человек) или не соблюдали рекомендации в ходе лечения (5 человек).

Итоговое количество участников исследования составило 107 человек в возрасте от 26 до 70 лет (средний возраст $48 \pm 12,1$). Среди них отмечалось 62 женщины в средний возраст $47 \pm 12,4$ лет и 45 мужчин средний возраст $49 \pm 11,7$ лет.

Наиболее частыми жалобами, которые предъявляли пациенты были жалобы на кровоточивость десен во время чистки зубов, болезненные ощущения в десне, неприятный запах изо рта, подвижность зубов, изменение положения зубов. Все пациенты не получали специализированного пародонтологического лечения и не принимали антибактериальные препараты per os в течение предшествующих 6 месяцев. По результатам заполнения анкеты здоровья и в ходе опроса у 17 человек определялась патология сердечно-сосудистой системы: гипертоническая болезнь у 9 человек, ишемическая болезнь сердца у 5 человек, нарушения сердечного ритма (синусовая аритмия, тахикардия) у 3 человек. О патологии щитовидной железы сообщили 3 человека. Заболевания мочевыделительной системы определялись у 4 человек (у 2 человек мочекаменная болезнь, у 2 человек хроническая почечная недостаточность). Две пациентки сообщили о наличии гинекологической патологии в анамнезе. О курении сообщили 23 человека, среди них 6 женщин и 17 мужчин.

В ходе стоматологического обследования у 25 человек был установлен диагноз хронический генерализованный пародонтит средней степени, что составило 23,4 % от общего числа участников исследования, у 82 человек – диагноз хронический генерализованный пародонтит тяжелой степени, что соответственно составило 76,6 %.

Итоговые группы исследования были сформированы следующим образом: группа 1 (Кюреты) - 38 человек (средний возраст $46 \pm 12,4$ лет), группа 2 (УЗСВ) - 36 человек, (средний возраст $48 \pm 12,0$ лет), группа 3 (Кюреты + УЗСВ) – 33 человека (средний возраст $49 \pm 12,0$).

Группы были сопоставимы по полу, возрасту и диагнозу. Наблюдалось преобладание пациентов с диагнозом хронический пародонтит тяжелой степени по сравнению с диагнозом хронический генерализованный пародонтит тяжелой степени во всех группах исследования.

Распределение пациентов в группах в зависимости от пола, возраста и степени тяжести хронического генерализованного пародонтита, в исследуемых группах представлено в таблице 2.1.

Всем пациентам перед проведением процедуры поддесневой обработки поверхности корня проводился комплекс профессиональных гигиенических мероприятий, включающий в себя удаление наддесневых зубных отложений с помощью ультразвукового скейлера, воздушно-абразивную обработку, полирование поверхностей зубов с помощью щеточки и пасты.

Для оценки эффективности различных методов удаления поддесневой микробной биопленки было проведено молекулярно-генетическое исследование заборов содержимого пародонтального кармана с помощью ПЦР в реальном времени, а также сканирующая электронная микроскопия с протоколом 3D визуализации изображений поверхности корней удаленных зубов.

Таблица 2.1 – Распределение пациентов по полу, возрасту, диагнозу в группах исследования

	Группа 1 (Кюреты)	Группа 2 (УЗСВ)	Группа 3 (Кюреты+УЗСВ)	χ^2	p
Всего	38	36	33		
Возраст	46,1±12,4	48,0±12,0	49,1±12,0	0,925	0,630
Пол				1,998	0,368
Ж	19	21	22		
М	19	15	11		
Диагноз				1,940	0,379
ХГП средней степени	11	9	5		
ХГП тяжелой степени	27	27	28		
Курение	11	7	5		

Примечание: χ^2 – Критерий Хи-квадрат Пирсона; p – значение статистической значимости.

2.2 Материалы и методы клинических исследований.

Обследование пациентов и оценка клинического состояния полости рта и тканей пародонта

Обследование пациентов включало в себя опрос (выяснение жалоб, анамнез болезни, информации о ранее проводимом пародонтологическом лечении и его эффективности анамнеза жизни, наличие сопутствующих заболеваний, длительности заболевания,) и осмотр (внеротовой и осмотр полости рта с регистрацией пародонтологического статуса), для характеристики состояния альвеолярной кости использовались рентгенологические методы исследования.

При проведении внешнего осмотра оценивали конфигурацию лица, состояние кожных покровов и видимых слизистых оболочек, степень открывания рта. Проводили пальпацию лимфатических узлов головы и шеи.

При обследовании полости рта оценивали глубину преддверия, уровень прикрепления уздечек губ и языка, наличие дополнительных слизистых тяжей, обращали внимание на состояние слизистой оболочки щек, твердого и мягкого неба, альвеолярных отростков, языка. Определяли наличие наддесневых и поддесневых зубных отложений, проводили оценку состояния зубов и зубных рядов (регистрировали наличие кариозных и некариозных поражений, супраконтактов, некачественных реставраций с наличием нависающих краев или отсутствием контактных пунктов, количество удаленных зубов), определяли тип прикуса, степень подвижности зубов, проводили оценку состояния тканей пародонта.

Состояние твердых тканей зубов и зубных рядов оценивалось с помощью индекса КПУ: К- количество зубов, имеющих кариозные поражения, П- количество запломбированных зубов, У- количество удаленных или подлежащих удалению зубов. Определялась интенсивность кариеса, как сумма количества зубов, пораженных кариозным процессом (К) и количества запломбированных зубов по поводу кариеса и его осложнений (П).

Для оценки клинического состояния тканей пародонта использовались следующие гигиенические и пародонтологические индексы и показатели: индекс зубного налета (PI Loe-Silness, 1967), индекс кровоточивости при зондировании (bleeding on probing, BOP), глубина зондирования пародонтального кармана (ГПК), уровень потери пародонтального прикрепления (CAL), подвижность зубов по Fleszar.

Индекс зубного налета (PI – Plaque Index) Silness-Loe, 1967).

Для регистрации индекса проводили обследование всех зубов. Визуально или зондом определяли наличие мягких зубных отложений на четырех поверхностях зуба.

Количество налета на одной поверхности зуба оценивается по шкале: 0 баллов – налета в придесневой области нет; 1 балл – тонкая пленка налета в придесневой области определяется только зондом; 2 балла – налет виден глазом в десневом желобке и пришеечной области; 3 балла – налет в избытке на большей части поверхности зуба и в межзубном промежутке.

Полученные оценки складывают и делят на количество обследуемых зубов.

$PI \text{ зуба} = \text{сумма баллов для 4х поверхностей} / 4$

$PI \text{ общ} = \text{сумма показателей всех обследованных зубов} / \text{количество зубов}$.

Индекс кровоточивости при зондировании (BOP) (Ainamo, Bay, 1975).

Для определения индекса обследуют десну в области поверхностей зубов на предмет наличия (+) или отсутствия (-) кровоточивости спустя 20 сек после зондирования.

0 – отсутствие кровоточивости спустя 20 сек после зондирования

1-наличие кровоточивости во время или спустя 20 секунд после зондирования

$BOP = \text{сумма баллов} / \text{количество обследованных зубов} \times 100\%$

Глубина зондирования пародонтального кармана.

Зондирование пародонтальных карманов для определения их глубины проводили при помощи пуговчатого градуированного пародонтального зонда ВОЗ, имеющего маркировку со следующими интервалами: 3,5–5,5–8,5–11,5 мм, от

десневого края до дна пародонтального кармана, ориентируясь на тактильно дно пародонтального кармана, ориентируясь на тактильное сопротивление тканей пародонта. Зондирование проводилось в четырех точках с вестибулярной, оральной, медиальной, дистальной контактных сторон у каждого зуба. Регистрировали наибольший показатель величины зондирования в области каждого зуба. Среднюю глубину пародонтальных карманов определяли, как сумму всех числовых показаний глубины пародонтальных карманов, деленную на количество обследованных зубов. Также регистрировали наибольший показатель глубины зондирования пародонтального кармана в области забора содержимого пародонтального кармана для дальнейшего микробиологического исследования.

Уровень потери пародонтального прикрепления (CAL)

Уровень потери пародонтального прикрепления (CAL) определяли с помощью пародонтального пуговчатого зонда как расстояние от цементно-эмалевого соединения до апикальной границы деструкции пародонта по длинной оси зуба.

Оценка подвижности зубов

Для оценки степени подвижности зубов использовали шкалу Миллера в модификации Флезара (Miller M., Fleszar P., 1980).

Критерии оценки :0 – подвижность в пределах физиологической; 1 степень – смещение зуба в вестибуло-оральном направлении не превышает 1 мм; 2 степень – смещение зуба в вестибуло-оральном направлении более чем на 1мм, функция зуба не нарушена; 3 степень – выраженная подвижность в вестибуло-оральном направлении, а также по вертикали с нарушением функции зуба

Значения изучаемых параметров проводилось у каждого пациента на этапах первичного клинического обследования до проведения профессиональной гигиены полости рта и удаления поддесневой микробной биопленки и обработки поверхности корня, а также через 10 дней и 6 недель после проведенной процедуры с целью динамического наблюдения за изменениями клинических показателей состояния тканей пародонта.

Рентгенологический метод исследования

Для постановки диагноза проводилось рентгенологическое обследование, включавшее ортопантомографию (ОПТГ) или конусно-лучевую компьютерную томографию (КЛКТ), а также проведение внутриротовой прицельной рентгенографии по показаниям. Рентгенологическое исследование в рентгенологическом отделении клинко-диагностического центра МГМСУ им. А.И. Евдокимова.

Оценку состояния тканей пародонта проводили с использованием ортопантомографии (аппарат OP 3D Pro (KaVo Dental GmbH, Германия)) и конусно-лучевой компьютерной томографии (аппарат «Orthophos SL 3D CepH» (Sirona Dental System GmbH, Германия)). Обращали внимание на наличие минерализованных поддесневых зубных отложений, наличие, степень и тип деструкции костной ткани, степень снижения высоты межальвеолярных перегородок, состояние фуркаций зубов и кортикальной пластинки челюстей, а также наличие нависающих краев пломб и ортопедических конструкций.

2.3 Лабораторные методы исследования

2.3.1 Молекулярно-генетический метод

Микробиологический контроль эффективности удаления поддесневой микробной биопленки проводился молекулярно-генетическим методом с использованием техники мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени для качественного и количественного определения 5 ключевых пародонтопатогенных микроорганизмов (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola*), гриба *Candida albicans* и общей бактериальной массы. ПЦР в реальном времени используется для одновременной амплификации, детекции и измерения количества искомой мишени. Преимуществом данного подхода является возможность количественного определения специфической последовательности нуклеиновых кислот в образце после каждого цикла амплификации.

Забор материала для молекулярно-генетического исследования (ПЦР в реальном времени).

Для проведения микробиологического исследования забор содержимого пародонтального кармана производили с помощью стерильных бумажных эндодонтических штифтов (размер 25 по ISO) в области самого глубокого пародонтального кармана, подлежащего обработке. Перед забором участки изолировали ватными валиками, осторожно высушивали с помощью воздуха, с помощью стерильной марлевой салфетки удаляли наддесневой налет с поверхности зуба. Два бумажных штифта погружали в пародонтальный карман на 30 секунд. Затем бумажные штифты помещали в стерильные пробирки типа Эппендорф объемом 1,5 мл. Проводили двукратный забор содержимого пародонтального кармана для увеличения надежности анализа. Все пробирки были промаркированы с помощью цифровых кодов, которые регистрировали в индивидуальной карте пациента. Образцы замораживали при температуре $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ и в таком виде в течение 7 дней доставляли в лабораторию фундаментальных исследований ГБУЗ «Московский Клинический Научно-Практический Центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы» для выделения ДНК из биологического материала. Пробы хранились в лаборатории при температуре $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ не более 4 недель.

Первый забор для микробиологического исследования проводился до начала всех лечебных манипуляций, в том числе и до профессиональной гигиены полости рта. Заборы содержимого пародонтального кармана повторяли через 10 дней и через 6 недель после проведения удаления поддесневой микробной биопленки (рисунок 2.1).



Рисунок 2.1 – Забор материала для молекулярно-генетического исследования

Выделение ДНК из образцов

Экстракция ДНК из биологического материала проводилась с помощью комплекта для выделения ДНК «Проба-ГС» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия), который основан на лизисе клеток сильными хаотропными агентами. Набор «Проба-ГС» также подходит и для экстракции геномной ДНК человека.

К бумажным штифтам в пробирке добавляли 1 мл физиологического раствора и сильно перемешивали в течение 1 мин, после чего штифты удаляли стерильным пинцетом. Суспензию биологического материала центрифугировали 3 мин при 13000 г. Далее отбирали 900 мкл надосадочной жидкости. Выделение ДНК осуществлялось из суспензии материала в физиологическом растворе объёмом 100 мкл согласно методике, рекомендованной производителем. Сначала в промаркированные пробирки вносили по 300 мкл лизирующего раствора. Пробирки перемешивали и подвергали термостатированию при 65 °С в течение 15 мин и затем сбрасывали капли жидкости коротким центрифугированием. Затем добавляли 400 мкл реагента для преципитации и встряхивали пробирки на вортексе в течение 3–5 с. Далее центрифугировали пробирки при 16000 г в течение 15 мин. После центрифугирования удаляли надосадочную жидкость и к осадку добавляли 500 мкл промывочного раствора №1, содержимое перемешивали путем переворачивания, а затем снова центрифугировали 16000 г в течение 5 мин. Далее полностью удаляли надосадочную жидкость, добавляли к осадку 300 мкл

промывочного раствора №2, перемешивали путем 5-кратного переворачивания. После центрифугирования при 16000 g в течение 5 мин удаляли надосадочную жидкость, высушивали осадок при 65 °С в течение 5 мин и добавляли 100 мкл буфера для растворения. Пробирки термостатировали при 65 °С в течение 10 мин, встряхивали на вортексе в течение 3–5 с и центрифугировали 16000 g в течение 30 с. Выделенный препарат ДНК хранили при температуре +2–8 °С не более 7 суток или при температуре –20 °С не более 6 мес.

Проведение ПЦР в реальном времени

Для проведения ПЦР в реальном времени был использован набор реагентов «Пародонтоскрин» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия), состоящий из специфичных праймеров для амплификации и специфичного к последовательности продукта флуоресцентно меченого зонда типа TaqMan (активируется ДНК-полимеразой в присутствии матричной цепи), к пяти пародонтопатогенным микроорганизмам (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. Denticola*) и *Candida albicans*) (рисунок 2.2).



Рисунок 2.2 – Набор реагентов «Пародонтоскрин» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия)

Принцип метода ПЦР основан на использовании процесса амплификации ДНК, заключающегося в повторяющихся циклах температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и

последующей достройки полинуклеотидных цепей с этих праймеров Taq-полимеразой. Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта, который обеспечивается методикой приготовления реакционной смеси, состоящей из двух слоёв, разделённых прослойкой из парафина. Смешение слоёв и превращение их в амплификационную смесь происходит только после плавления парафина, что исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки. В реакционную смесь для проведения ПЦР введены ДНК-зонды, каждый из которых несёт флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции. При образовании специфичного продукта ДНК-зонд разрушается, действие гасителя на флуоресцентную метку прекращается, что ведёт к возрастанию уровня флуоресценции. Количество разрушенных зондов (а, следовательно, и уровень флуоресценции) возрастает пропорционально количеству образовавшихся специфических ампликонов и измеряется на каждом цикле амплификации.

Необходимое количество пробирок с подготовленной реакционной смесью, содержащей специфические синтетические олигонуклеотидные праймеры и зонд, маркировали согласно количеству анализируемых образцов. Во все промаркированные пробирки добавляли раствор Taq-полимеразы. Во все промаркированные пробирки (кроме пробирок К⁻ – отрицательный контрольный образец, К⁺ – положительный контрольный образец) вносили 5 мкл анализируемого препарата ДНК или кДНК. Контрольные образцы необходимы для исключения ложных результатов, возникающих вследствие артефактов детекции. В пробирку К⁻ вносили отрицательный контрольный образец (должен давать отрицательную реакцию, так как сам образец не содержит фрагментов ДНК, необходим для контроля чистоты реактивов). В пробирку К⁺ вносили положительный контрольный образец (всегда дает положительную реакцию, так как уже содержит клонированный фрагмент специфической ДНК, необходим для проведения сравнения результатов с опытными образцами).

Для амплификации ДНК использовали детектирующий амплификатор «ДТ-Лайт» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия), с оптическим блоком,

позволяющим обнаруживать флуоресценцию внутри реакционной пробирки в ходе амплификации. Стрипы с исследуемым материалом устанавливали в блок амплификатора. Амплификацию проводили согласно режимам, прописанным в инструкции к набору, с помощью программного обеспечения RealTime_PCR. Регистрация сигнала флуоресценции проводится прибором автоматически во время амплификации. Детекция и учёт результатов осуществляется амплификатором детектирующим автоматически. Детектируемый флуоресцентный сигнал может состоять из трех последовательных участков: 1 – базовая линия (сигнал не превышает предела детектирования прибора); 2 – экспоненциальная амплификация; 3 – плато. Сигнал флуоресценции в ходе ПЦР возрастает пропорционально количеству продукта амплификации. Мониторинг сигнала позволяет построить кинетическую кривую реакции, при этом момент заметного увеличения сигнала и отрыва его от фонового – так называемый пороговый цикл – зависит от исходного количества ДНК-мишени. Чем больше количество ДНК в образце, тем раньше наблюдается начало роста сигнала флуоресценции и тем меньше пороговый цикл.

Раствор, содержащий выделенную ДНК, вносили в реакционную смесь для амплификации методом ПЦР в реальном времени. Полученный препарат в объеме 5 мкл использовали качестве матрицы для проведения одной ПЦР. ПЦР в режиме реального времени проводили с помощью детектирующего амплификатора «ДТ-Лайт» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Учёт результатов реакции проводили с помощью программного обеспечения, детектирующего амплификатора «ДТ-Лайт».

Результаты ПЦР в реальном времени регистрировали в графическом виде по кривой флуоресцентного сигнала, пересекающей линию порога базовой флуоресценции с определением значения порогового цикла (Ct-цикла), при котором это пересечение происходило. С помощью программного обеспечения получали отчет о проведенном исследовании в цифровом виде для трактовки результатов реакции. При наличии в исследуемом образце ДНК микроорганизмов, выявляемых набором «Пародонтоскрин», в строке с названием этого

микроорганизма указывалось количество микроорганизма, выраженное десятичным логарифмом концентрации в геном-эквивалент на миллилитр (lg ГЭ/мл). Количество геномных эквивалентов клеток микроорганизмов в единице объема клинического образца (ГЭ/мл) отражает абсолютную концентрацию данных микроорганизмов в клиническом материале, а логарифмирование данных было использовано для удобства представления данных (рисунок 2.3).

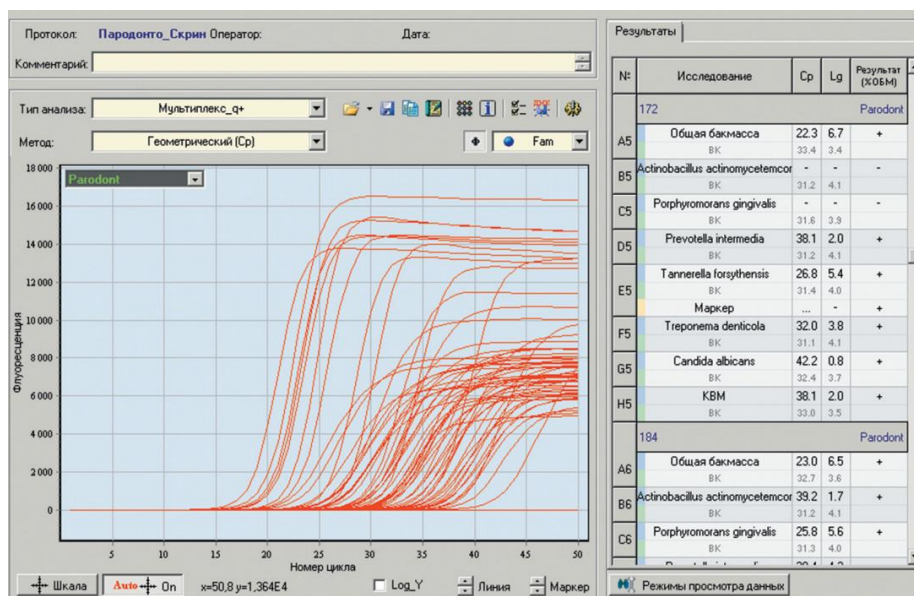


Рисунок 2.3 – Графическое представление, иллюстрирующее ход ПЦР в реальном времени

2.3.2 Сканирующая электронная микроскопия с 3D-визуализацией.

Удаление зубов для сканирующей электронной микроскопии

Для оценки эффективности удаления поддесневой микробной биопленки различными методами и их воздействия на ультраструктуру цемента с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) было удалено 16 зубов с подвижностью 3 степени и неблагоприятным пародонтологическим прогнозом у одного пациента с хроническим генерализованным пародонтитом тяжелой степени и 4 зубов с интактным пародонтом по ортодонтическим показаниям у пациентов, проходящих лечение в отделении пародонтологии университетской клиники МГМСУ, после получения информированного согласия. Перед удалением зубов,

пораженных хроническим генерализованным пародонтитом, было проведено удаление поддесневой микробной биопленки с помощью зоноспецифических ручных кюрет Грейси у 4 зубов (группа Кюреты), у 4 зубов с помощью металлических насадок и наконечника ультразвуковой системы Вектор с настройками мощности, рекомендуемыми производителем (группа УЗСВ), еще у 4 х зубов – с помощью комбинации использования ручных зоноспецифических кюрет Грейси и системы Вектор (Группа Кюреты + УЗСВ). У 4 зубов перед удалением не проводилось поддесневой обработки поверхности корня (Группа ХГП). Интактные зубы, удаленные по ортодонтическим показаниям, составили Группу Норма. Для удаления зубов использовали минимально травматичные методики по отношению к корню зуба.

Поверхность зубов аккуратно отмывали с помощью физиологического раствора от крови и других загрязнений. Удаленные зубы фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида на буфере Хенкса (pH=7,2) при температуре 4°С в течение 24 ч и затем в течение 2 суток доставляли в лабораторию.

Подготовка образцов к СЭМ

Исследование поверхности цемента корня проводилось в лаборатории соединительной ткани, клеточных технологий с группой клинической генетики НМИЦ ТО им. Н.Н. Приорова.

Образцы зубов подвергались стандартной подготовке для исследования с помощью сканирующего электронного микроскопа: проводилась дегидратация зубов в спиртах возрастающих концентраций (70%,80%,96%, 100% этилового спирта, 3 смены по 5–10 минут в каждом растворе). После дегидратации использовали метод сушки в критической точке в аппарате Quorum K850 (Quorum Technologies, Великобритания). Подготовленные образцы монтировали на алюминиевый столик токопроводящим углеродным клеем, напыляли слоем золота толщиной 5 нм в напылительной установке Quorum Q150ES (Quorum Technologies, Великобритания) (рисунок 2.4).



Рисунок 2.4 – Подготовленные образцы удаленных зубов для исследования с помощью СЭМ

Получение изображений с помощью СЭМ и 3D-визуализация

Подготовленные образцы исследовали в сканирующем электронном микроскопе S 3400N (Hitachi, Япония) при ускоряющем напряжении в условиях высокого вакуума. Прохождение пучка электронов вдоль поверхности образца и фиксирование свойств отраженных электронов лежит в основе принципа СЭМ. Проводили исследование поверхности корня и поперечного среза в направлении от цемента-эмалевой границы к верхушке корня зуба с шагом 2мм, а также исследование продольных срезов зубов. В режиме реального времени получали 3D микрофотографии путем одновременной регистрации изображений с встроенных в 4 квадранта камеры для образцов детекторов вторичных отраженных электронов и программного обеспечения Hitachi PC-SEM. Полученные микрофотографии сохраняли для дальнейшего изучения и описания (рисунок 2.5).

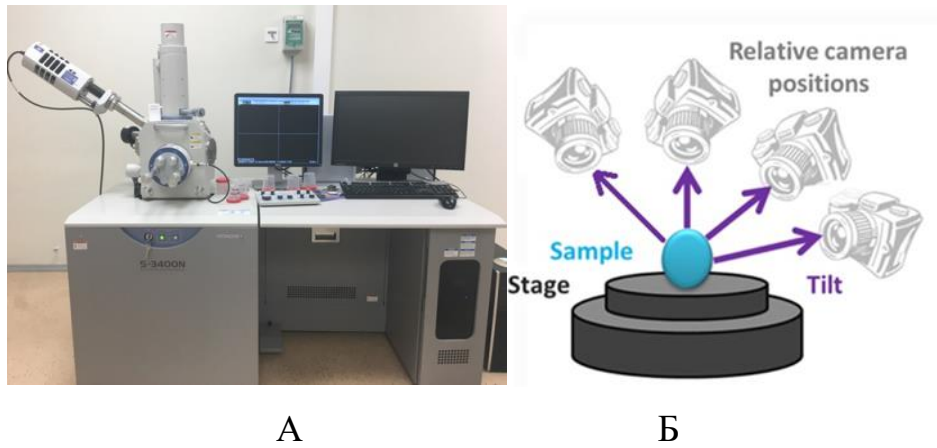


Рисунок 2.5 А – сканирующий электронный микроскоп S 3400N (Hitachi, Япония);
 Б – схематичное расположение детекторов вторичных отраженных электронов
 для получения 3D изображений

2.4 Проведение поддесневой обработки поверхности корня

В группе 1 (Кюреты) удаление поддесневой микробной биопленки проводилось с помощью зоноспецифических кюрет Грейси фирмы HU-Friedy (США). Для обработки дистальных поверхностей корней моляров и премоляров использовалась кюрета SAS13/1498E2, для обработки медиальных поверхностей корней моляров и премоляров использовалась кюрета SG15/1693E2, для обработки вестибулярных и оральных поверхностей корней моляров и премоляров использовались кюреты SG7/897E2 и SG9/1096E2, для обработки всех поверхностей корней в области резцов и клыков использовались кюреты SG5/695E2 и SG1/291E2.

В группе 2 (УЗСВ) удаление поддесневой микробной биопленки проводилось с помощью ультразвуковой системы Вектор. Характеристики этой системы включают в себя резонирующее кольцо в наконечнике, которое преобразует горизонтальные колебания (частота 25 кГц) в вертикальные движения. В результате инструмент (насадка), фиксированный в наконечник, движется параллельно поверхности корня. Охлаждающей жидкостью системы является водная суспензия полировальной жидкости, которая поступает прерывистыми пульсациями со скоростью потока 6 мл/мин. Благодаря линейному

ультразвуковому перемещению рабочей насадки суспензия удерживается вокруг прибора гидродинамическими силами и предотвращается образование аэрозоля. Охлаждающая жидкость устанавливает косвенную связь ультразвуковой энергии с поверхностью корня, так что предполагается, что поверхность корня очищается гидродинамическими силами, такими как кавитация или акустический микропоток, а не скалывающим действием наконечника инструмента.

Для удаления поддесневой микробной биопленки и обработки поверхности корней зубов использовались наконечник Vector Paro Handpiece, насадки, входящие в набор для пародонтологического лечения Vector Paro tool kit и полировочная суспензия Vector fluid polish. Частота колебаний насадки устанавливалась в размере 25кГц. Насадки Зонд Paro Plus, Прямой зонд Paro использовались для обработки всех поверхностей корней в резцах и клыков. Насадка Ланцет Paro использовалась для обработки вестибулярных и оральных поверхностей моляров и премоляров. Насадка Кюрета Paro использовалась для обработки апроксимальных поверхностей моляров и премоляров. Насадка Изогнутый зонд Paro использовалась для обработки области фуркации корней моляров.

В группе 3 (Кюреты + УЗСВ) удаление поддесневой микробной биопленки и обработка поверхности корня проводилась сначала с помощью зоноспецифических кюрет, а затем с помощью аппарата ультразвуковой системы Вектор в одно посещение.

Во всех группах исследования поддесневая обработка поверхности корня, проводилась до тактильного ощущения гладкой поверхности корня, что дополнительно контролировалось использованием пародонтального зонда. Во всех трех группах обработка поверхности корня и удаления поддесневой микробной биопленки проводилась по сегментам полости рта с перерывом не более 48 ч между лечением.

2.5 Статистические методы исследования

Полученные данные статистически обрабатывались с помощью программы Jamovi 1.6 (Компьютерное программное обеспечение, <https://www.jamovi.org>), StatTech v. 1.2.0 (разработчик – ООО “Статтех”, Россия) по стандартным методикам вариационной статистики. Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 50).

Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1-Q3).

Для сравнения одновременно трех групп использовался однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Сравнение трех и более групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью критерия Краскела-Уоллиса (H), апостериорные сравнения – с помощью критерия Данна с поправкой Холма.

Для сравнения трех и более связанных групп по нормально распределенному количественному признаку применялся однофакторный дисперсионный анализ с повторными измерениями. При сравнении трех и более зависимых совокупностей, распределение которых отличалось от нормального, использовался непараметрический критерий Фридмана (F) с апостериорными сравнениями с помощью критерия Уилкоксона с поправкой Холма.

Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей.

Сравнение процентных долей при анализе многопольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью точного критерия Фишера (при значениях

ожидаемого явления менее 10). Апостериорные сравнения выполнялись с помощью критерия хи-квадрат Пирсона (χ^2) с поправкой Холма.

Направление и теснота корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивались с помощью коэффициента корреляции Пирсона r (при нормальном распределении сопоставляемых показателей), коэффициента ранговой корреляции Спирмена ρ (при распределении показателей, отличном от нормального). Теснота связи по шкале Чеддока :0,1 – 0,3 – слабая; 0,3 – 0,5 – умеренная; 0,5 – 0,7- заметная; 0,7 – 0,9 – высокая; 0,9 – 0,99 – весьма высокая.

В качестве критического уровня значимости при проверке статистических гипотез был установлен $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В данной главе приводятся результаты оценки эффективности удаления поддесневой микробной биопленки с поверхности корня зуба различными методами (зоноспецифические кюреты Грейси, ультразвуковой системы Вектор, комбинированная методика с использованием зоноспецифических кюрет Грейси и ультразвуковой системы Вектор одновременно) на основании полученных клинических данных, данных молекулярно-генетического исследования и сканирующей электронной микроскопии поверхности корней удаленных зубов посредством статистической обработки данных методами вариационной статистики.

3.1 Результаты клинических исследований

Стоматологическое обследование и лечение, заключающееся в удалении поддесневых зубных отложений и поддесневой микробной биопленки было проведено 107 пациентам обоих полов с хроническим генерализованным пародонтитом тяжелой степени в возрасте от 26 до 70 лет. Исходя из поставленных задач, пациенты были распределены на три группы, которые были сопоставимы по полу и возрасту. В группе 1 (Кюреты) удаление поддесневых зубных отложений проводилось с помощью зоноспецифических кюрет Грейси, в группе 2 (УЗСВ) – с помощью ультразвуковой системы Вектор, в группе 3 (Кюреты + УЗСВ) – комбинированной методикой с последовательным использованием зоноспецифических кюрет Грейси и системы Вектор в одно посещение. Обработка полученных результатов проводилась методами математической статистики.

3.1.1 Стоматологический и пародонтологический статус пациентов до начала лечения

Оценка стоматологического и пародонтологического статуса включала в себя регистрацию и оценку состояния твердых тканей зубов, уровня гигиены полости рта с помощью индекса гигиены PI (Силнесс-Лоэ,1967), индекса кровоточивости при зондировании ВОР, глубину зондирования пародонтальных карманов (ГПК) и величину потери пародонтального прикрепления (CAL).

Анализ состояния твердых тканей зубов в группах сравнения был проведен на основании интенсивности кариозного процесса (К+П) и количества удаленных зубов (У). Интенсивность кариозного процесса (рисунок 3.1 А) оценивалась как сумма количества зубов, пораженных кариесом (К), и количества пломбированных зубов по поводу кариеса и его осложнений (П). Было обнаружено, что уровень кариозного процесса (К+П) был несколько выше в группе 2 (УЗСВ) и составил в среднем 9,00 (6,00-13,0). Уровень кариозного процесса в группе 1 (Кюреты) составил 6,50 (4,25-11,75), в группе 3 (Кюреты+УЗСВ) – 7,00 (6,00-13,0). Однако статистически значимых различий в интенсивности кариозного процесса между группами исследования не было обнаружено ($p=0,69$).

Что касается удаленных зубов (рисунок 3.1 Б), то здесь наиболее высокий показатель отмечался в группе 1 (Кюреты), который составил 3,00 (1,00- 5,75), в группе 2 (УЗСВ) количество удаленных зубов составило в среднем 1,00 (0,00-4,00), в группе 3 (Кюреты+УЗСВ) -2,00 (0,00-6,00). Статистически значимых различий в количестве удаленных зубов между группами обнаружено не было ($p=0,47$). Невысокие показатели количества удаленных зубов у обследуемых пациентов можно объяснить тем, что в исследование были преимущественно включены пациенты, обращающиеся к врачу стоматологу-пародонтологу впервые и ранее не получавшие специализированного лечения, в том числе и проведение удаления зубов по поводу хронического генерализованного пародонтита.

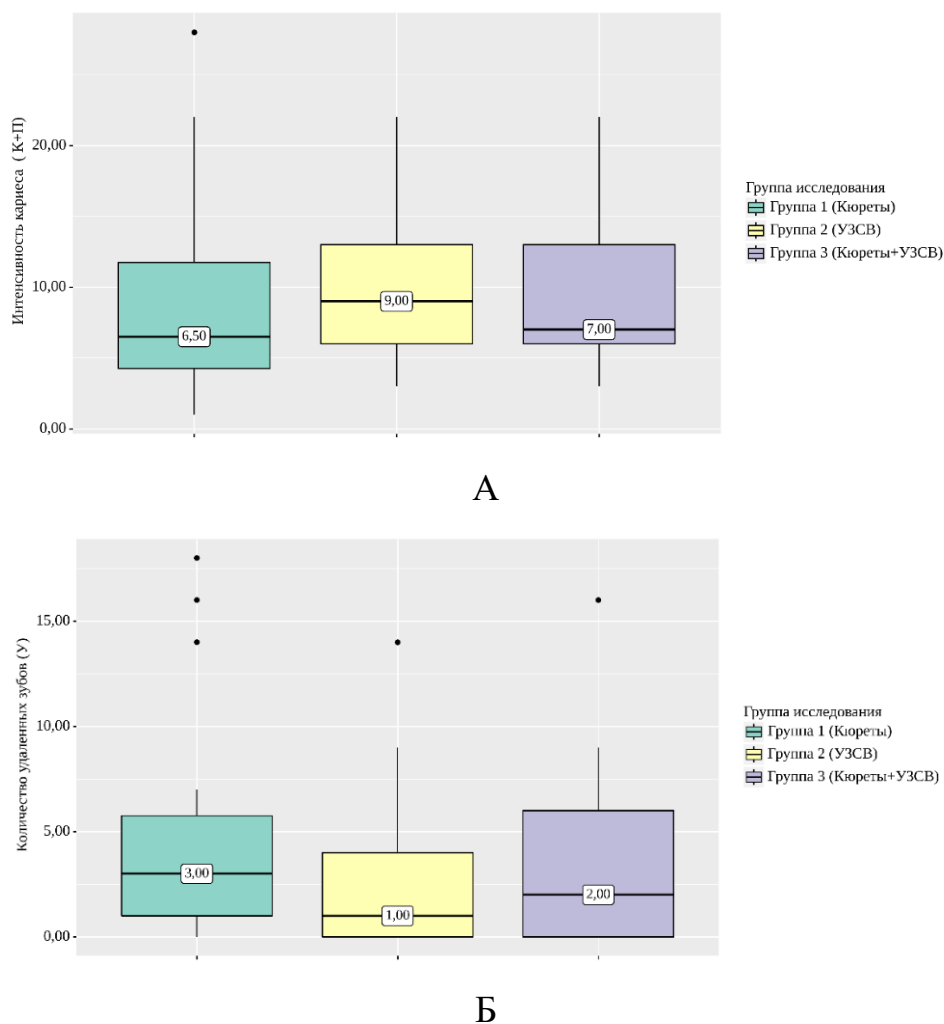


Рисунок 3.1 – Сравнительная оценка состояния твердых тканей зубов в группах исследования до лечения: А – интенсивность кариозного процесса, Б – сравнительный анализ количества удаленных зубов

При анализе уровня гигиены было установлено, что у пациентов на исходном уровне во всех трех группах он был примерно одинаковым (рисунок 3.2 А). Индекс гигиены PI (Силнесс-Лоэ) составил в среднем в группе 1(Кюреты) -1,50 (0,83 – 1,75), в группе 2 (УЗСВ)– 1,50 (0,95 – 2,00), в группе 3 (Кюреты+УЗСВ) – 1,50 (0,70 – 2,20). Статистически значимой разницы в показателях индекса гигиены до начала лечения обнаружено не было ($p=0,97$).

Значения индекса кровоточивости при зондировании до лечения также не показали статистически значимой разницы в группах исследования на исходном уровне ($p=0,12$). В группе 1 (Кюреты) индекс кровоточивости определялся на

уровне 0,80 (0,60 – 1,00), в группе 2 – на уровне 0,70 (0,50 -0,90), в группе 3 (Кюреты+УЗСВ) – 0,70 (0,40 – 0,90) (рисунок 3.2 Б).

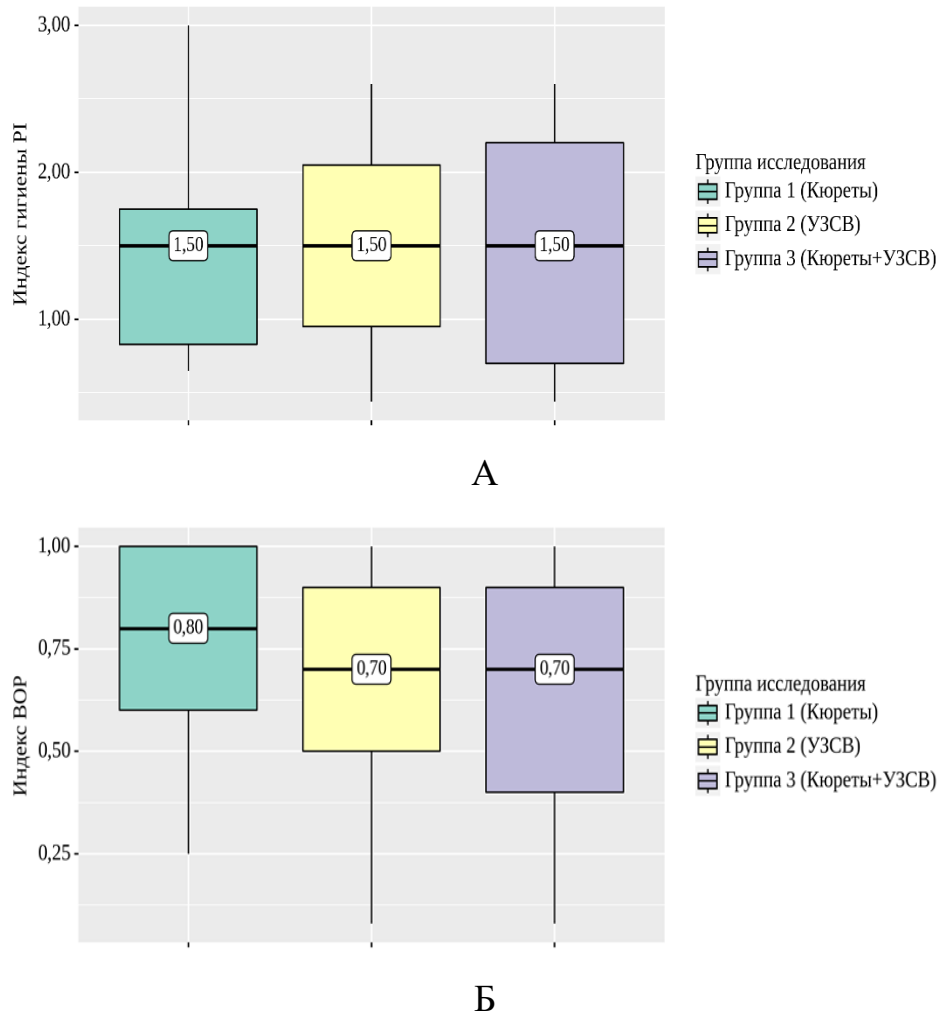


Рисунок 3.2 – Сравнительная оценка клинических показателей состояния тканей пародонта в группах исследования до лечения: А – Сравнительная оценка индекса гигиены PI (Силнесс-Лоэ). Б – Сравнительная оценка индекса кровоточивости при зондировании (ВОР)

Глубина зондирования пародонтальных карманов (ГПК) до лечения в группе 1 (Кюреты) составила в среднем $4,95 \pm 0,96$ мм, в группе 2 (УЗСВ) – $5,09 \pm 1,22$ мм, в группе 3 (Кюреты +УЗСВ) – $5,03 \pm 1,24$ мм. Статистически значимых различий в ГПК между группами исследования обнаружено не было ($p=0,91$).

По значению потери уровня пародонтального прикрепления (CAL) группы также статистически значимо не отличались между собой ($p=0,73$). В группе 1

(Кюреты) величина CAL составила $5,98 \pm 1,49$ мм, в группе 2 (УЗСВ) величина CAL составила $5,68 \pm 1,67$ мм, а в группе 3 (Кюреты+ УЗСВ) – $5,69 \pm 1,45$ мм (рисунок 3.3).

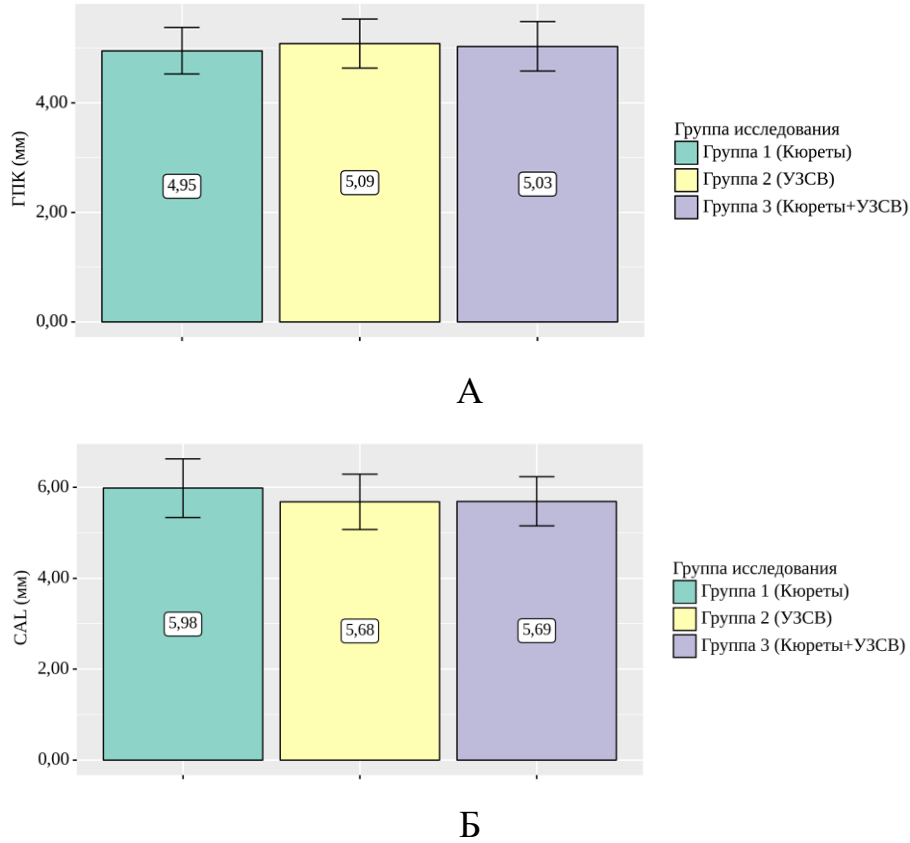


Рисунок 3.3 – Сравнительная оценка клинических показателей состояния тканей пародонта в группах исследования до лечения: А- сравнительная оценка ГПК. Б – сравнительная оценка CAL

3.1.2 Сравнительная оценка динамики изменений клинических показателей в ходе лечения

Для оценки клинической эффективности удаления поддесневой микробной биопленки с поверхности корня зуба с использованием различных методов в группах исследования проводилось сравнительная оценка динамики показателей индекса гигиены (PI), индекса кровоточивости при зондировании (ВОР), глубины зондирования пародонтального кармана (ГПК), величины потери

пародонтального прикрепления (CAL) до лечения и на сроках 10 дней и 6 недель после проведенного лечения.

В процессе анализа динамики изменения состояния индивидуальной гигиены полости рта с помощью индекса гигиены PI в группах исследования в зависимости от метода удаления поддесневой микробной биопленки были получены следующие результаты.

В группе 1 (Кюреты) были выявлено статистически значимое улучшение индивидуальной гигиены полости рта на всех сроках наблюдения (рисунок 3.4), выражающееся в снижении индекса гигиены PI после удаления поддесневой микробной биопленки через 10 дней с 1,30 (0,81 – 1,58) до 0,50 (0,40 – 0,80) ($p < 0,001$) и через 6 недель с 1,30 (0,81 – 1,58) до 0,50 (0,40 – 0,75) ($p < 0,001$).

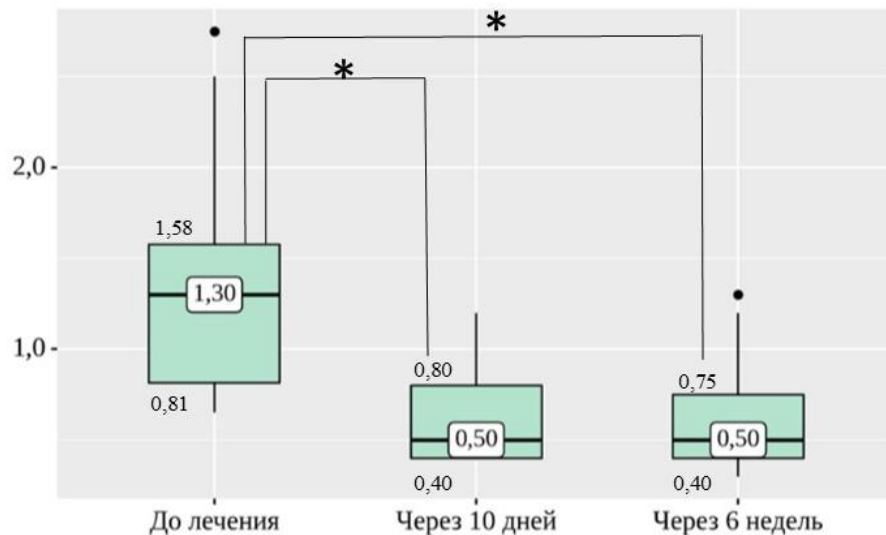


Рисунок 3.4 – Анализ динамики индекса гигиены PI (Силнесс-Лоэ) в группе 1(Кюреты). *- обнаружены статистически значимые изменения ($p < 0,05$)

В группе 2 (УЗСВ) показатель индекса гигиены PI статистически значимо снижался через 10 дней с 1,35 (0,93 – 2,18) до 0,70 (0,43 – 0,90) ($p < 0,001$) и через 6 недель с 1,35 (0,93-2,18) до 0,65 (0,50-1,08) ($p < 0,001$) (рисунок 3.5), что также свидетельствует об улучшении индивидуальной гигиены полости рта после проведенного лечения.

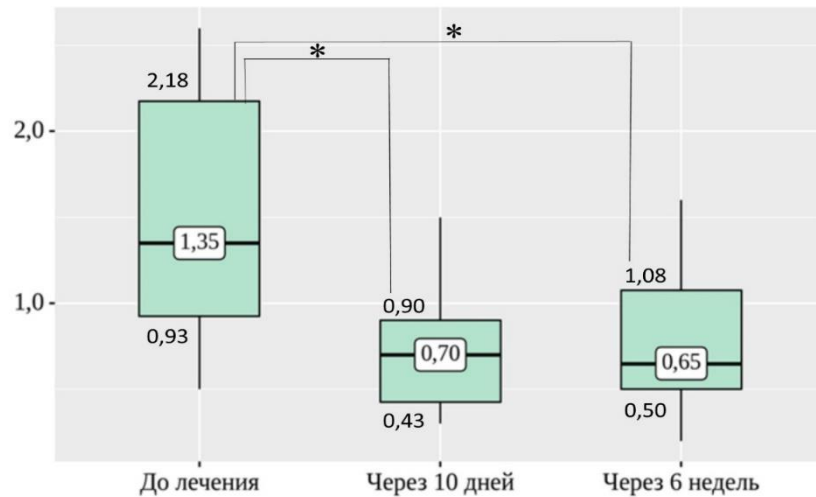


Рисунок 3.5 – Анализ динамики индекса гигиены PI (Силнесс-Лоэ) в группе 2 (УЗСВ). *- обнаружены статистически значимые изменения ($p < 0,05$)

В группе 3 (Кюреты+УЗСВ) было обнаружено статистически значимое снижение значения индекса PI (рисунок 3.6) с 1,45 (0,80-2,20) до 0,80 (0,40 -1,00) через 10 дней после лечения ($p < 0,001$) и с 1,45 (0,80-2,20) до 0,80 (0,40 – 1,18) через 6 недель ($p < 0,001$), повторяющее имеющуюся тенденцию к улучшению индивидуальной гигиены полости рта.

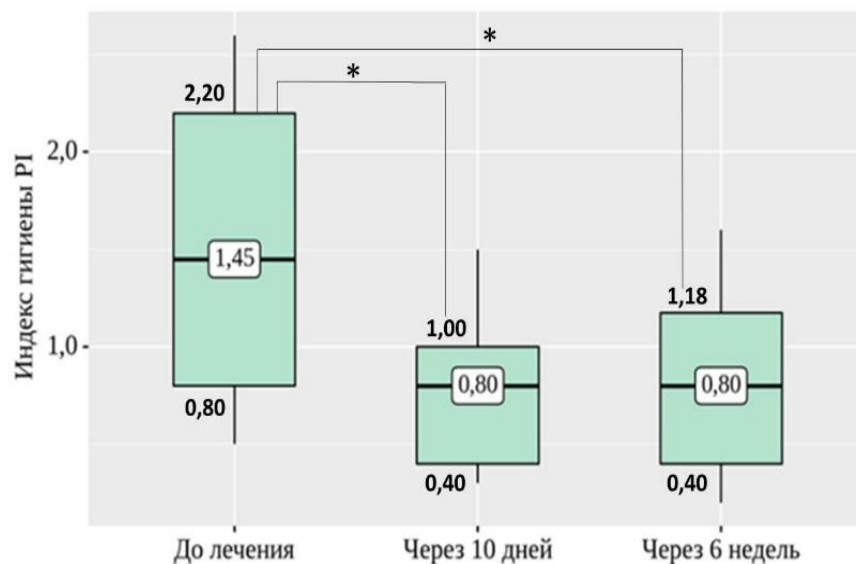


Рисунок 3.6 – Анализ динамики индекса гигиены PI (Силнесс-Лоэ) в группе 3 (Кюреты+УЗСВ). *- обнаружены статистически значимые изменения ($p < 0,05$)

При анализе динамики изменения индекса кровоточивости при зондировании ВОР во всех группах исследования отмечалось снижение показателей индекса кровоточивости при зондировании ВОР через 10 дней и через 6 недель после лечения, свидетельствующее об уменьшении кровоточивости и уменьшении степени воспаления в тканях пародонта (таблица 3.1).

Таблица 3.1 – Сравнительная оценка значения индекса гигиены РІ в зависимости от метода удаления поддесневой микробной биопленки Me (Q1-Q3)

Срок наблюдения	Группа 1 (Кюреты)	Группа 2 (УЗСВ)	Группа 3 (Кюреты+УЗСВ)	Н	р
До лечения	1,30 (0,81 – 1,58)	1,35 (0,93-2,18)	1,45 (0,80-2,20)	0,07	0,846
Через 10 дней	0,50 (0,40 – 0,80)	0,70 (0,43-0,90)	0,80 (0,40 -1,00)	0,05	0,573
Через 6 недель	0,50 (0,40-0,75)	0,65 (0,5-1,08)	0,80 (0,40 – 1,18)	2,98	0,320

В группе 1 (Кюреты) были установлены статистически значимые изменения ($p < 0,001$), выражающиеся в снижении индекса кровоточивости при зондировании ВОР на всех этапах после лечения (рисунок 3.7): с 0,85 (0,49-1,00) до 0,40 (0,28-0,53) через 10 дней ($p=0,003$), через 6 недель с 0,85 (0,49-1,00) до 0,30 (0,19-0,40) ($p < 0,001$) и на этапе 10 дней - 6 недель 0,40 (0,28-0,36) до 0,30 (0,19-0,40) ($p = 0,016$).

Проведённый анализ показал, что в группе 2 (УЗСВ) также наблюдалось статистически значимое снижение индекса кровоточивости при зондировании на всех сроках наблюдения ($p < 0,001$) (рисунок 3.8): через 10 дней после удаления поддесневой микробной биопленки с 0,70 (0,60-0,90) до 0,40 (0,20-0,40) ($p < 0,001$), через 6 недель с 0,70 (0,60-0,90) до 0,30 (0,20–0,30) ($p < 0,001$) и на сроке 10 дней – 6 недель с 0,40 (0,20-0,40) до 0,30 (0,20-0,30) ($p=0,022$).

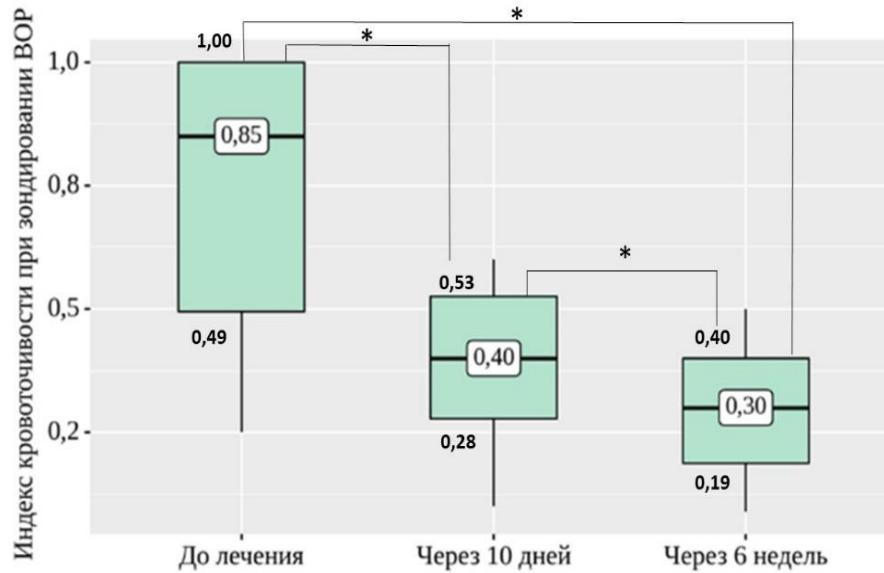


Рисунок 3.7 – Анализ динамики индекса кровоточивости при зондировании ВОР в группе 1 (Кюреты).

*- обнаружены статистически значимые изменения ($p < 0,05$)

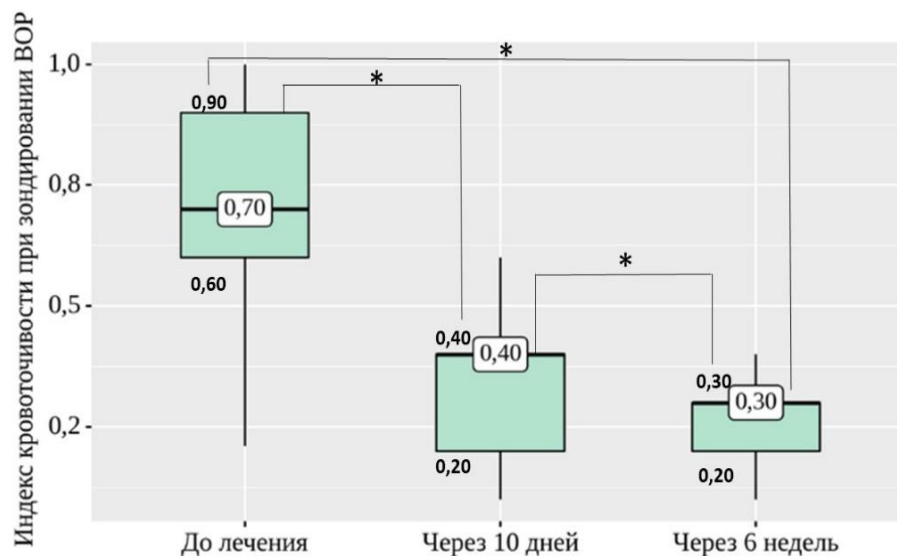


Рисунок 3.8 – Анализ динамики индекса кровоточивости при зондировании ВОР в группе 2 (УЗСВ).

*- обнаружены статистически значимые изменения ($p < 0,05$)

В группе 3 (Кюреты+УЗСВ) наблюдалось аналогичное статистически значимое снижение значения индекса кровоточивости при зондировании ВОР

(рисунок 3.9) на всех сроках наблюдения ($p < 0,001$): с 0,70 (0,60 – 0,90) до 0,30 (0,19-0,36) через 10 дней ($p < 0,001$), через 6 недель с 0,70 (0,60-0,90) до 0,20 (0,10-0,30) ($p < 0,001$) и на этапе 10 дней - 6 недель 0,30 (0,19-0,36) до 0,20(0,10-0,30) ($p = 0,005$).

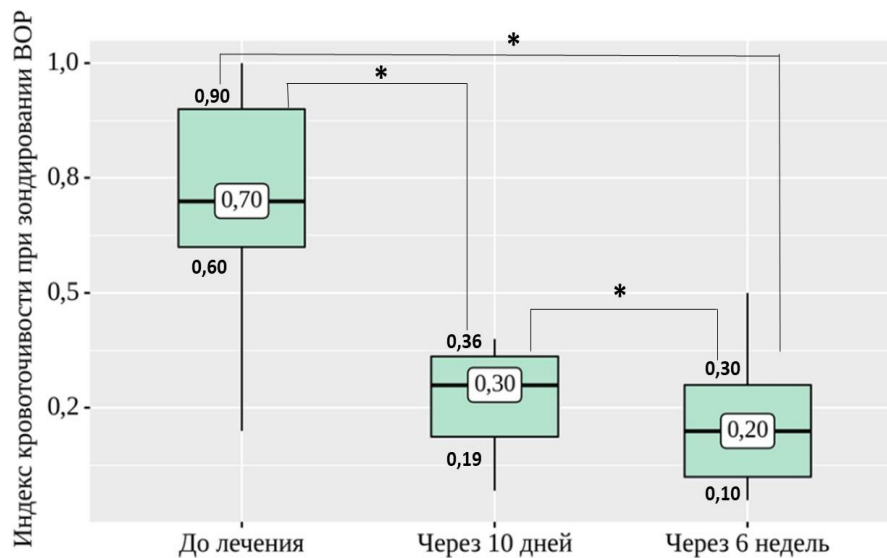


Рисунок 3.9 – Анализ динамики индекса кровоточивости при зондировании ВОР в группе 3 (Кюреты+УЗСВ).

*- обнаружены статистически значимые изменения ($p < 0,05$)

В процессе сравнения между группами исследования (таблица 3.2) было обнаружено статистически значимо более низкое значение показателя индекса кровоточивости при зондировании ВОР (ВОР=0,30 (0,19-0,36)) в группе 3 (Кюреты+УЗСВ) через 10 дней после лечения ($p=0,017$). Апостериорный анализ показал, что индекс кровоточивости при зондировании ВОР был статистически значимо меньше в группе 3 (Кюреты+УЗСВ) (ВОР=0,30 (0,19-0,36)) по сравнению с группой 1 (Кюреты) (ВОР=0,40 (0,28-0,53)) ($p = 0,015$). Через 6 недель после удаления поддесневой микробной пленки статистически значимых различий в индексе ВОР между группами исследования не обнаруживалось ($p = 0,061$), хотя значение индекса ВОР, равное 0,20 в группе 3 (Кюреты+УЗСВ), продолжало оставаться наиболее низким по сравнению с остальными группами, где его значение составляло 0,3.

При анализе взаимосвязи индекса кровоточивости ВОР с методом удаления биопленки помощью корреляционного анализа была обнаружена статистически значимая обратная связь умеренной силы значения ВОР через 10 дней после лечения ($\rho = -0,44$; $p < 0,001$) и статистически значимая обратная связь слабой силы значения ВОР через 6 недель после лечения ($\rho = -0,29$; $p = 0,02$).

Таблица 3.2 – Сравнительная оценка значения индекса кровоточивости ВОР в зависимости от метода удаления поддесневой микробной биопленки (Me (Q1-Q3))

Срок наблюдения	Группа 1 (Кюреты)	Группа 2 (УЗСВ)	Группа 3 (Кюреты+УЗСВ)	Н	р
До лечения	0,85 (0,49-1,00)	0,70 (0,60-0,90)	0,70 (0,60 – 0,90)	4,3	0,616
Через 10 дней	0,40 (0,28-0,53)	0,40 (0,20-0,40)	0,30 (0,19-0,36)	14,9	0,017* Р группа 3 – группа 1 = 0,015*
Через 6 недель	0,30 (0,19-0,40)	0,30 (0,20-0,30)	0,2 (0,10-0,30)	5,37	0,061

Примечание: * обнаружены статистически значимые различия ($p < 0,05$).

В ходе изучения динамики изменения глубины зондирования пародонтальных карманов (ГПК) и величины пародонтального прикрепления (CAL) полученные результаты были следующими

В группе 1 (Кюреты) были обнаружены статистически значимые изменений в глубине зондирования пародонтальных карманов через 10 дней и 6 недель после удаления поддесневой микробной биопленки. Отмечалось уменьшению ГПК после проведенного лечения с $4,85 \pm 0,97$ мм на исходном уровне до $4,36 \pm 0,81$ мм через 10 дней ($p < 0,001$) и до $4,16 \pm 0,79$ мм через 6 недель ($p < 0,001$) (рисунок 3.10).

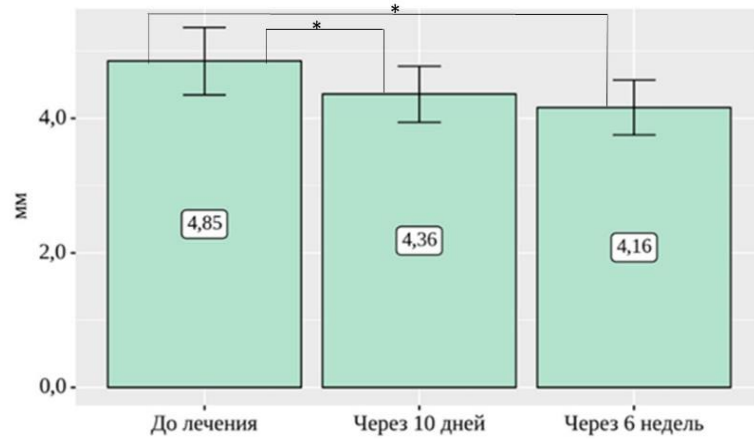


Рисунок 3.10 – Анализ динамики изменения глубины зондирования пародонтальных карманов в группе 1 (Кюреты).

*- обнаружены статистически значимые изменения ($p < 0,05$)

Согласно полученным данным (рисунок 3.11) в группе 1 (Кюреты) удалось выявить статистически значимые изменения ($p < 0,001$) в изменении САЛ. Отмечалось статистическое значимое уменьшение САЛ через 10 дней после лечения с $5,94 \pm 1,66$ мм до $5,71 \pm 1,59$ мм ($p=0,019$) и через 6 недель с $5,94 \pm 1,66$ мм до $5,57 \pm 1,56$ мм ($p=0,019$). Уменьшение величины САЛ в промежутке наблюдения 10 дней – 6 недель также было статистически значимым ($p=0,035$).

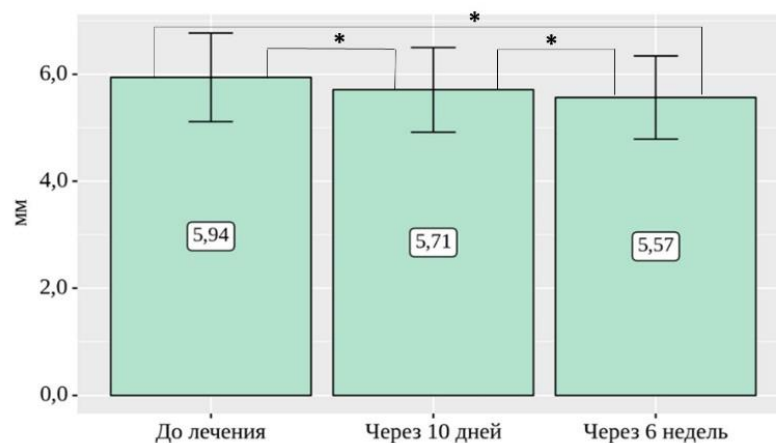


Рисунок 3.11 – Анализ динамики изменения величины потери пародонтального прикрепления САЛ в группе 1 (Кюреты).

*- обнаружены статистически значимые изменения ($p < 0,05$)

В группе 2 (УЗСВ) было установлено статистически значимое уменьшение ГПК на всех сроках наблюдения (рисунок 3.12): через 10 дней после удаления поддесневой микробной биопленки с $5,16 \pm 1,25$ мм до $4,64 \pm 1,06$ мм ($p < 0,001$), через 6 недель с $5,16 \pm 1,25$ мм до $4,26 \pm 0,97$ мм ($p < 0,001$) и на сроке 10 дней - 6 недель с $4,6$ мм до $4,3$ мм ($p < 0,001$).

В процессе анализа в группе 2 (УЗСВ) (рисунок 3.13) также выявлялось статистически значимое снижение CAL ($p < 0,001$): через 10 дней после лечения с $5,72 \pm 1,75$ до $5,42 \pm 1,72$ мм ($p = 0,002$) и через 6 недель с $5,72 \pm 1,75$ мм до $5,20 \pm 1,78$ мм ($p = 0,003$). Уменьшение величины CAL в промежутке наблюдения 10 дней – 6 недель также было статистически значимым ($p = 0,013$).

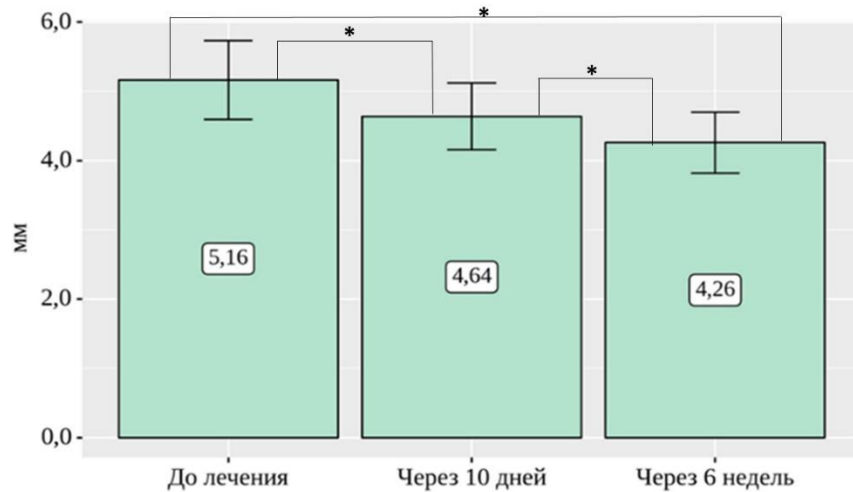


Рисунок 3.12 – Анализ динамики изменения глубины зондирования пародонтальных карманов в группе 2 (УЗСВ.)

*- обнаружены статистически значимые изменения ($p < 0,05$)

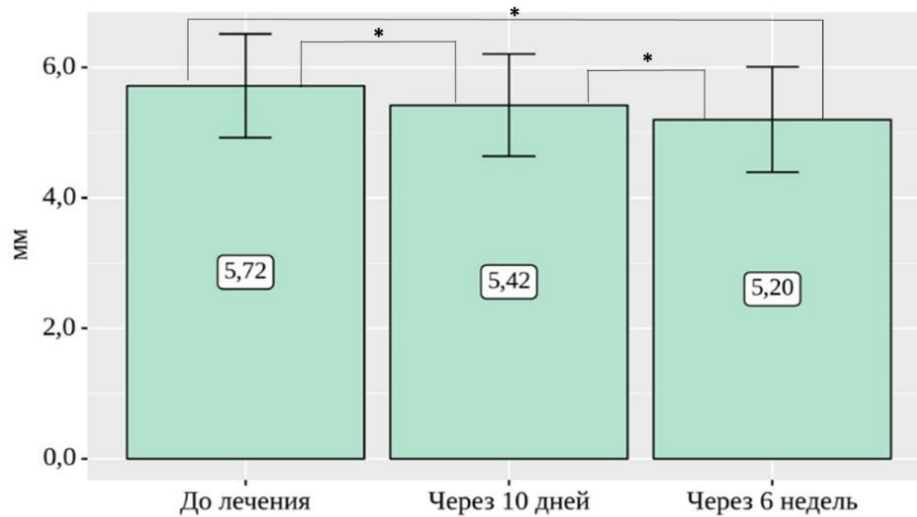


Рисунок 3.13 – Анализ динамики изменения величины потери пародонтального прикрепления CAL в группе 2 (УЗСВ)

*- обнаружены статистически значимые изменения ($p < 0,05$)

В ходе анализа в группе 3 (Кюреты+УЗСВ) (рисунок 3.14) были установлены статистически значимые изменения, заключающиеся в снижении ГПК: ГПК уменьшалась через 10 дней с $5,24 \pm 1,04$ мм до $4,70 \pm 0,83$ мм ($p < 0,001$), через 6 недель с $5,24 \pm 1,04$ мм до $4,35 \pm 0,75$ мм ($p < 0,001$) и на сроке 10 дней – 6 недель с $4,70 \pm 0,83$ мм до $4,35 \pm 0,75$ мм ($p < 0,001$).

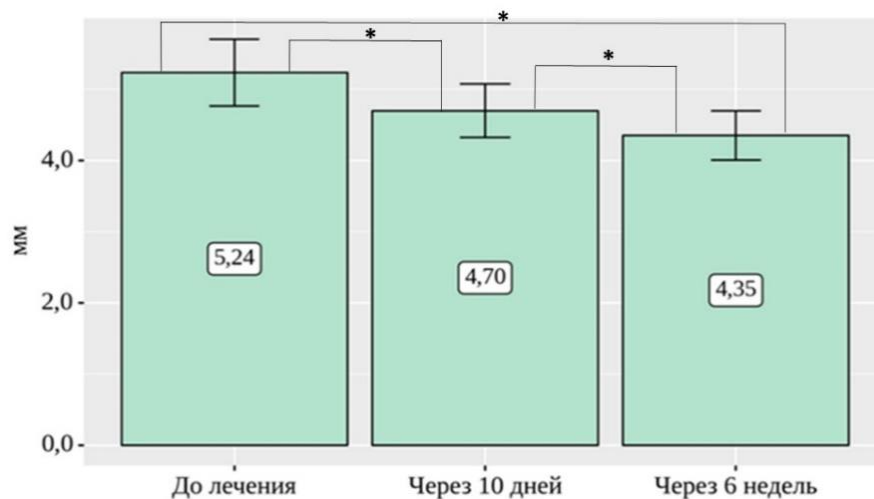


Рисунок 3.14 – Анализ динамики изменения глубины зондирования пародонтальных карманов в группе 3 (Кюреты+УЗСВ)

*- обнаружены статистически значимые изменения ($p < 0,05$)

В группе 3 (Кюреты+УЗСВ) САЛ также статистически значимо снижался на ($p < 0,001$) через 10 дней после лечения с $5,93 \pm 1,33$ мм до $5,60 \pm 1,30$ мм ($p < 0,001$) и с $5,93 \pm 1,33$ мм до $5,35 \pm 1,32$ мм через 6 недель ($p < 0,001$). Уменьшение величины САЛ в промежутке наблюдения 10 дней – 6 недель также было статистически значимым ($p=0,008$) (рисунок 3.15).

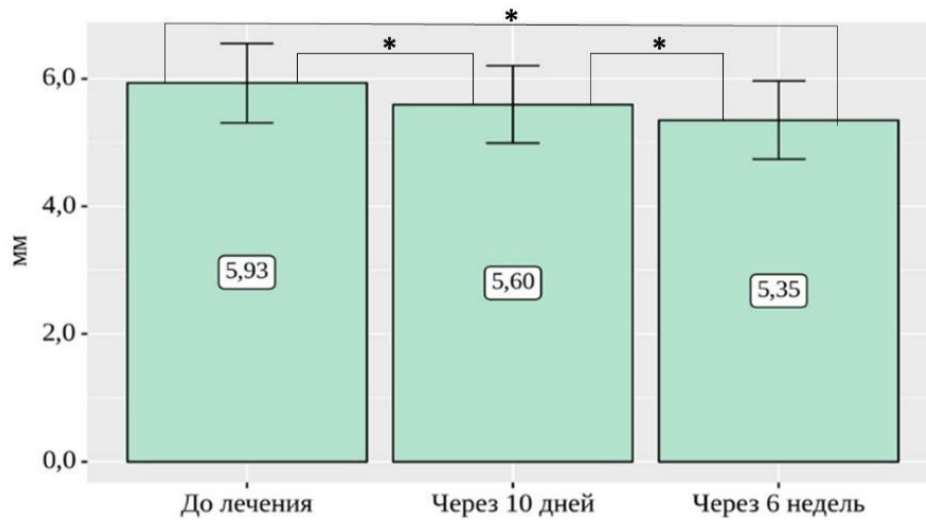


Рисунок 3.15 – Анализ динамики изменения величины потери пародонтального прикрепления САЛ в группе 3 (Кюреты+УЗСВ)

*- обнаружены статистически значимые изменения ($p < 0,05$)

При межгрупповых сравнениях не было обнаружено статистически значимых различий в изменении глубины пародонтальных карманов и величины потери пародонтального прикрепления: ГПК и САЛ снижалась во всех группах исследования равномерно на всех сроках наблюдения (таблица 3.3).

Таблица 3.3 – Сравнительная оценка ГПК и САЛ в зависимости от метода удаления поддесневой микробной биопленки (M±SD (95% ДИ))

Срок наблюдения	Группа 1 (Кюреты)	Группа 2 (УЗСВ)	Группа 3 (Кюреты+УЗСВ)	F	p
До лечения					
ГПК, мм	4,85 ± 0,97 (4,35-5,35)	5,16±1,25 (4,60 – 5,73)	5,24 ± 1,04 (4,76 – 5,71)	0,08	0,54
САЛ,мм	5,94 ± 1,66 (5,12 – 6,77)	5,72±1,75 (4,92– 6,51)	5,93 ± 1,33 (5,31 – 6,55)	0,74	0,88
Через 10 дней					
ГПК, мм	4,36 ± 0,81 (3,94- 4,77)	4,64 ± 1,06 (4,16 – 5,12)	4,70 ± 0,83 (4,00 – 4,79)	0,15	0,48
САЛ,мм	5,71 ± 1,59 (4,92 – 6,50)	5,42 ± 1,72 (4,63 – 6,20)	5,60 ± 1,30 (4,99- 6,20)	0,31	0,84
Через 6 недель					
ГПК, мм	4,16 ± 0,79 (3,75-4,57)	4,26± 0,97 (3,82 – 4,70)	4,35 ± 0,75 (4,01 – 4,69)	0,24	0,78
САЛ,мм	5,57±1,56 (4,79-6,34)	5,20 ± 1,78 (4,39– 6,01)	5,35± 1,32 (4,73 – 5,97)	0,85	0,77

3.2 Результаты молекулярно-генетического исследования

В этой главе представлены результаты молекулярно-генетического исследования, выполненного с помощью ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ). ПЦР-РВ позволила с высокой степенью точности качественно и количественно определить наличие в составе поддесневой биопленки 5 наиболее значимых пародонтопатогенных микроорганизма (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola*), дрожжеподобного гриба *Candida albicans*, а также такого показателя как общая бактериальная масса (ОБМ), отражающего общую обсемененность пародонтального кармана. Заборы содержимого пародонтального кармана проводились с помощью стерильных бумажных адсорбционных эндодонтических штифтов до лечения, через 10 дней и через 6 недель после проведения процедуры удаления поддесневой микробной биопленки. Обоснование указанных сроков забора для молекулярно-генетического исследование приведено в главе «Материалы и методы».

3.2.1 Состав микробиома пародонтального кармана у пациентов в группах сравнения до лечения

Для увеличения статистической мощности в оценке состава микробиома пародонтального кармана у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней и тяжелой степени перед началом лечения было принято решение объединить результаты ПЦР в реальном времени пациентов в трех группах исследования. Оценивали частоту обнаружения и абсолютное количество *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola* и *Candida albicans*, значение ОБМ, а также определяли структуру бактериального консорциума путем вычисления доли абсолютного количества микроорганизма относительно ОБМ.

Наиболее часто выделяем пародонтопатогеном из содержимого пародонтального кармана была *T. forsythia*, которая обнаруживалась в среднем у 98,1 % исследуемых пациентов. *P. gingivalis* и *T. denticola* выделялись примерно с одинаковой частотой, *P. gingivalis* обнаруживалась в среднем у 89,7 % обследуемых пациентов, а *T. denticola* у 86,9%. *P. intermedia* обнаруживалась в содержимом пародонтальных карманов в среднем у 73,8% пациентов, *A. actinomycetemcomitans* – у 35,5 % пациентов. Частота обнаружения *Candida albicans* составила 9,30 % (рисунок 3.16).

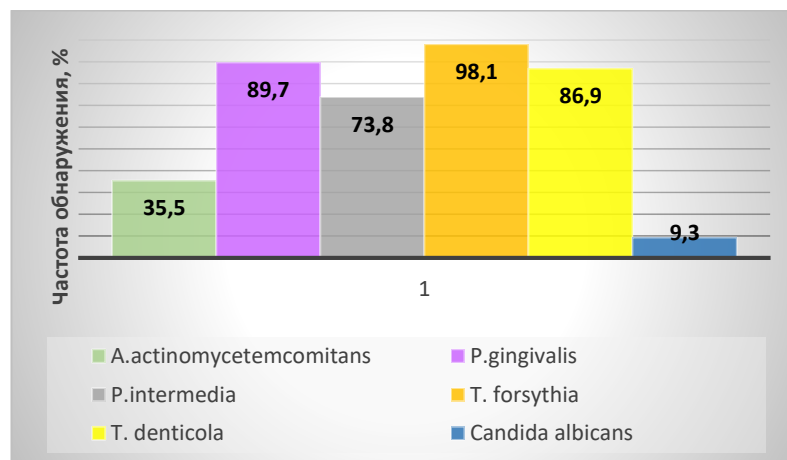


Рисунок 3.16 – Частота обнаружения (%) пародонтопатогенных микроорганизмов и *Candida albicans* у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом до лечения

При сравнении абсолютных количеств микроорганизмов (рисунок 3.17) наибольшее значение отмечалось у *T. forsythia*, которое в среднем составило 6,5 (4,70 – 6,95) lg ГЭ/мл, количество *P. gingivalis* составило 5,5 (2,00 – 7,10) lg ГЭ/мл, *T. denticola* определялось в количестве 4,5 (2,70 – 5,85) lg ГЭ/мл, количество *P. intermedia* составило 2,20 (0,00 – 4,65) lg ГЭ/мл. Средние количества *A. actinomycetemcomitans* и *Candida albicans* были значительно меньше остальных и составили 0,0 (0,00 – 1,30) lg ГЭ/мл для *A. actinomycetemcomitans* и 0,0 lg ГЭ/мл для *Candida albicans*. Средний показатель ОБМ составил 7,5 (7,05 – 8,00) lg ГЭ /мл. Количество геномных эквивалентов клеток микроорганизмов в единице объема клинического образца (ГЭ/мл) отражает абсолютную концентрацию данных микроорганизмов в клиническом материале, а логарифмирование данных было использовано для удобства представления данных.

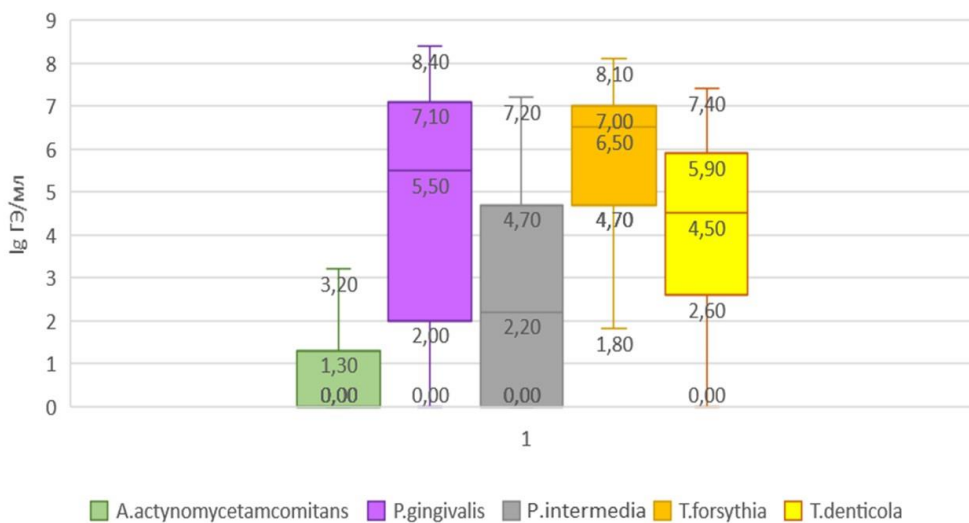


Рисунок 3.17 – Абсолютное количество пародонтопатогенных микроорганизмов у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом на исходном уровне

При анализе структуры поддесневого микробного сообщества (рисунок 3.18) были обнаружены тенденции согласующиеся с результатами, полученными ранее при оценке частоты обнаружения исследуемых микроорганизмов и их абсолютного количества: наибольшую долю из ключевых пародонтопатогенных микроорганизмов занимала *T. forsythia*, доля которой составляла 7,94% (0,75%–

15,8%)), на втором месте была *P. gingivalis* с долей 2,24 % (0,00%–20,0%)), далее следовала *T. denticola* доля, которой составила 0,18 % (0,01%–1,22 %), доля *P. intermedia* от ОБМ составила 0,00% (0,00%–0,13%), доли *A. actinomycetemcomitans* и *Candida albicans* были незначительными и составляли около 0 %

Следует отметить большой разброс в количественных характеристиках исследуемых микроорганизмов, свидетельствующих о том, что профиль поддесневого микробного сообщества является индивидуальным для каждого пациента, страдающего хроническим генерализованным пародонтитом. Этот факт, возможно, определяет характер течения хронического генерализованного пародонтита в каждом конкретном случае (рисунок 3.18)

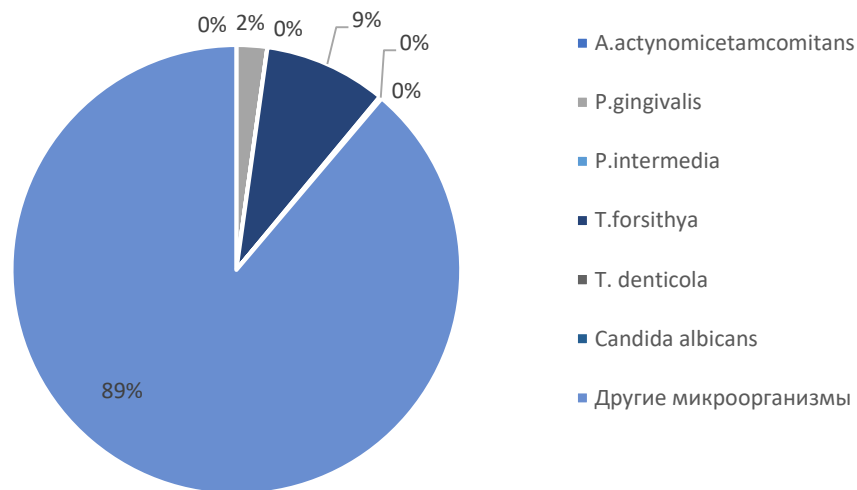


Рисунок 3.18 – Структура поддесневого микробного сообщества у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом

При проведении корреляционного анализа абсолютного количества изучаемых микроорганизмов с клиническими показателями состояния тканей пародонта и друг с другом были обнаружены следующие взаимосвязи. Отмечалась статистически значимая обратная корреляционная связь слабой силы между количеством *A. actinomycetemcomitans* и потерей пародонтального прикрепления CAL ($\rho = -0,20$; $p=0,03$). Между количеством *P. gingivalis* и показателем CAL

отмечалась статистически значимая прямая взаимосвязь слабой силы ($\rho=0,19$; $p=0,08$), а также отмечалась прямая корреляционная зависимость заметной силы между количеством *P. gingivalis* и общей бактериальной массой ($\rho=0,60$; $p<0,001$). Были обнаружены положительные корреляционные взаимосвязи слабой силы абсолютного количества *P. intermedia* с количеством *P. gingivalis* ($\rho=0,26$; $p=0,03$) и ОБМ ($\rho=0,21$; $p=0,01$). Абсолютное количество *T. forsythia* было статистически значимо взаимосвязано связью высокой силы с ОБМ ($\rho=0,84$; $p<0,001$). Также отмечалась статистически значимая заметная взаимосвязь количества *T. forsythia* с количеством *P. gingivalis* ($\rho=0,58$; $p<0,001$) и статистически значимая прямая взаимосвязь слабой силы количества *T. forsythia* с количеством *P. intermedia* ($\rho=0,31$; $p<0,001$). Были обнаружены следующие положительные статистически значимые взаимосвязи умеренной силы количества *T. denticola* с ОБМ ($\rho=0,48$; $p<0,001$), с количеством *P. gingivalis* ($\rho=0,35$; $p<0,001$), с количеством *P. intermedia* ($\rho=0,31$; $p=0,002$) и с количеством *T. forsythia* ($\rho=0,48$; $p<0,001$).

3.2.2 Состав микробиома пародонтального кармана после удаления поддесневой микробной биопленки

Изменения в поддесневом микробиоме оценивались на основании анализа частоты выделения *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *Candida albicans*, оценке динамики ОБМ, абсолютного количества *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *Candida albicans*, *Candida albicans* и долей перечисленных микроорганизмов через 10 дней и 6 недель после проведения процедуры поддесневой обработки поверхности корня и удаления микробной биопленки различными методами по сравнению с исходными данными.

3.2.2.1 Изменение частоты обнаружения микроорганизмов после лечения

Согласно полученным результатам (рисунок 3.19) в группе 1 (Кюреты) частота выделения *A. actinomycetemcomitans* через 10 дней после удаления поддесневой микробной биопленки с помощью зоноспецифических кюрет Грейси снижалась с 39,0 % до 29,0 % через 10 дней, а через 6 недель незначительно увеличивалась до 32,0 %. Данные изменения не обнаружили статистически значимой разницы ($p > 0,05$). Частота обнаружения *P. gingivalis* через 10 дней после лечения уменьшалась с 82,0 % до 71,0 %, а через 6 недель возвращалась к исходным цифрам и составила 84,0%. Эти изменения не имели статистической значимости ($p = 0,06$). Что касается *P. intermedia*, ее частота обнаружения через 10 дней после удаления поддесневой микробной биопленки с поверхности корня с помощью зоноспецифических кюрет Грейси статистически значимо уменьшалась с 84,0 % до 65,0 %, а через 6 недель уменьшалась до 72% ($p = 0,01$), не значительно увеличивая свое значение. Изменения в частоте обнаружения *T. forsythia* не показали статистически значимых различий ($p = 0,14$) и оставались на достаточно высоком уровне по сравнению с исходным значением 97%: через 10 дней частота ее обнаружения составила 90%, а через 6 недель – 92,0%. Частоты выделения *T. denticola* в заборах содержимого пародонтального кармана уменьшалась с 82,0 % до 65,0 % через 10 дней и до 72,0 % через 6 недель, демонстрируя статистически значимое различие ($p = 0,03$). Повышение частоты обнаружения *T. denticola* на сроке 10 дней – 6 недель, не имело статистически значимой разницы. *Candida albicans* показала статистически значимое снижение частоты обнаружения, составившее 0 % через 6 недель по сравнению с исходной частотой обнаружения 8,0 % и частотой 8,0 % через 10 дней ($p = 0,04$).

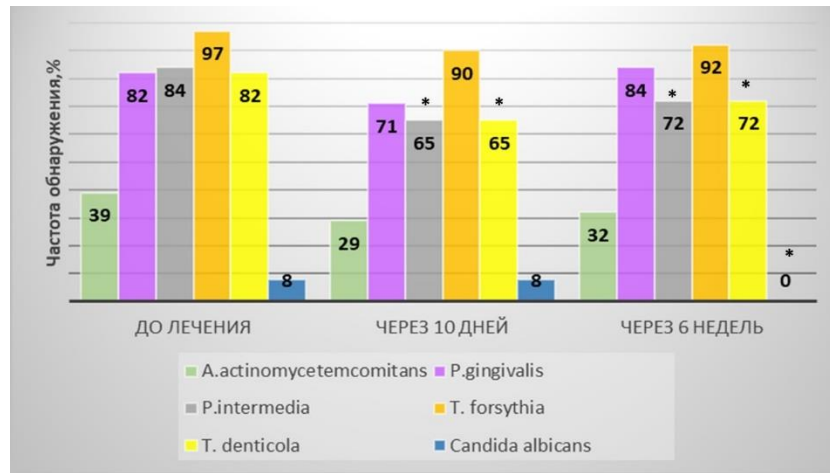


Рисунок 3.19 – Изменение частоты обнаружения микроорганизмов после лечения в группе 1 (Кюреты). *- обнаружены статистически значимые изменения по сравнению с исходным значением ($p < 0,05$)

В группе 2 (УЗСВ) были получены следующие результаты изменения частоты обнаружения микроорганизмов после проведения удаления поддесневой микробной биопленки с поверхности корня зуба с помощью устройства Вектор (рисунок 3.20).

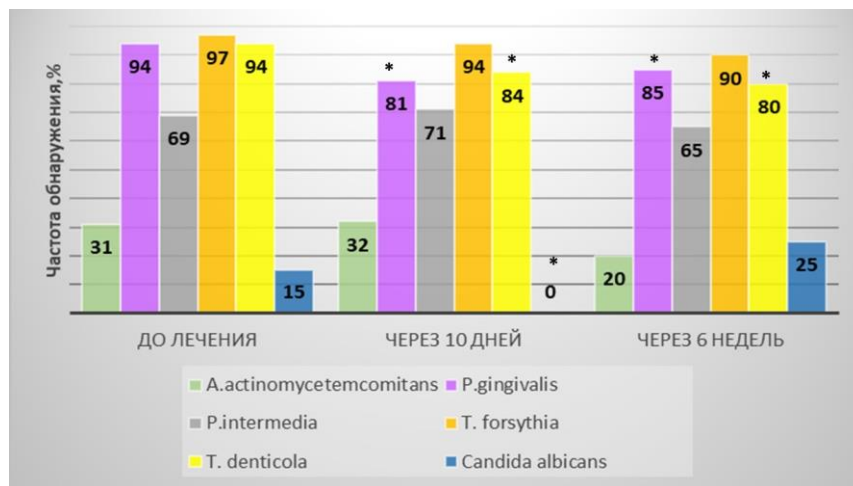


Рисунок 3.20 – Изменение частоты обнаружения микроорганизмов после лечения в группе 2 (УЗСВ). *- обнаружены статистически значимые изменения по сравнению с исходным значением ($p < 0,05$)

Не было обнаружено статистически значимых изменений в частоте выделения *A. actinomycetemcomitans* через 10 дней и 6 недель после проведенного лечения ($p=0,11$), но отмечалось снижение частоты обнаружения данного микроорганизма через 6 недель до 20,0% по сравнению со значением 31,0 % на исходном уровне и значением 32,0% через 10 дней после лечения. *P. gingivalis* демонстрировала снижение частоты обнаружения до 81,0 % через 10 дней после лечения и до 85,0% через 6 недель по сравнению с исходной частотой обнаружения, составившей 94,0 %. Данные изменения имели статистически значимое различие ($p=0,02$). В частоте обнаружения *P. intermedia*, которая составила 69 % на исходном уровне, 71,0 % через 10 дней и 65,0 % через 6 недель после удаления поддесневой микробной биопленки, не отмечалось статистически значимых различий ($p=0,65$). В частоте обнаружения *T. forsythia* также не отмечалось статистически значимых различий ($p=0,13$), хотя отмечалась тенденция к снижению частоты обнаружения указанного микроорганизма с 97,0 % на исходном уровне до 94,0% через 10 дней и до 90,0% через 6 недель после лечения. При сравнении частоты обнаружения *T. denticola* после лечения были обнаружено статистически значимое ее снижение с 94,0% до 84,0% через 10 дней и до 80,0 % через 6 недель ($p=0,01$). Частота выделения *Candida albicans* после проведенного лечения с помощью аппарата Вектор статистически значимо снижалась с 15,0 % до 0,0% через 10 дней, а затем статистически значимо увеличивалась до значения 25,0% через 6 недель ($p<0,01$). Статистически значимой разницы в исходной частоте обнаружения 15,0% и частотой обнаружения через 6 недель 25,0% обнаружено не было ($p=0,08$).

В группе 3 (Кюреты+УЗСВ) данные об изменении частоты обнаружения микроорганизмов после обработки поверхности корня с помощью комбинированного метода с использованием зоноспецифических кюрет Грейси и аппарата Вектор были следующими (рисунок 3.21).

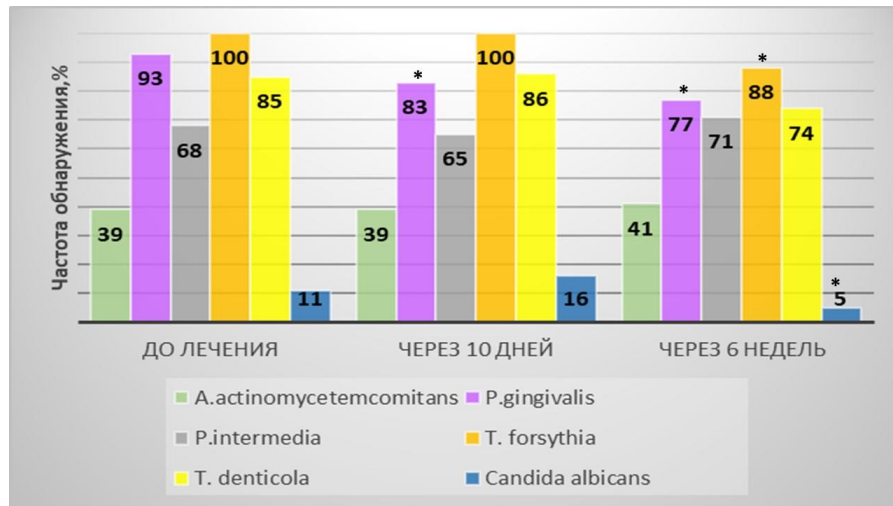


Рисунок 3.21 – Изменение частоты обнаружения микроорганизмов после лечения в группе 3 (Кюреты+УЗСВ). *- обнаружены статистически значимые изменения по сравнению с исходным значением ($p < 0,05$)

Частота обнаружения *A. actinomycetemcomitans* до лечения составила 39,0%, через 10 дней после лечения – 39,0 %, через 6 недель после лечения – 41,0%. В данных изменениях не было обнаружено статистически значимых различий ($p=0,39$). Частота обнаружения *P. gingivalis* статистически значимо последовательно уменьшалась с 93% на исходном уровне до 83,0 % через 10 дней после лечения и до 77,0% через 6 недель после лечения ($p=0,01$). Частота выделения *P. intermedia* не демонстрировала статистически значимых изменений ($p=0,66$), хотя отмечались незначительные колебания в частоте ее обнаружения: 68,0% до лечения, 65,0% через 10 дней после лечения и 71,0% через 6 недель после лечения. *T. forsythia* показала статистически значимое снижение частоты выделения через 6 недель, которое составило 88,0%, по сравнению с исходным уровнем 100,0% и частотой выделения 100,0% через 10 дней после лечения ($p < 0,01$). Частота обнаружения *T. denticola* снижалась с 85% до лечения и 86 % через 10 дней после до 74 % через 6 недель, но статистически значимой разницы это снижение не имело ($p=0,05$). Частота обнаружения гриба *Candida albicans* изменялась следующим образом незначительно увеличивалась частота его обнаружения через 10 дней после удаления поддесневой микробной биопленки с 11,0% до 16,0 %, а через 6

недель статистически значимо снижалась до 5,0% по сравнению с предыдущими сроками наблюдения ($p=0,04$).

Была обнаружена статистически значимая разница в частоте обнаружения отдельных микроорганизмов при межгрупповых сравнениях в зависимости от метода удаления поддесневой микробной биопленки (таблица 3.4).

Следует отметить, что согласно полученным данным *P. gingivalis* до лечения статистически значимо чаще обнаруживалась в группе 2 (УЗСВ) и группе 3 (Кюреты +УЗСВ), а *P. intermedia* до лечения статистически значимо чаще обнаруживалась в группе 1 (Кюреты), по сравнению с группой 2 (УЗСВ) и группой 3 (Кюреты +УЗСВ). Остальные микроорганизмы не показали статистически значимой разницы в частоте обнаружения до удаления поддесневой микробной биопленки при межгрупповых сравнениях.

Было обнаружено, что через 10 дней после лечения в группе 1 (Кюреты) частота обнаружения *T. forsythia* и *T. denticola* была статистически значимо меньшей, по сравнению с группой 2 (УЗСВ) и группой 3 (Кюреты+УЗСВ) ($p= 0,02$ и $p<0,01$ соответственно). А в группе 2 (УЗСВ) через 10 дней после удаления поддесневой микробной отмечалась самая низкая частота обнаружения *Candida albicans* в сравнении с другими группами исследования ($p<0,01$).

На сроке наблюдения 6 недель после проведенного лечения, в группе 2 (УЗСВ) наблюдалась наиболее низкая частота обнаружения *A. actinomycetemcomitans* ($p=0,03$), в то время как частота обнаружения *Candida albicans* в данной группе через 6 недель демонстрировала самое высокое значение из групп исследования, которое имело статистическую значимость ($p<0,01$).

3.2.2.2 Оценка изменения общей бактериальной массы после удаления поддесневой микробной биопленки различными методами

Было проведено сравнение изменения показателя общей бактериальной массы (ОБМ) в группах исследования до лечения и через 10 дней и 6 недель после проведения поддесневой обработки поверхности корней различными методами.

ОБМ отражает объем всех микроорганизмов в биоценозе пародонтального кармана и определяется детекцией консервативного участка гена 16S рибосомальной РНК во время проведения ПЦР. Этот ген есть в геноме всех известных бактерий и архей, но отсутствует у вирусов и в хромосомах ядер эукариот (таблица 3.4).

Таблица 3.4 – Частота обнаружения микроорганизмов в группах исследования в зависимости от метода удаления биопленки на различных сроках наблюдения.

Микроорганизм/ Сроки наблюдения	Группа 1 (Кюреты)	Группа 2 (УЗСВ)	Группа 3 (Кюреты+УЗСВ)	χ^2	p
<i>A. actinomycetemcomitans</i>					
До лечения	39,0 %	31,0 %	39,0 %	1,84	0,40
Через 10 дней	29,0 %	32,0 %	39,0 %	2,37	0,31
Через 6 недель	32,0 %	20,0 %	41,0 %	7,15	0,03*
<i>P. gingivalis</i>					
До лечения	82,0 %	94,0 %	93,0 %	9,60	0,01*
Через 10 дней	71,0 %	81,0 %	83,0 %	4,87	0,09
Через 6 недель	84,0 %	85,0 %	77,0%	2,58	0,28
<i>P.intermedia</i>					
До лечения	84,0 %	69,0 %	68,0%	8,28	0,02*
Через 10 дней	65,0 %	71,0 %	65,0 %	1,09	0,58
Через 6 недель	72,0 %	65,0 %	71,0 %	1,35	0,51
<i>T. forsythia</i>					
До лечения	97,0 %	97,0 %	100,0 %	1,18	0,56
Через 10 дней	90,0 %	94,0 %	100,0 %	7,61	0,02*
Через 6 недель	92,0 %	90,0 %	88,0 %	0,89	0,64
<i>T. denticola</i>					
До лечения	82,0%	94,0%	85,0%	6,75	0,04*
Через 10 дней	65,0%	84,0%	86,0%	15,8	<0,01*
Через 6 недель	72,0%	80,0%	74,0%	1,86	0,39
<i>Candida albicans</i>					
До лечения	8,00 %	15,0 %	11,0 %	2,46	0,29
Через 10 дней	8,00 %	0,00 %	16,0 %	15,02	<0,01*
Через 6 недель	0,00 %	25,0 %	5,00 %	36,13	<0,01*

Примечание: * – обнаружены статистически значимые различия.

Полученные результаты демонстрировали, что ОБМ в группе 1 (Кюреты) снижалась через 10 дней после лечения с 7,40 (6,80 -7,90) lg ГЭ/мл до 7,20 (6,10-7,60) lg ГЭ/мл, т.е. на 0,2 lg ГЭ/мл или в 1,6 раз, а через 6 недель составляла 7,50 (6,90-7,70) lg ГЭ/мл, то есть увеличивалась на 0,3 lg ГЭ/мл или в 2 раза в период наблюдения через 10 дней- через 6 недель после лечения (рисунок 3.22).

Статистически значимых различий в данных изменениях ОБМ в группе 1(Кюреты) обнаружено не было ($p=0,33$).

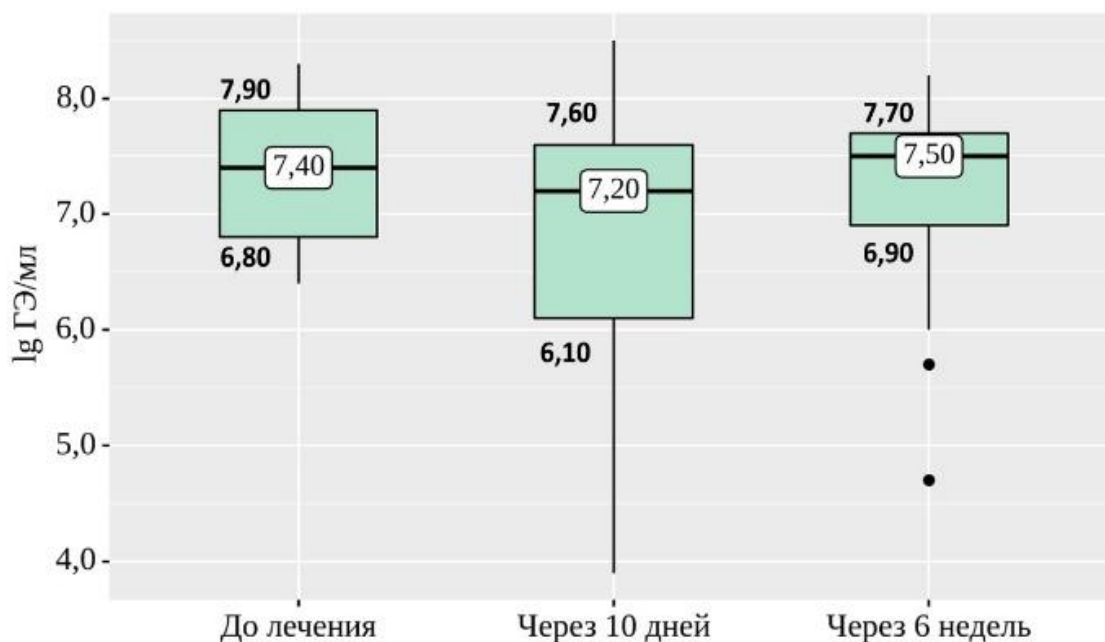


Рисунок 3.22 – Изменение ОБМ после лечения в группе 1 (Кюреты)

В группе 2 (УЗСВ) отмечалось снижение ОБМ через 10 дней после удаления поддесневых зубных отложений по сравнению с исходным показателем с 7,65 (7,02- 8,00) lg ГЭ/мл до 6,9 (6,55-7,60) lg ГЭ/мл, т.е. 0,65 lg ГЭ/мл или в 4,5 раза. Через 6 недель в данной группе отмечалось увеличение значений показателя ОБМ на 0,65 lg ГЭ/мл или в 4,47 раза и составило 7,55 (6,67-7,72) (рисунок 3.23). Данные изменения не имели статистической значимости ($p=0,17$).

В группе 3(Кюреты+УЗСВ) изменения ОБМ были наименее заметными (рисунок 3.24), до лечения ОБМ составила 7,30 (6,85-7,75) lg ГЭ/мл, через 10 дней ОБМ увеличилась на 0,3 lg ГЭ/мл или в 2 раза и составила 7,60 (7,00-7,80) lg ГЭ/мл, а через 6 недель величина ОБМ оставалась на прежнем уровне и составляла 7,60 (6,75-7,85) lg ГЭ/мл. Статистически значимых различий в изменении значения ОБМ в данной группе обнаружено не было ($p=0,84$).

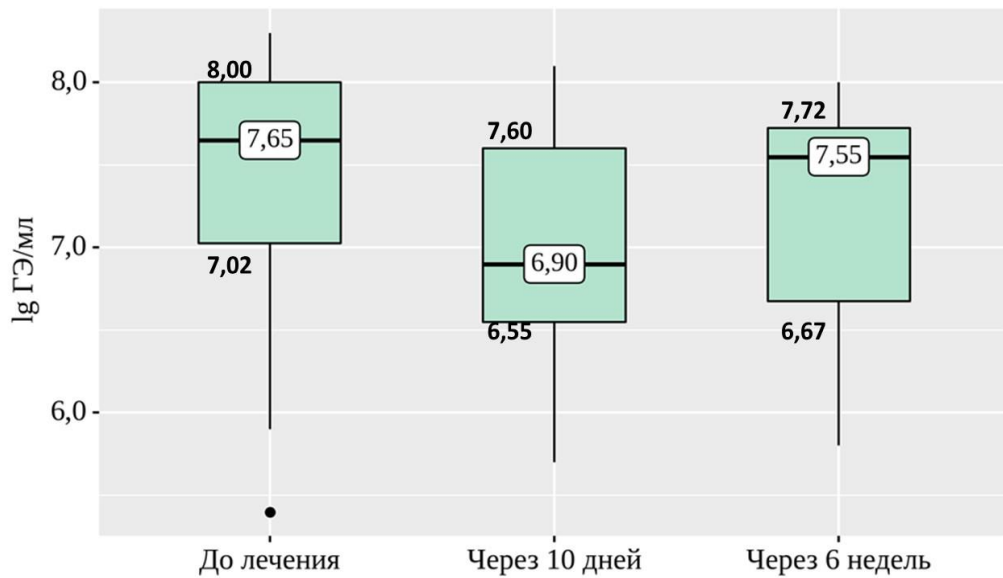


Рисунок 3.23 – Изменение ОБМ после лечения в группе 2 (УЗСВ)

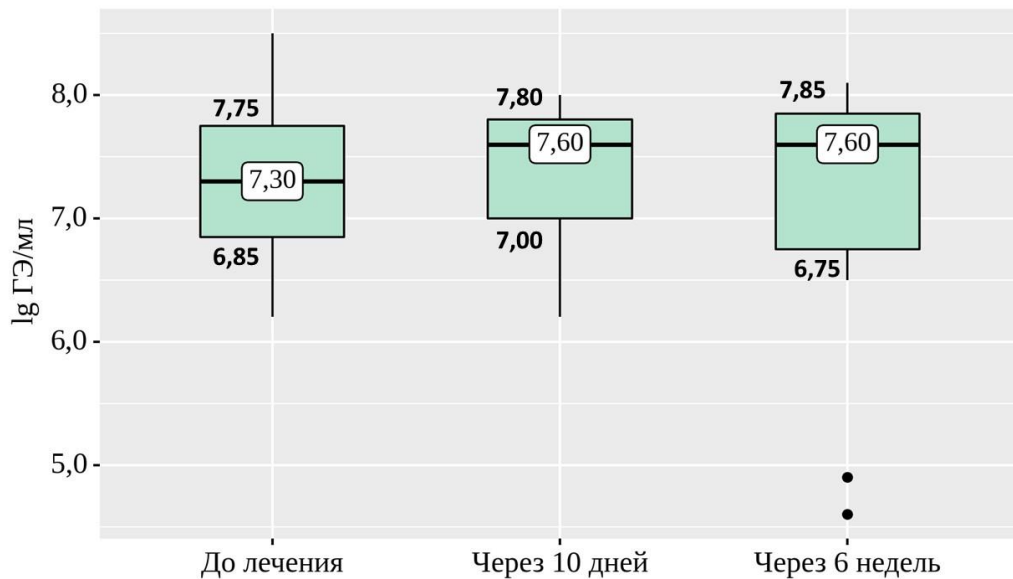


Рисунок 3.24 – Изменение ОБМ после лечения в группе 3 (Кюреты+УЗСВ)

Также было проведено сравнение показателей ОБМ между группами исследования на исходном уровне, через 10 дней и 6 недель после проведенного лечения (таблица 3.5). Значение ОБМ в группах исследования на различных сроках наблюдения после лечения в таблице. При сравнении значений общей бактериальной массы (ОБМ) на исходном уровне не было выявлено статистически значимых различий между группами ($p=0,80$). Через 10 дней после лечения, наименьший показатель

ОБМ отмечался в группе 2 (УЗСВ), а наибольший в группе 3(Кюреты+УЗСВ), но статистически значимых различий между группами на этом сроке не было установлено ($p=0,11$). Через 6 недель различия в ОБМ между группами были минимальными и также не демонстрировали статистически значимых различий. ($p=0,89$).

Таблица 3.5 – Показатель общей бактериальной массы в группах исследования в зависимости от сроков наблюдения (lg ГЭ/мл, Me(Q1-Q3))

Срок наблюдения	Группа 1 (Кюреты)	Группа 2 (УЗСВ)	Группа 3 (Кюреты+УЗСВ)	Н	р
До лечения	7,40 (6,80-7,90)	7,65 (7,02- 8,00)	7,30 (6,85-7,75)	0,45	0,79
Через 10 дней	7,20 (6,10-7,60)	6,90 (6,55-7,60)	7,60 (7,00-7,80)	4,38	0,22
Через 6 недель	7,5 (6,90-7,70)	7,55 (6,67-7,72)	7,60 (6,75-7,85)	0,23	0,89

3.2.2.3 Сравнительная оценка изменения количества пародонтопатогенных микроорганизмов

Было проведено сравнение изменения абсолютного количества микроорганизмов (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola* и *Candida albicans*) в зависимости от метода удаления поддесневой микробной биопленки на исходном уровне, через 10 дней и через 6 недель после исследования внутри каждой группы исследования, а также межгрупповые сравнения.

При сравнении изменения количества изучаемых микроорганизмов внутри каждой группы были получены следующие результаты.

В группе 1 (Кюреты) до лечения количество *A. actinomycetemcomitans* составило 0,0 (0,00 – 1,30) lg ГЭ/мл, количество *P. gingivalis* – 4,5 (0,00-6,70) lg ГЭ/мл, количество *P. intermedia* -2,7 (0,30-4,70) lg ГЭ/мл, количество *T. forsythia* - 6,2 (4,80-6,80) lg ГЭ/мл, количество *T. denticola* – 4,1 (0,00-4,90) lg ГЭ/мл, количество *Candida albicans* – 0,0 (0,00-0,00) lg ГЭ/мл. Таким образом наибольшие показатели абсолютного количества отмечалось у *T. forsythia*, далее следовали *T. denticola*, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, а количество *A. actinomycetemcomitans* и

Candida albicans было значительно ниже остальных обнаруживаемых микроорганизмов.

Среднее количество *A. actinomycetemcomitans* через 10 дней и через 6 недель после лечения не претерпевало изменений и составило 0,0 (0,00 -2,30) lg ГЭ/мл и 0,0 (0,00-1,40) lg ГЭ/мл, соответственно (рисунок 3.25). Статистически значимых различий по сравнению с исходным уровнем обнаружено не было ($p=0,587$).

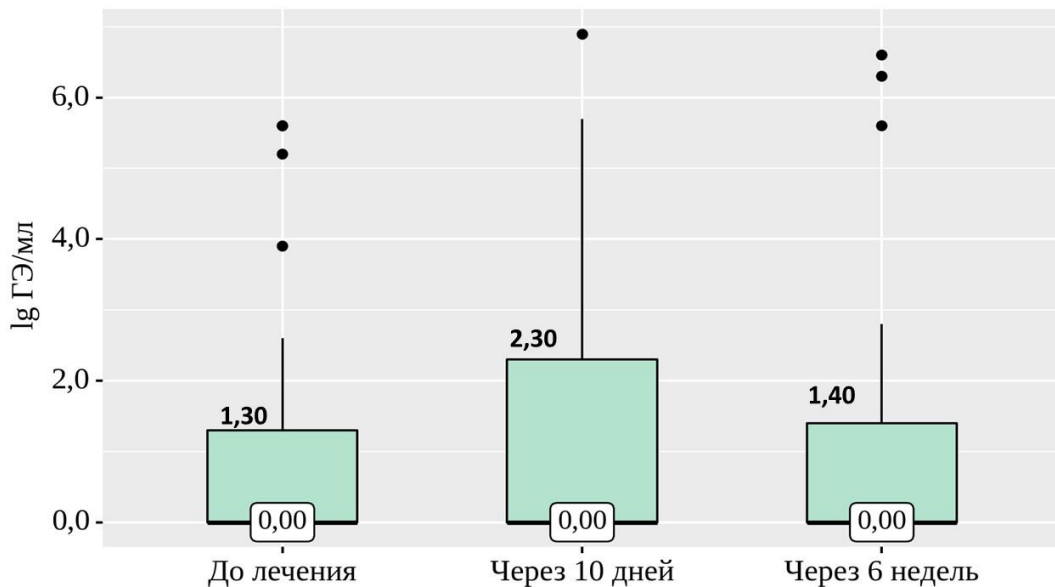


Рисунок 3.25 – Динамика *A. actinomycetemcomitans* в группе 1 (Кюреты) в зависимости от сроков наблюдения

Абсолютное количество *P. gingivalis* через 10 дней после лечения статистически значимо снижалось с 4,50 (0,00-6,70) lg ГЭ/мл до 2,10 (0,00- 4,10) lg ГЭ/мл или в $10^{2,4}$ (251) раз ($p=0,015$). Через 6 недель после лечения количество *P. gingivalis* увеличивалось до 2,50 (1,80-4,70) lg ГЭ/мл или в $10^{0,4}$ (2,5) раз по сравнению с количеством через 10 дней после лечения ($p=0,154$), однако количество *P. gingivalis* через 6 недель после лечения оставалось ниже исходных значений в 10^2 (100) раз ($p=0,095$). Данные изменения не имели статистически значимых различий, о чем свидетельствует значение $p > 0,05$ (рисунок 3.26).

После лечения также отмечалось снижение количества *P. intermedia* с 2,70 (0,30-4,70) lg ГЭ/мл до 1,20 (0,00 – 3,40) lg ГЭ/мл или в $10^{1,5}$ (32) раз через 10 дней. Через 6 недель количество *P. intermedia* снижалось до 1,00 (0,00 – 4,70) lg ГЭ/мл

или в $10^{1,7}$ (50) раз по сравнению с исходным значением (рисунок 3.27). Изменения в количестве *P. intermedia* на различных сроках наблюдения не демонстрировали статистически значимых различий по сравнению с количеством *P. intermedia* до лечения ($p=0,233$).

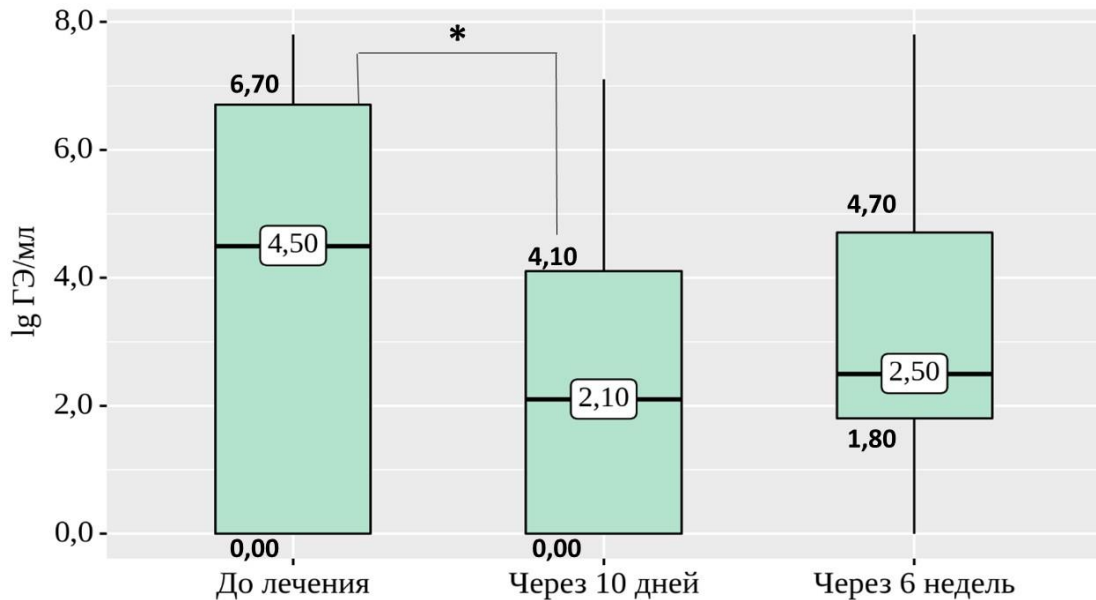


Рисунок 3.26 – Динамика *P. gingivalis* в группе 1 (Кюреты) в зависимости от сроков наблюдения. *- обнаружены статистически значимые изменения ($p<0,05$)

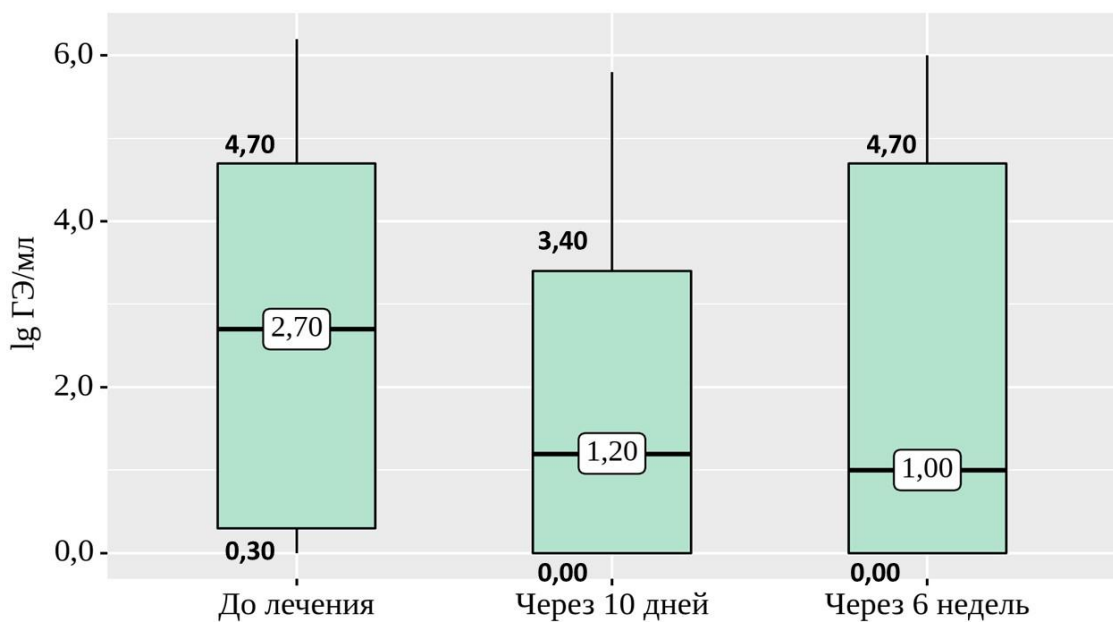


Рисунок 3.27 – Динамика *P. intermedia* в группе 1 (Кюреты) в зависимости от сроков наблюдения

В группе 1 (Кюреты) количество *T. forsythia* статистически значимо снижалось с 6,20 (4,80 – 6,80) lg ГЭ/мл до 3,60 (1,60 – 5,60) lg ГЭ/мл, т.е. в $10^{2,6}$ (398) раз от исходного уровня через 10 дней ($p=0,003$). Через 6 недель отмечалось незначительное не имеющее статистической значимости увеличение количества *T. forsythia* по сравнению со значением через 10 дней до 4,00 (2,40 – 6,10) lg ГЭ/мл или в $10^{0,4}$ (2,5) раза ($p=0,095$), но даже через 6 недель это количество *T. forsythia* оставалось в $10^{2,2}$ (158,5) раз ниже значения до лечения ($p=0,033$) (рисунок 3.28).

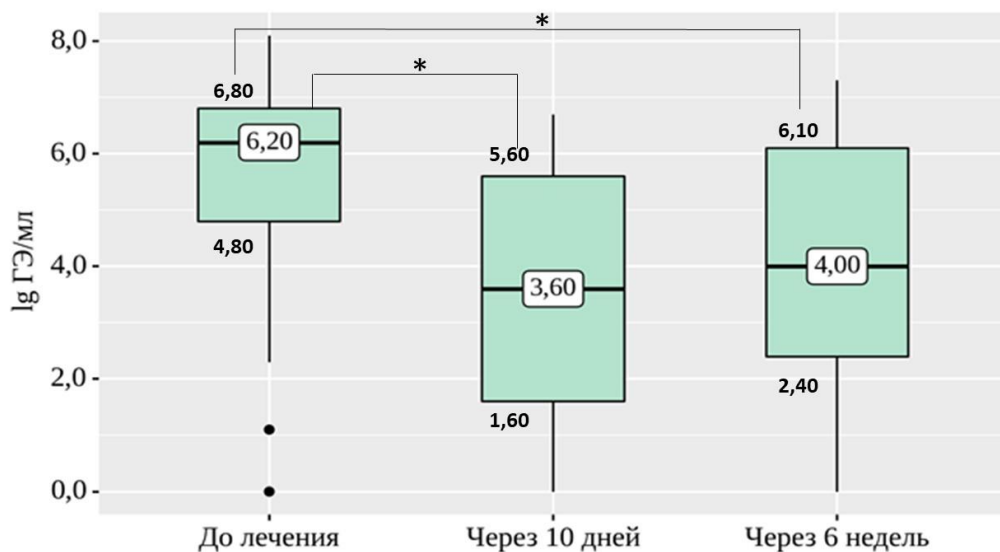


Рисунок 3.28 – Динамика *T. forsythia* в группе 1 (Кюреты) в зависимости от сроков наблюдения. *- обнаружены статистически значимые изменения ($p<0,05$)

Количество *T. denticola* в группе 1 (Кюреты) (рисунок 3.29) статистически значимо снизилось через 10 дней с 4,10 (0,00 – 4,90) lg ГЭ/мл до 1,60 (0,00- 4,20) lg ГЭ/мл или в $10^{2,5}$ (316) раз ($p=0,01$). Через 6 недель количество *T. denticola* несколько увеличилось по сравнению с значением в 10 дней и составило 2,10 (0,00 – 4,70) lg ГЭ/мл, т.е. в $10^{0,5}$ (3) раз ($p=0,116$). Количество *T. denticola* оставалось ниже исходного значения в 10^2 (100) раз через 6 недель после удаления поддесневых зубных отложений с помощью зоноспецифических кюрет, но статистически значимых различий это значение не имело ($p=0,279$).

Количество *Candida albicans* статистически значимо не изменялось через 10 дней и через 6 недель после лечения с использованием зоноспецифических кюрет и составляло 0,0 (0,00-0,00) Ig ГЭ/мл на всех сроках наблюдения (рисунок 3.30). Такое низкое значение медианы и перцентилей можно объяснить, низкой частотой обнаружения *Candida albicans* по сравнению с другими изучаемыми пародонтопатогенами.

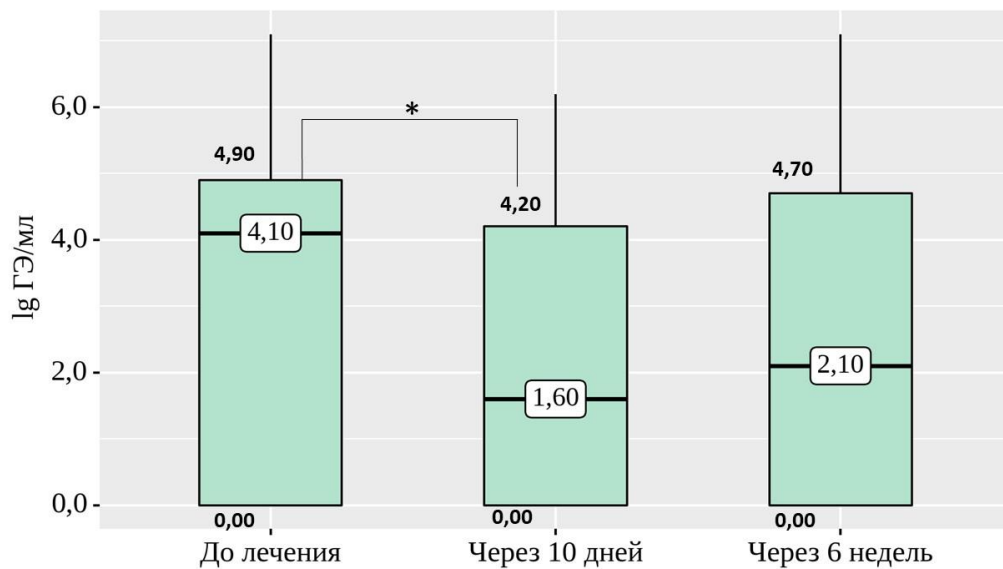


Рисунок 3.29 – Динамика *T. denticola* в группе 1 (Кюреты) в зависимости от сроков наблюдения. *- обнаружены статистически значимые изменения ($p < 0,05$)

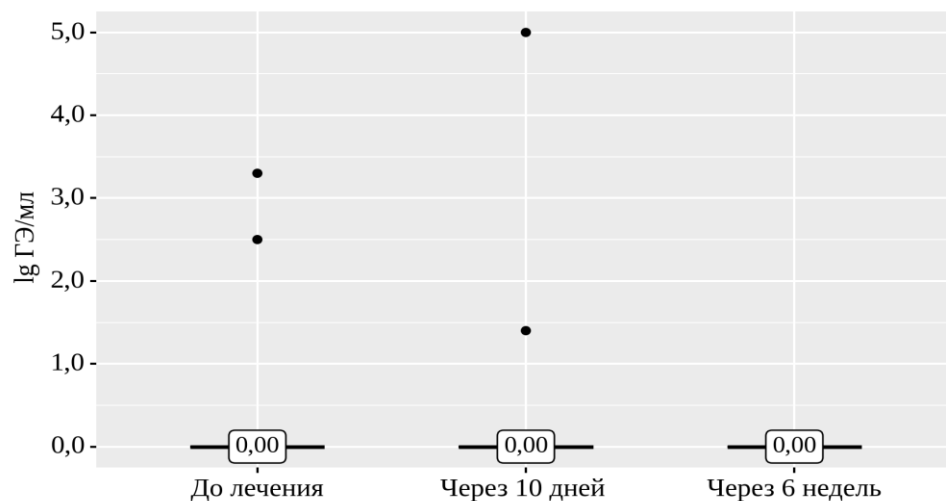


Рисунок 3.30 – Динамика *Candida albicans* в группе 1 (Кюреты) в зависимости от сроков наблюдения

В группе 2 (УЗСВ) отмечались следующие изменения абсолютного количества пародонтопатогенных микроорганизмов. До лечения количество *A. actinomycetemcomitans* составило 0,00 (0,00 – 0,75) lg ГЭ/мл, количество *P. gingivalis* – 4,20 (1,40-7,40) lg ГЭ/мл, количество *P. intermedia* составляло 1,60 (0,00 – 3,60) lg ГЭ/мл, количество *T. forsythia* 5,70 (4,25 – 6,82) lg ГЭ/мл, количество *T. denticola* 4,10 (2,53-6,10) lg ГЭ/мл, количество *Candida albicans* 0,00 (0,00-0,00) lg ГЭ/мл.

Количество *A. actinomycetemcomitans* после проведенного лечения статистически значимо не изменялось и составляло через 10 дней после лечения 0,00 (0,00 – 0,70) lg ГЭ/мл, а через 6 недель 0,00 (0,00-0,00) lg ГЭ/мл ($p=0,419$) (рисунок 3.31).

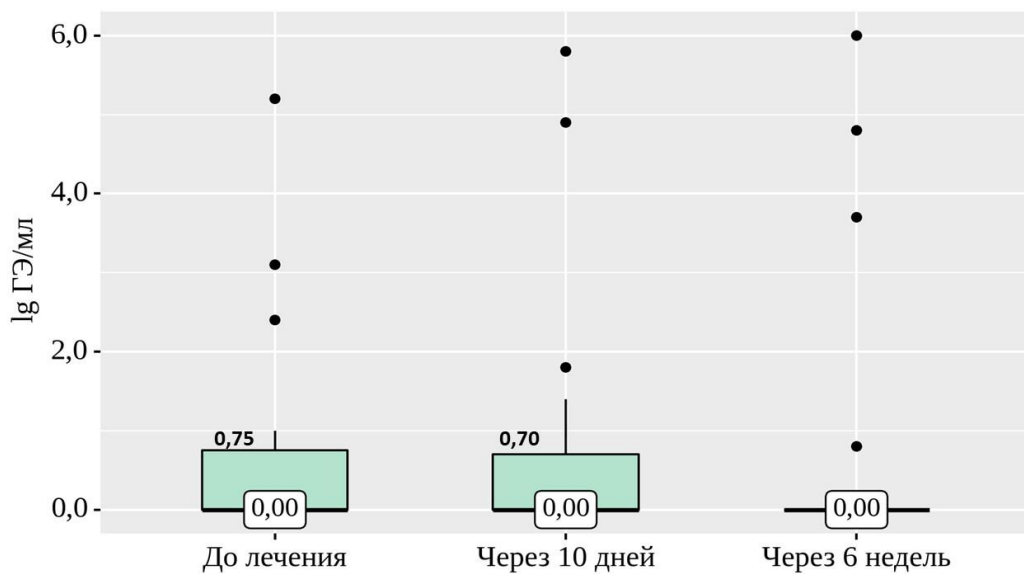


Рисунок 3.31 – Динамика *A. actinomycetemcomitans* в группе 2 (УЗСВ) в зависимости от сроков наблюдения

При оценке изменения количества *P. gingivalis* было установлено, что через 10 дней после лечения оно статистически незначимо уменьшалось с 4,20 (1,40 – 7,40) lg ГЭ/мл до 3,25 (0,83- 5,85) lg ГЭ/мл или в $10^{0,95}$ (8,9) раз ($p=0,093$). Через 6 недель количество *P. gingivalis* увеличилось до 3,35 (1,68- 6,72) lg ГЭ/мл или в $10^{0,1}$ (1,3) раз по сравнению с определяемым количеством через 10 дней после

лечения, статистически значимой разницы это повышение не имело ($p=0,326$). Следует отметить, что количество *P. gingivalis* через 6 недель после поддесневой обработки поверхности корня было ниже исходного количества в $10^{0,85}$ (7,1) раз, но статистически значимой разницы эти количества не имели ($p=0,213$) (рисунок 3.32).

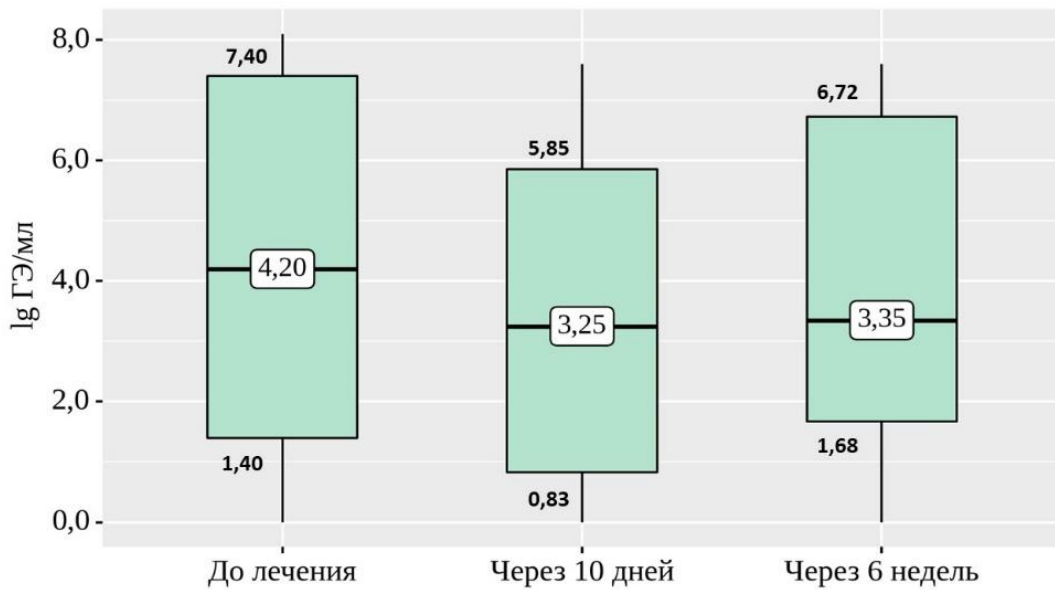


Рисунок 3.32 – Динамика *P. gingivalis* в группе 2 (УЗСВ) в зависимости от сроков наблюдения

Количество *P. intermedia* после лечения с использованием аппарата Вектор в целом статистически значимо не изменялось ($p=0,721$), однако через 10 дней после лечения отмечалось снижение количества *P. intermedia* с 1,55 (0,00 – 3,60) lg ГЭ/мл до 1,30 (0,00- 3,73) lg ГЭ/мл или в $10^{0,25}$ (1,8) раз ($p=0,928$). Через 6 недель после лечения количество *P. intermedia* составило 1,40(0,00- 4,12) lg ГЭ/мл, что было несколько ниже исходного значения в $10^{0,15}$ (1,4) раза ($p=0,527$) и в 1,3 раза выше по сравнению с количеством через 10 дней после лечения ($p=0,47$) (рисунок 3.33).

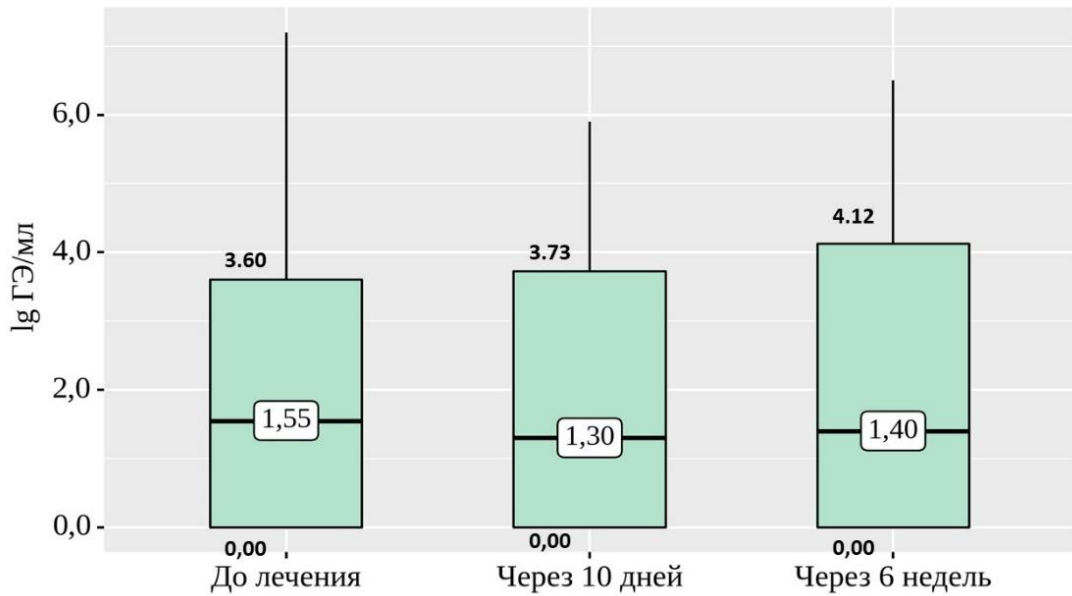


Рисунок 3.33 – Динамика *P. intermedia* в группе 2 (УЗСВ) в зависимости от сроков наблюдения

В группе 2 (УЗСВ) количество *T. forsythia* статистически значительно снижалось с 5,65 (4,25 – 6,83) lg ГЭ/мл до 4,05 (2,05– 6,15) lg ГЭ/мл, т.е. в $10^{1,65}$ (44,7) раз от исходного уровня через 10 дней ($p=0,044$). Через 6 недель отмечалось незначительное изменение количества *T. forsythia* по сравнению со значением через 10 дней, составившее 4,10 (2,73 – 6,62) lg ГЭ/мл ($p=0,417$). Через 6 недель количество *T. forsythia* оставалось в $10^{1,55}$ (35,5) раз ниже значения до лечения ($p=0,103$) (рисунок 3.34).

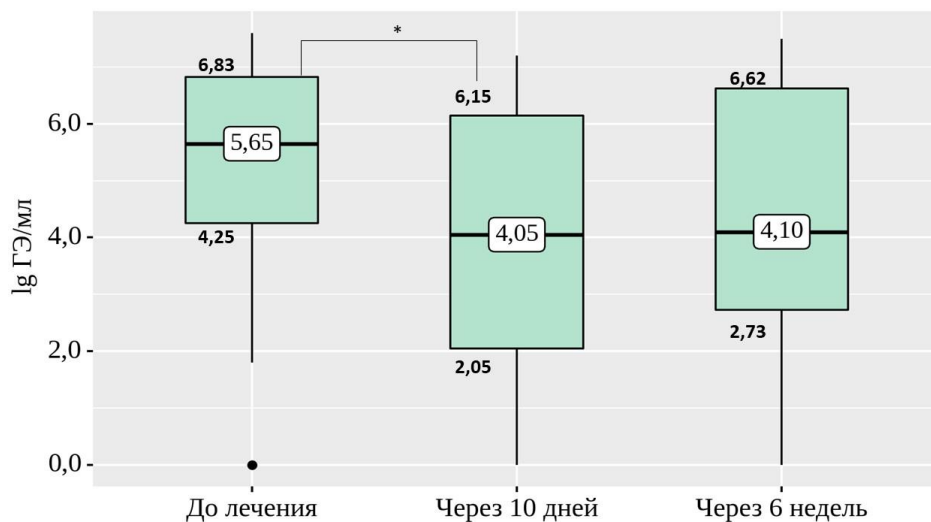


Рисунок 3.34 – Динамика *T. forsythia* в группе 2 (УЗСВ) в зависимости от сроков наблюдения. *- обнаружены статистически значимые изменения ($p<0,05$)

Количество *T. denticola* через 10 дней после удаления микробной биопленки с поверхности корня зуба с помощью аппарата Вектор статистически значимо снижалось с 4,10 (2,52-6,10) lg ГЭ/мл до 1,90 (1,40-3,17) lg ГЭ/мл или в $10^{2,2}$ (158,5) раз ($p=0,019$). Через 6 недель после лечения отмечалось увеличение количества *T. denticola* до 2,80 (1,40 – 4,45) lg ГЭ/мл или в $10^{0,6}$ (4) раз по сравнению с количеством через 10 дней после лечения, но статистической значимости это увеличение ее имело ($p=0,145$). По сравнению с количеством *T. denticola* до лечения количество *T. denticola* через 6 недель после лечения оставалось сниженным в $10^{1,3}$ (20,0) раз, но статистической значимости в этом различии обнаружено не было ($p=0,342$) (рисунок 3.35).

Количество *Candida albicans* в группе 2 (УЗСВ) статистически значимо не изменялось в промежутке наблюдения до лечения-через 10 дней – 6 недель после лечения ($p=0,058$) и составляло 0,0 (0,00- 0,00) lg ГЭ/мл до лечения, 0,0 (0,00-0,00) lg ГЭ/мл через 10 дней после лечения, 0,0 (0,00 – 0,17) lg ГЭ/мл через 6 недель после лечения (рисунок 3.36).

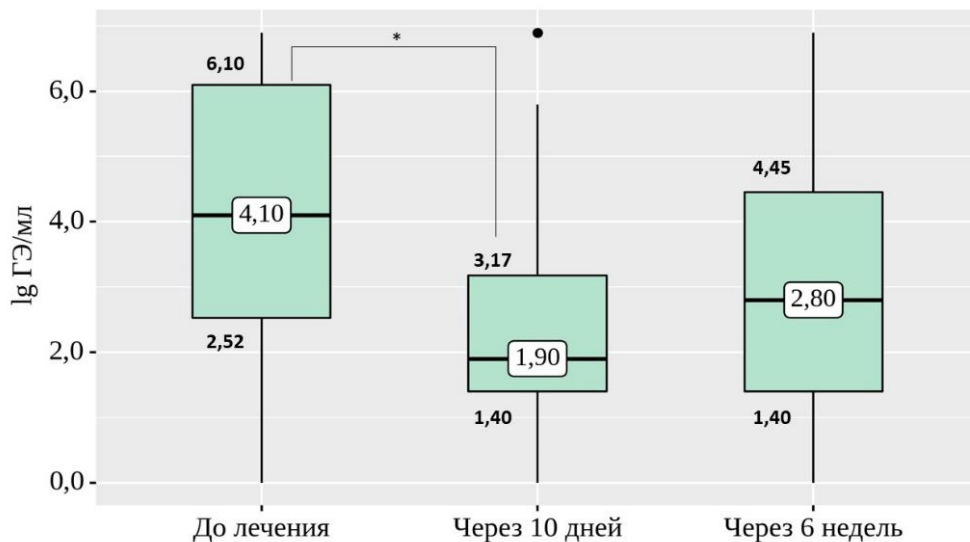


Рисунок 3.35 – Динамика *T. denticola* в группе 2 (УЗСВ) в зависимости от сроков наблюдения. *- обнаружены статистически значимые изменения ($p<0,05$)

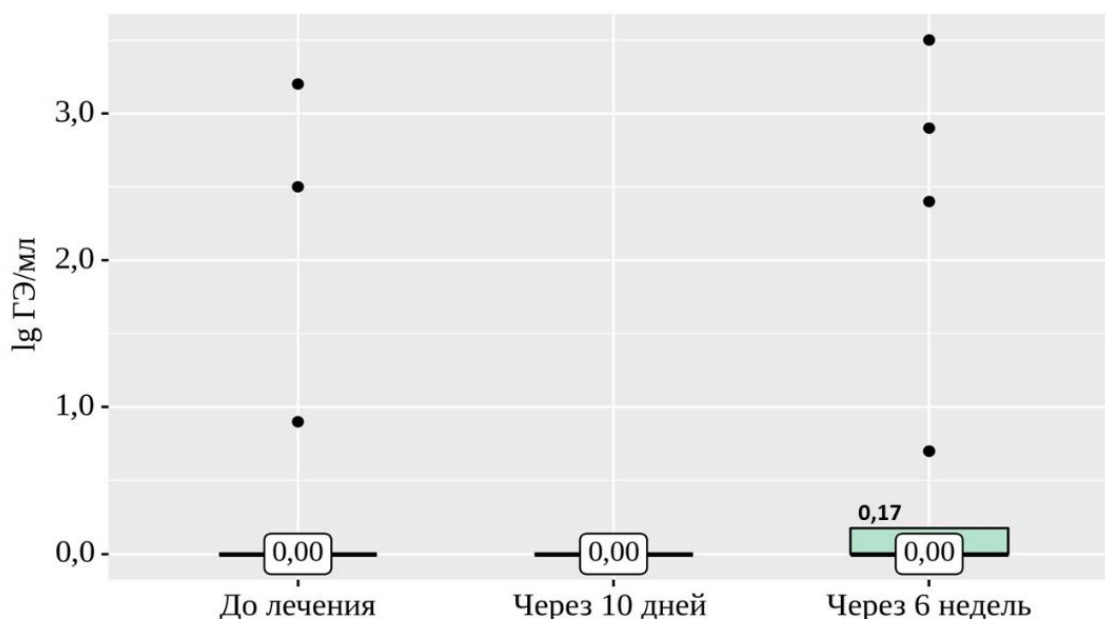


Рисунок 3.36 – Динамика *Candida albicans* в группе 2 (УЗСВ) в зависимости от сроков наблюдения

Низкие показатели медианы и перцентилей количества *Candida albicans* можно объяснить, низкой частотой обнаружения *Candida albicans* в исследуемой группе.

В группе 3 (Кюреты+УЗСВ) отмечались следующие изменения абсолютного количества пародонтопатогенных микроорганизмов. До лечения количество *A. actinomycetemcomitans* составило 0,0 (0,00 – 2,05) lg ГЭ/мл, количество *P. gingivalis* – 5,5 (2,15-6,55) lg ГЭ/мл, количество *P. intermedia* составляло 1,7 (0,00 – 3,05) lg ГЭ/мл, количество *T. forsythia* 6,6 (4,75 – 6,90) lg ГЭ/мл, количество *T. denticola* 3,1 (1,20 -5,00) lg ГЭ/мл, количество *Candida albicans* 0,00 lg ГЭ/мл.

Среднее количество *A. actinomycetemcomitans* через 10 дней и через 6 недель после лечения не претерпевало изменений и составило 0,0 (0,00-1,40) lg ГЭ/мл и 0,0 (0,00-2,90) lg ГЭ/мл, соответственно. Статистически значимых различий по сравнению с исходным уровнем обнаружено не было ($p=0,062$) (рисунок 3.37).

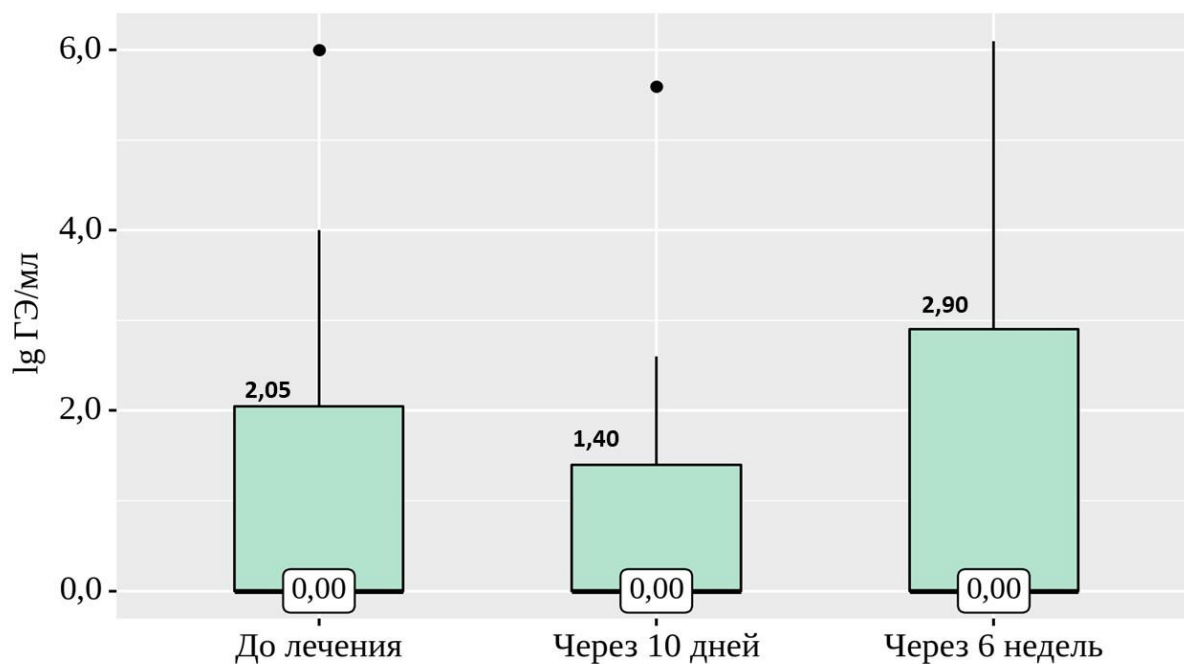


Рисунок 3.37 – Динамика *A. actinomycetemcomitans* в группе 3 (Кюреты+УЗСВ) в зависимости от сроков наблюдения

Абсолютное количество *P. gingivalis* через 10 дней после лечения снижалось с 5,50 (2,15-6,55) lg ГЭ/мл до 3,10 (1,40- 7,10) lg ГЭ/мл или в $10^{2,4}$ (251) раз. Через 6 недель после лечения количество *P. gingivalis* увеличилось по сравнению с количеством через 10 дней после лечения в $10^{0,6}$ (4,0) раз и составило 3,70 (1,40-6,15) lg ГЭ/мл. Через 6 недель после лечения количество *P. gingivalis* оставалось ниже исходных значений в $10^{1,8}$ (63) раз (рисунок 3.38). Статистически значимых изменений в количестве *P. gingivalis* на различных сроках наблюдения установлено не было ($p=0,283$).

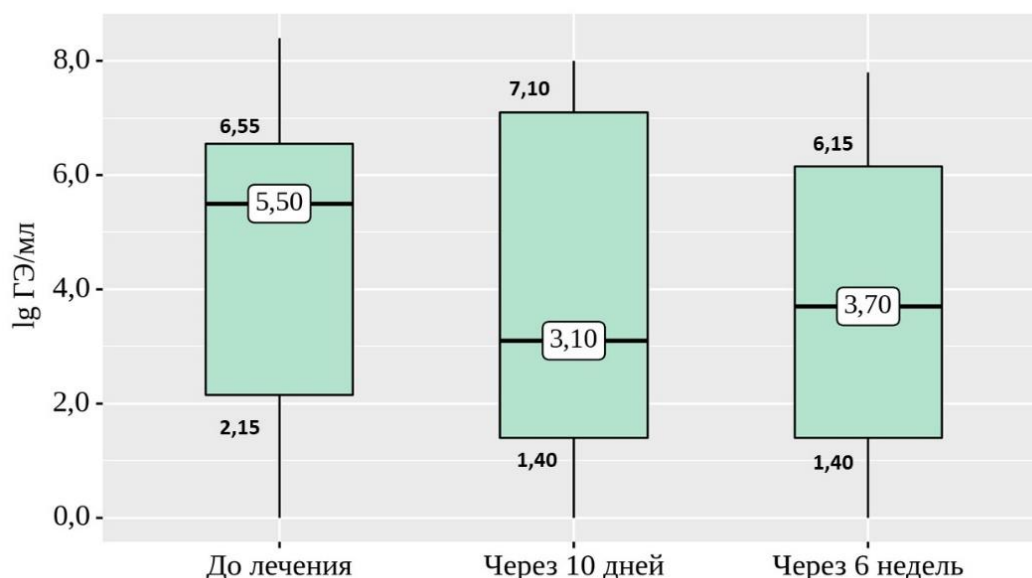


Рисунок 3.38 – Динамика *P. gingivalis* в группе 3 (Кюреты+УЗСВ) в зависимости от сроков наблюдения

После лечения также отмечалось снижение количества *P. intermedia* с 1,70 (0,00 – 3,05) lg ГЭ/мл до 1,1 (0,05 – 2,95) lg ГЭ/мл или в $10^{0,6}$ (4) раз через 10 дней. Через 6 недель количество *P. intermedia* увеличилось в $10^{0,7}$ (5) раз по сравнению с количеством через 10 дней после лечения и составило 1,8 (0,00 – 4,70) lg ГЭ/мл, что свидетельствует о возвращении количества *P. intermedia* к исходным значениям через 6 недель после удаления поддесневой микробной биопленки с поверхности корня зуба комбинированным методом с последовательным использованием зоноспецифических кюрет Грейси и аппарата Вектор (рисунок 3.39). Обнаруженные изменения количества *P. intermedia* не имели статистически значимых различий ($p=0,655$).

В группе 3 (Кюреты+УЗСВ) количество *T. forsythia* статистически значимо снижалось с 6,60 (4,75 – 6,90) lg ГЭ/мл до 5,50 (3,55– 6,70) lg ГЭ/мл, т.е. в $10^{1,1}$ (13) раз от исходного уровня через 10 дней ($p=0,012$). Через 6 недель отмечалось продолжение снижения количества *T. forsythia* по сравнению со значением через 10 дней до 4,10 (2,50 – 6,70) lg ГЭ/мл или в $10^{1,4}$ (25) раз, однако статистически значимой разницы это снижение не демонстрировало ($p=0,353$). Количество *T.*

forsythia через 6 недель после лечения оставалось в $10^{2,5}$ (316) раз статистически значимо ниже количества *T. forsythia* до лечения ($p=0,012$) (рисунок 3.40).

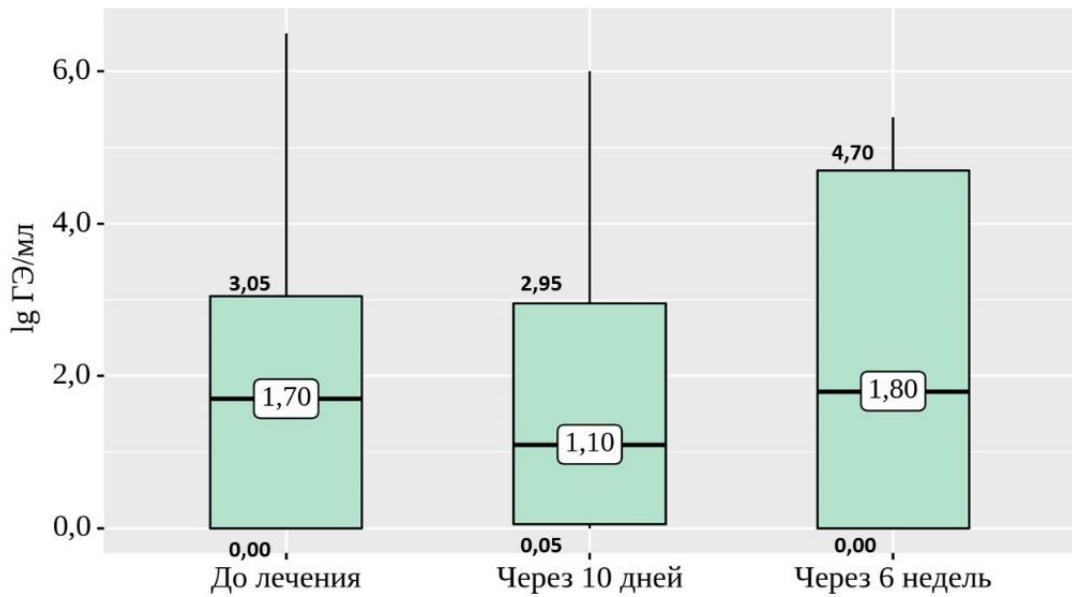


Рисунок 3.39 – Динамика *P. intermedia* в группе 3 (Кюреты+УЗСВ) в зависимости от сроков наблюдения

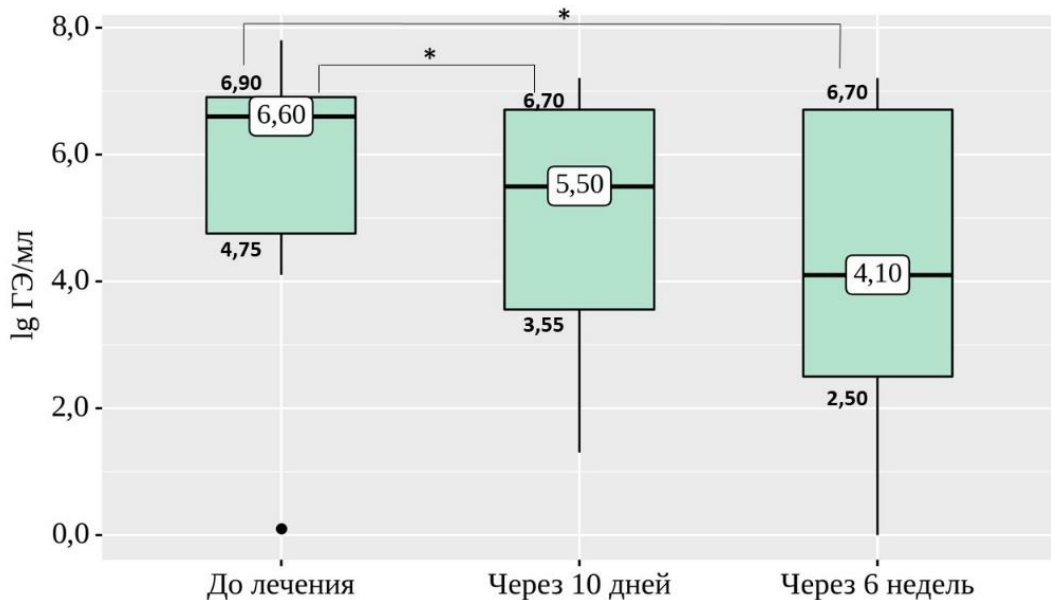


Рисунок 3.40 – Динамика *T. forsythia* в группе 3 (Кюреты+УЗСВ) в зависимости от сроков наблюдения. *- обнаружены статистически значимые изменения ($p<0,05$)

Количество *T. denticola* в группе 3 (Кюреты+УЗСВ) снизилось через 10 дней с 3,10 (1,20-5,00) lg ГЭ/мл до 1,90 (1,00- 4,80) lg ГЭ/мл или в $10^{1,2}$ (16) раз. Через 6 недель количество *T. denticola* увеличилось до 2,90 (0,75 – 4,25) lg ГЭ/мл или в 10 раз по сравнению с количеством в 10 дней, а по сравнению с исходным значением продолжало быть сниженным в $10^{0,2}$ (2) раз (рисунок 3.41). Данные изменения количества *T. denticola* после лечения не обнаруживали статистически значимой разницы ($p= 0,438$).

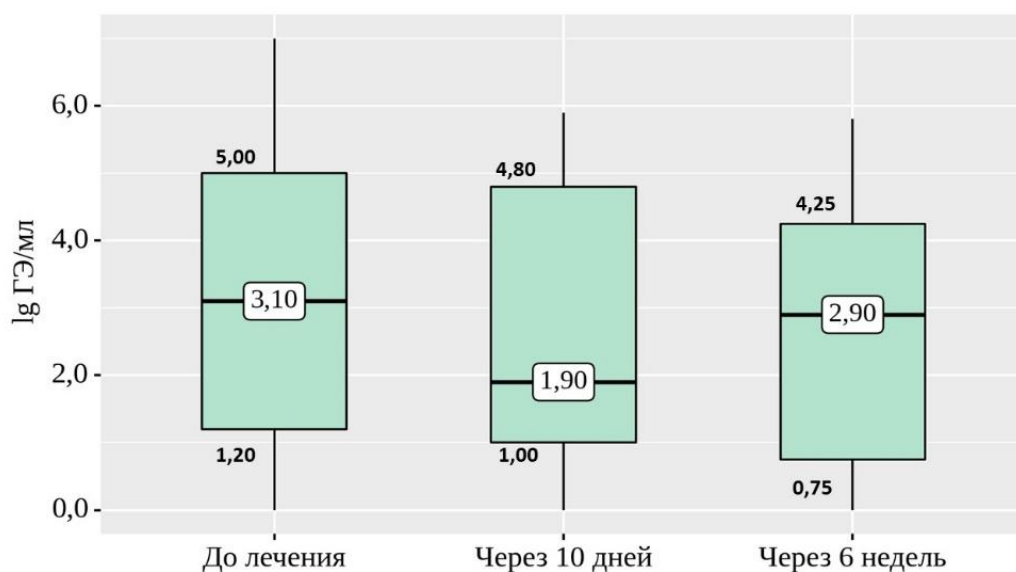


Рисунок 3.41 – Динамика *T. denticola* в группе 3 (Кюреты+УЗСВ) в зависимости от сроков наблюдения

Количество *Candida albicans* статистически значимо не изменялось через 10 дней и через 6 недель после лечения с использованием зоноспецифических кюрет и аппарата Вектор одновременно и составляло 0,0 (0,00-0,00) lg ГЭ/мл на всех сроках наблюдения ($p = 0,607$) (рисунок 3.42). Такое низкое значение медианы и перцентилей также можно объяснить, низкой частотой обнаружения *Candida albicans* по сравнению с другими изучаемыми пародонтопатогенами в исследуемой группе.

Была проведена межгрупповая сравнительная оценка количества исследуемых микроорганизмов *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P.*

intermedia, *T. forsythia*, *T. denticola*, *Candida albicans* на сроках наблюдения через 10 дней и через 6 недель после лечения, заключающегося в удалении поддесневой микробной биопленки и поддесневых зубных отложений различными методами (зонспецифические кюреты, аппарат Вектор, комбинированная методика). Результаты межгрупповых сравнений приведены в таблице 6. Следует отметить, что до лечения не наблюдалось статистически значимых различий между группами в среднем абсолютном количестве каждого перечисленного пародонтопатогенного микроорганизма.

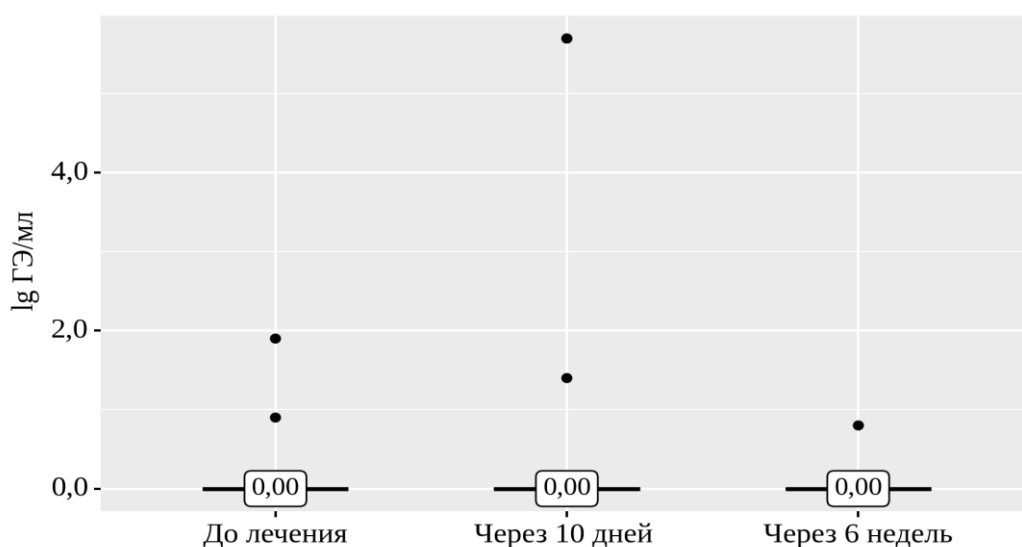


Рисунок 3.42 – Динамика *Candida albicans* в группе 3 (Кюреты+УЗСВ) в зависимости от сроков наблюдения

Не было обнаружено статистически значимых различий в количестве *A. actinomycetemcomitans* в группах исследования зависимости от метода удаления поддесневой микробной биопленки через 10 дней после лечения ($p=0,780$) и через 6 недель после лечения ($p=0,321$). При межгрупповых сравнениях в абсолютном количестве *P. gingivalis* не отмечалось статистической значимости различий в группах исследования через 10 дней ($p=0,189$) и через 6 недель ($p=0,806$) после удаления поддесневой микробной биопленки. Также статистически значимых изменений в уровне *P. intermedia* не отмечалось при межгрупповых сравнениях ее количества через 10 дней ($p=0,870$) и через 6 недель ($p=0,985$) после лечения. Не было обнаружено статистически значимых различий в количестве *T. forsythia* в

группах зависимости от метода на сроках 10 дней после лечения ($p=0,134$) и 6 недель после лечения ($p=0,889$). Количество *T. denticola* при межгрупповых сравнениях после удаления поддесневых зубных отложений не демонстрировало статистически значимых различий ни сроках 10 дней ($p=0,762$) и 6 недель ($p=0,873$) (таблица 3.6).

Таблица 3.6 – Сравнение количества микроорганизмов пародонтального кармана в группах в зависимости от метода удаления поддесневых зубных отложений и сроков наблюдения (lg ГЭ/мл, Ме (Q1-Q3))

Микроорганизм/ Сроки наблюдения	Группа 1(Кюреты)	Группа 2(УЗСВ)	Группа 3 (Кюреты+УЗСВ)	Н	Р
<i>A. actinomycetemcomitans</i>					
До лечения	0,00(0,00 – 1,30)	0,0 (0,00 – 0,75)	0,0 (0,00 – 2,05)	0,45	0,80
Через 10 дней	0,00(0,00 – 2,30)	0,0 (0,00 – 0,70)	0,0 (0,00- 1,40)	0,50	0,78
Через 6 недель	0,00(0,00 -1,40)	0,0 (0,00 - 0,00)	0,0 (0,00- 2,90)	2,27	0,32
<i>P. gingivalis</i>					
До лечения	4,50 (0,00- 6,70)	4,20(1,40 –7,40)	5,50 (2,15-6,55)	0,77	0,68
Через 10 дней	2,10 (0,00- 4,10)	3,25(0,83- 5,85)	3,10 (1,40-7,10)	3,33	0,19
Через 6 недель	2,50 (1,80- 4,70)	3,35(1,67- 6,73)	3,70 (1,40-6,15)	0,43	0,81
<i>P.intermedia</i>					
До лечения	2,70(0,30 – 4,70)	1,55(0,00 –3,60)	1,70 (0,00 – 3,05)	1,10	0,58
Через 10 дней	1,20(0,00 – 3,40)	1,30(0,00- 3,73)	1,10 (0,05 – 2,95)	0,28	0,87
Через 6 недель	1,00(0,00 – 4,70)	1,40(0,00- 4,13)	1,80 (0,00 – 4,70)	0,03	0,99
<i>T. forsythia</i>					
До лечения	6,20(4,80 – 6,80)	5,65(4,25 –6,83)	6,60 (4,75 – 6,90)	0,58	0,75
Через 10 дней	3,60(1,60 – 5,60)	4,05(2,05 –6,15)	5,50 (3,55 – 6,70)	4,02	0,13
Через 6 недель	4,00(2,40 – 6,10)	4,10(2,73 –6,62)	4,10 (2,50 – 6,70)	0,24	0,89
<i>T. denticola</i>					
До лечения	4,10(0,00 – 4,90)	4,10 (2,52-6,10)	3,10 (1,20 - 5,00)	1,19	0,55
Через 10 дней	1,60(0,00- 4,20)	1,90 (1,40-3,17)	1,90 (1,00 - 4,80)	0,54	0,76
Через 6 недель	2,10(0,00 – 4,70)	2,80 (1,40–4,45)	2,90 (0,75 – 4,25)	0,27	0,87
<i>Candida albicans</i>					
До лечения	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,00)	0,51	0,78
Через 10 дней	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,00)	3,42	0,18
Через 6 недель	0,00 (0,00-0,00)	0,0 (0,00 – 0,17)	0,00 (0,00-0,00)	8,62	0,013*
					Группа 2 – Группа 1 = 0,013*

Примечание: * обнаружены статистически значимые различия.

При оценке количества *Candida albicans* было обнаружено, что через 6 недель после удаления поддесневых зубных отложений в группе 2 (УЗСВ) количество *Candida albicans* было статистически значимо большим по сравнению с группой 1 (Кюреты) ($p=0,024$).

3.2.3 Изменение структуры микробного сообщества до и после проведения удаления поддесневой микробной биопленки

При анализе структуры бактериальных сообществ в группах до лечения и на этапах лечения вычисляли долю каждого микроорганизма относительно общей бактериальной массы содержимого пародонтального кармана и выражали ее в процентах (%).

Было обнаружено, что в группе 1 (Кюреты) доля *A. actinomycetemcomitans* составила $0,310 \pm 1,261$ ($-0,189 - 0,800$) % до лечения, через 10 дней не значительно увеличивалась до $0,670 \pm 2,564$ ($-0,339 - 1,672$) % и через 6 недель она составила $0,520 \pm 1,842$ ($-0,201 - 1,243$)%, что было выше исходных значений. Данные изменения не имели статистически значимой разницы ($p = 0,826$). Доля *P. gingivalis* статистически значимо снижалась через 10 дней после лечения с $8,210 \pm 14,035$ ($2,712 - 13,715$) % до $2,280 \pm 6,767$ ($-0,368 - 4,937$) % ($p < 0,001$), а через 6 недель увеличивалась до $4,280 \pm 12,592$ ($-0,657 - 9,214$) %, оставаясь статистически значимо ниже значения доли до лечения ($p=0,04$). Не было обнаружено статистически значимых различий в изменении доли *P. intermedia* после удаления поддесневой микробной биопленки ($p=0,344$), которая составила до лечения $0,18 \pm 0,327$ ($0,049 - 0,305$) %, через 10 дней после лечения – $0,170 \pm 0,363$ ($0,030 - 0,315$) %, а через 6 недель – $0,260 \pm 0,518$ ($0,058 - 0,464$) %. Доля *T. forsythia* существенно снижалась с $14,120 \pm 19,520$ ($6,468 - 21,771$) % до лечения до $2,330 \pm 4,314$ ($0,640 - 4,022$) % через 10 дней после лечения ($p < 0,001$) и до $2,320 \pm 4,180$ ($0,682 - 3,959$) % через 6 недель после лечения, демонстрируя статистически значимые различия. Доля *T. denticola* также обнаруживала снижение на всех сроках наблюдения и составляла до лечения $1,040 \pm 2,210$ ($0,174 - 1,900$) %, через 10 дней после лечения – $0,100 \pm 0,216$ ($0,019 -$

0,188) %, а через 6 недель после лечения – $0,500 \pm 1,599$ (-0,128-1,126) %. Однако, статистически значимым было только его снижение на сроке наблюдения до лечения – через 10 дней ($p=0,006$). Что касается доли *Candida albicans*, то ее значения были ниже остальных микроорганизмов и составили до лечения $0,00008 \pm 0,00032$ (-0,00005 – 0,00021) %, через 10 дней после лечения – $0,020 \pm 0,100$ (-0,019- 0,060) %, через 6 недель после лечения не обнаруживалась. Статистически значимых различий эти изменения не обнаруживали ($p=0,273$). Графическое представление изменений в структуре поддесневого микробного сообщества представлено на рисунке 3.43.

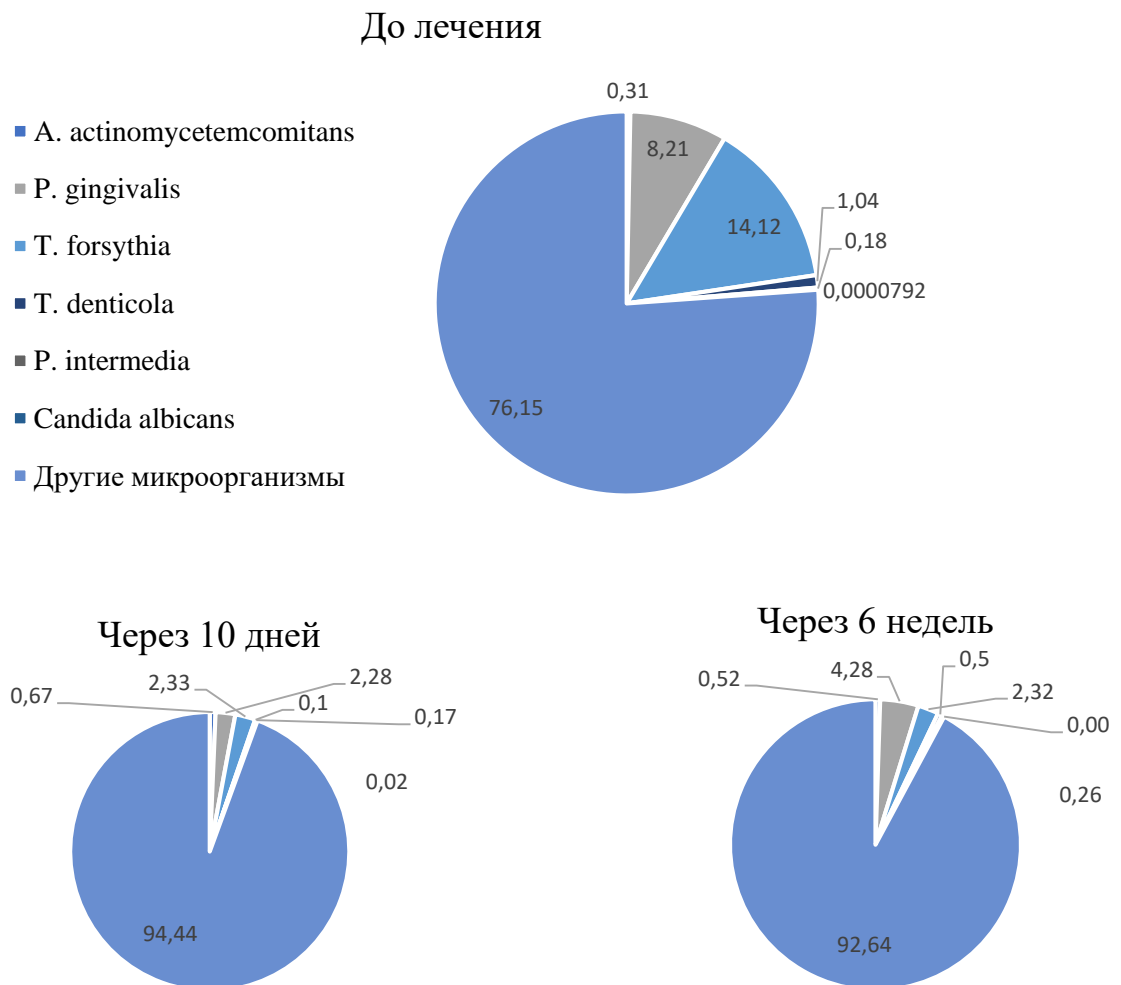


Рисунок 3.43 – Изменение структуры бактериального сообщества после лечения в группе 1 (Кюреты)

В группе 2 (УЗСВ) изменения долей микроорганизмов после проведения лечения хронического генерализованного пародонтита были следующими. Доля *A. actinomycetemcomitans* демонстрировала незначительное не имеющее статистической значимости увеличение с $0,040 \pm 0,123$ (-0,016 0,092)% до $0,220 \pm 0,747$ (-0,106 – 0,549) % через 10 дней после лечения, а затем некоторое снижение до $0,110 \pm 0,350$ (-0,040-,267) % ($p=0,25$). Отмечалась тенденция к снижению доли *P. gingivalis* после удаления поддесневой микробной биопленки с $15,260 \pm 22,501$ ($5,399 \pm 25,12$) % на исходном уровне до $8,480 \pm 17,171$ (0,958-16,008 % через 10 дней и до $9,320 \pm 16,203$ (2,222-16,424) % через 6 недель после лечения, но статистической значимости это снижение не имело ($p=0,502$). Доля *P. intermedia* также статистически значимо не изменялась ($p=0,692$) и составляла до лечения $0,490 \pm 1,777$ (-0,287-1,271) %, через 10 дней после лечения $-0,170 \pm 0,469$ (-0,037-0,374) % и через 6 недель после лечения $0,330 \pm 0,941$ (-0,080-0,745) %. Доля *T. forsythia* также не демонстрировала статистически значимой разницы ($p=0,358$) в динамике значение до лечения, которое составляло $5,810 \pm 6,952$ (2,767-8,861) %, через 10 дней, составляющее $5,130 \pm 8,630$ (1,343-8,907) %, и через 6 недель $6,080 \pm 11,355$ (1,106-11,059) %. Доля *T. denticola* обнаруживала статистически незначимое незначительно снижение ($p=0,258$) и составляла до лечения $1,440 \pm 2,780$ (0,220- 2,660) %, через 10 дней после лечения $-0,590 \pm 2,234$ (-0,393-1,566) %, через 6 недель после лечения $0,670 \pm 2,242$ (-0,310-1,655) %. Интересные данные были получены относительно изменения доли *Candida albicans*, которая демонстрировала статистически значимое увеличение доли на сроке наблюдения 10 дней после лечения – 6 недель после лечения ($p=0,006$) до $0,00053$ (0,00026-0,00100)% . Графическое представление изменений в структуре поддесневого микробного сообщества представлено на рисунке 3.44.

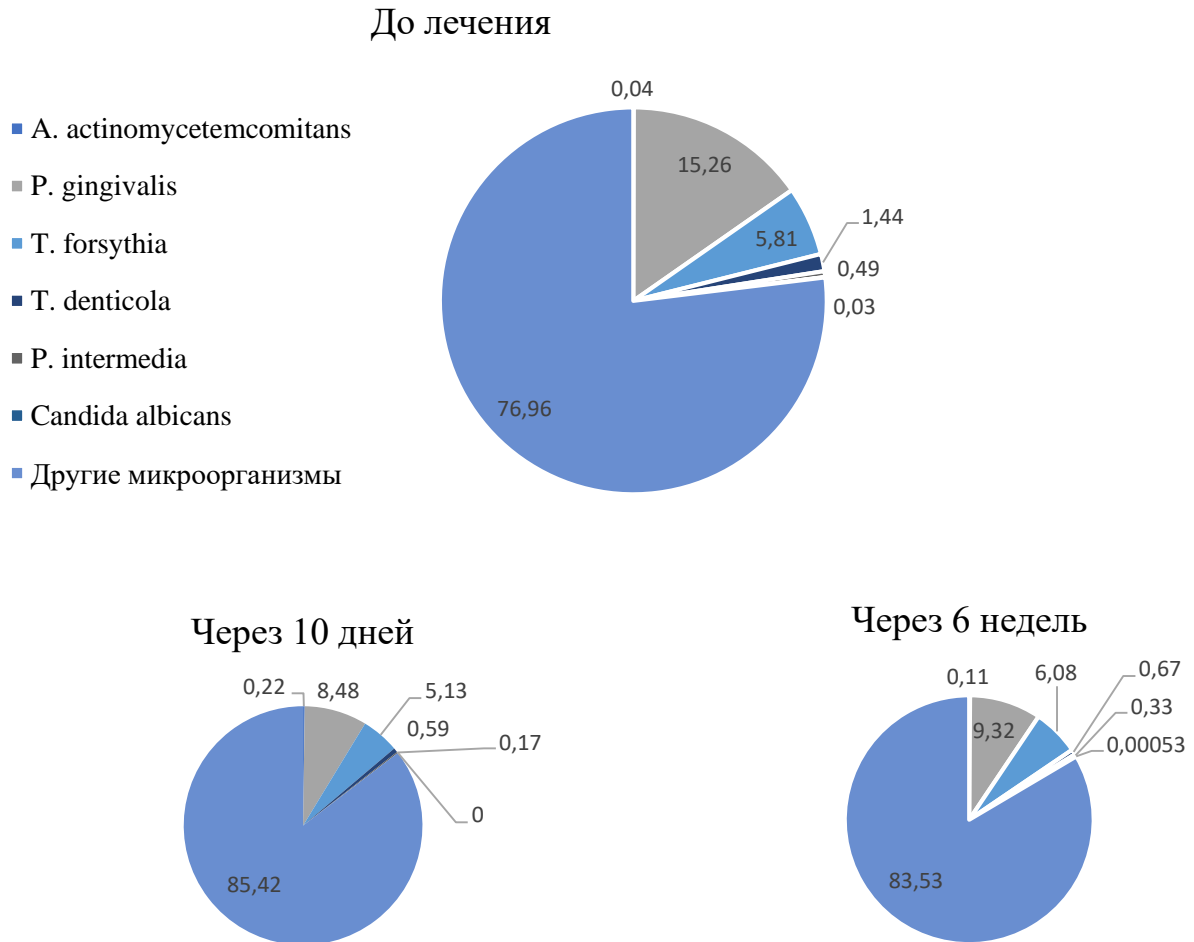
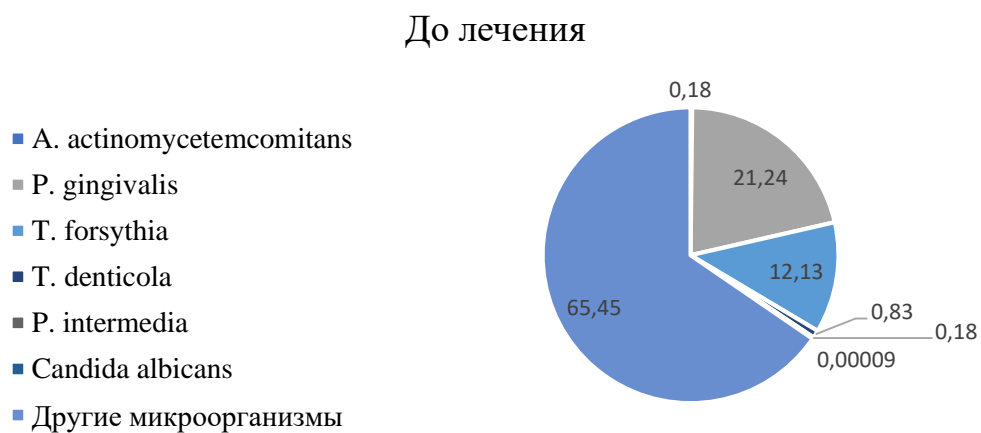


Рисунок 3.44 – Изменение структуры бактериального сообщества после лечения в группе 2 (УЗСВ)

В группе 3 (Кюреты+УЗСВ) было обнаружено, что доля *A. actinomycetemcomitans* составила до лечения $0,180 \pm 0,723$ ($-0,148 - 0,503$) %, через 10 дней увеличивалась до $0,530 \pm 2,294$ ($-0,505 - 1,558$) % и через 6 недель она составила $0,480 \pm 1,141$ ($-0,032 - 0,995$) %, что было выше исходных значений. Однако данные изменения не имели статистически значимой разницы ($p = 0,303$). Доля *P. gingivalis* статистически незначимо снижалась ($p=0,28$) через 10 дней после лечения с $21,240 \pm 37,11$ ($4,553 - 37,928$) % до $16,460 \pm 37,226$ ($-0,282 - 33,196$) %, а через 6 недель продолжала снижаться и составляла $9,670 \pm 18,654$ ($1,279 - 18,055$) %. Не было обнаружено статистически значимых различий в изменении доли *P. intermedia* после удаления поддесневой микробной биопленки ($p=0,859$), которая составила до лечения $0,180 \pm 0,498$ ($-0,049 - 0,399$) %, через 10 дней после лечения – $0,210 \pm 0,604$ (-

0,058-0,485) %, а через 6 недель $-0,130 \pm 0,195$ (0,045-0,220) %. Доля *T. forsythia* существенно снижалась с $12,130 \pm 11,715$ (6,863-17,398) % до лечения до $5,340 \pm 6,539$ (2,404-8,285) % через 10 дней после лечения ($p=0,005$) и до $6,490 \pm 9,156$ (2,371-10,605) % через 6 недель после лечения ($p=0,01$), демонстрируя статистически значимые различия. Доля *T. denticola* незначительно снижалась по сравнению с исходным значением с $0,830 \pm 1,680$ (0,073 – 1,590) % до $0,390 \pm 0,937$ (-0,031 – 0,811) % через 10 дней после лечения и до $0,380 \pm 0,724$ (0,053-0,705) % через 6 недель после лечения. Однако, статистически значимых различий в этих изменениях обнаружено не было ($p=0,374$). Что касается доли *Candida albicans*, то ее значение составило до лечения $0,00009 \pm 0,00036$ (0,00008-0,00025)% и статистически значимо не изменялось после лечения ($p=0,607$), составляя $0,08 \pm 0,249$ (-0,029 – 0,195) % через 10 дней после лечения и $0,000001 \pm 0,000002$ (0,000001±0,000002)% через 6 недель после лечения составляла 0 %. Графическое представление изменений в структуре поддесневового микробного сообщества представлено на рисунке 3.45.

При межгрупповых сравнениях долей каждого исследуемого микроорганизма относительно ОБМ через 10 дней после лечения не отмечалось статистически значимых различий. Результаты сравнительной оценки представлены в таблице 3.7.



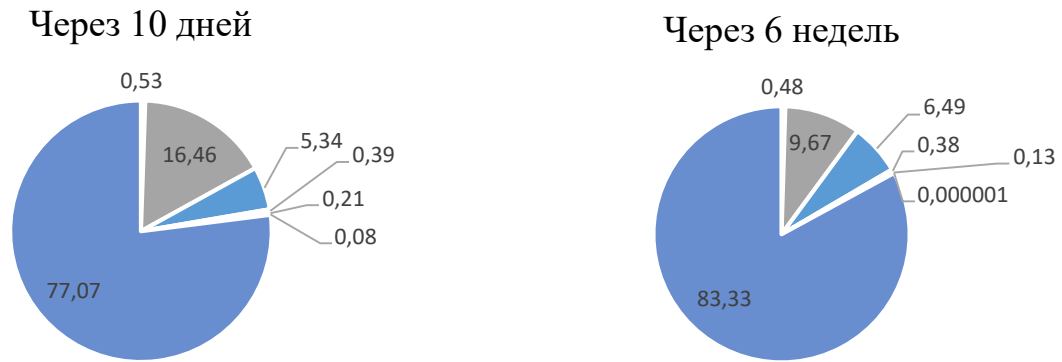


Рисунок 3.45 – Изменение структуры бактериального сообщества после лечения в группе 3 (Кюреты+УЗСВ)

Таблица 3.7 – Доли (%) микроорганизмов в структуре поддесневого микробного сообщества через 10 дней после удаления микробной биопленки в группах сравнения (SD±M (95% ДИ))

Микроорганизм	Группа 1 (Кюреты)	Группа 2 (УЗСВ)	Группа 3 (Кюреты+УЗСВ)	Н	Р
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	0,67±2,564 (-0,339 – 1,672)	0,22±0,747 (-0,106 – 0,549)	0,53±2,294 (-0,505–1,558)	0,320	0,852
<i>P. gingivalis</i>	2,28±6,767 (-0,368 – 4,937)	8,48±17,171 (0,958-16,008)	16,46±37,226 (-0,282 – 33,196)	2,128	0,345
<i>P.intermedia</i>	0,17±0,363 (0,030-0,315)	0,17±0,469 (-0,037-0,374)	0,21±0,604 (-0,058-0,485)	0,091	0,955
<i>T. forsythia</i>	2,33±4,314 (0,640-4,022)	5,13±8,630 (1,343-8,907)	5,34±6,539 (2,404-8,285)	2,478	0,290
<i>T. denticola</i>	0,10±0,216 (0,019- 0,188)	0,59 ±2,234 (-0,393-1,566)	0,39±0,937 (-0,031 – 0,811)	0,4253	0,808
<i>Candida albicans</i>	0,02±0,100 (-0,019- 0,060)	0,00±0,000 (0,000-0,000)	0,08±0,249 (-0,029 – 0,195)	3,383	0,184

Примечание: * обнаружены статистически значимые различия.

При межгрупповых сравнениях долей каждого исследуемого микроорганизма относительно ОБМ через 6 недель после лечения, статистически значимые различия наблюдались только у *Candida albicans*, доля которой в группе 2 (УЗСВ) через 6 недель после лечения составила 0,00053(0,00026-0,00100)% и была статистически значимо больше доли 0,00±0,000 (0,000-0,000) % *Candida*

albicans в группе 1 (УЗСВ) на аналогичном сроке наблюдения ($p=0,024$). Данные межгрупповых сравнений изменения доли, исследуемых микроорганизмов в структуре поддесневого микробного сообщества через 6 недель после удаления микробной биопленки на различных сроках наблюдения представлены в таблице 3.8.

Также нами была проведена оценка изменения суммарной доли пародонтопатогенных бактерий так называемого «красного комплекса» (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) через 10 дней и через 6 недель после удаления поддесневой микробной биопленки. Результаты этой оценки были следующими (таблица 3.8)

Таблица 3.8 – Доли (%) микроорганизмов в структуре поддесневого микробного сообщества через 6 недель после удаления микробной биопленки в группах сравнения ($SD \pm M$ (95% ДИ))

Группа исследования/ Сроки наблюдения	Группа 1 (Кюреты)	Группа 2 (УЗСВ)	Группа 3 (Кюреты+УЗСВ)	Н	р
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	0,52±1,842 (-0,201- 1,243)	0,11±0,350 (-0,040-,267)	0,48±1,141 (-0,032-,995)	2,07	0,36
<i>P. gingivalis</i>	4,28±12,592 (-0,657 -9,214)	9,32±16,203 (2,222-16,424)	9,67±18,654 (1,279-18,055)	1,17	0,56
<i>P.intermedia</i>	0,26±0,518 (0,058-0,464)	0,33±0,941 (-0,080-0,745)	0,13±0,195 (0,045-0,220)	0,14	0,93
<i>T. forsythia</i>	2,32±4,180 (0,682-3,959)	6,08±11,355 (1,106-11,059)	6,49±9,156 (2,371-10,605)	1,15	0,56
<i>T. denticola</i>	0,50±1,599 (-0,128-1,126)	0,67±2,242 (-0,310-1,655)	0,38±0,724 (0,053-0,705)	0,32	0,85
<i>Candida albicans</i>	0,00008±0,00032 (-0,00005 – 0,00021)	0,00053 (0,00026 - 0,00100)	0,000001±0,000002 (0,000001±0,000002)	8,77	0,012* Р группа1 -группа 2 0,024

Примечание: *обнаружены статистически значимые различия.

В группе 1 (Кюреты) доля пародонтопатогенных бактерий «красного комплекса» статистически значимо снижалась с $23,4 \pm 25,30$ (13,47-33,28) % до $4,7 \pm 10,40$ (0,64-8,80) % через 10 дней после лечения ($p < 0,001$), через 6 недель

незначительно повышалась до $7,1 \pm 17,30$ (0,30-13,90) % ($p=0,119$), но все равно оставалась статистически значимо ниже исходного показателя ($p < 0,001$). Динамика изменения доли бактерий «красного комплекса» (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) в структуре поддесневого бактериального сообщества после лечения представлена на рисунке 3.46.

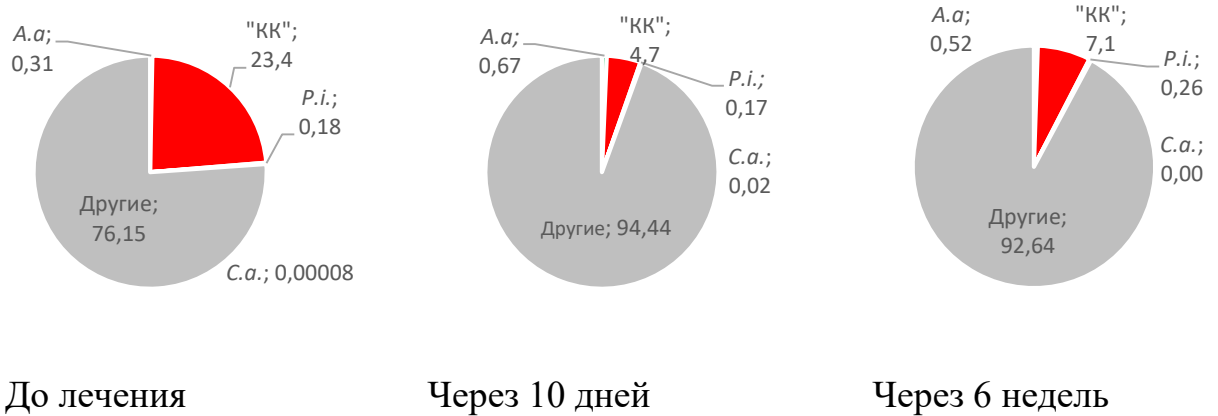


Рисунок 3.46 – Динамика изменения доли бактерий «красного комплекса» (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) в структуре поддесневого бактериального сообщества после лечения в группе 1 (Кюреты). А.а. – *A. actinomycetemcomitans*, «КК» - «красный комплекс», *P.i.* – *P. intermedia*, *C.a.* – *Candida albicans*

В группе 2 (УЗСВ) «красный комплекс» бактерий также демонстрировал снижение доли относительно ОБМ (рисунок 3.47) с $22,5 \pm 25,30$ (11,44-33,59) % до $14,2 \pm 25,2$ (3,13- 25,26) % через 10 дней после лечения и увеличивалась через 6 недель до $16,1 \pm 27,00$ (4,23-27,92) %, оставаясь ниже доли до лечения. Однако эти изменения статистически значимых различий не имели ($p=0,449$).

В группе 3 (Кюреты+УЗСВ) доля микроорганизмов «красного комплекса» (рисунок 3.48) статистически значимо снижалась с $34,2 \pm 40,50$ (15,99-52,41) % до $22,2 \pm 43,00$ (2,85-41,53) % через 10 дней после лечения ($p=0,012$) и продолжала незначительно снижаться через 6 недель по сравнению с предыдущим сроком наблюдения до $16,5 \pm 23,20$ (6,11-26,96) % ($p=1,00$).

Снижение доли микроорганизмов «красного комплекса» через 6 недель после лечения оставалось статистически значимо ниже доли до лечения ($p=0,012$).

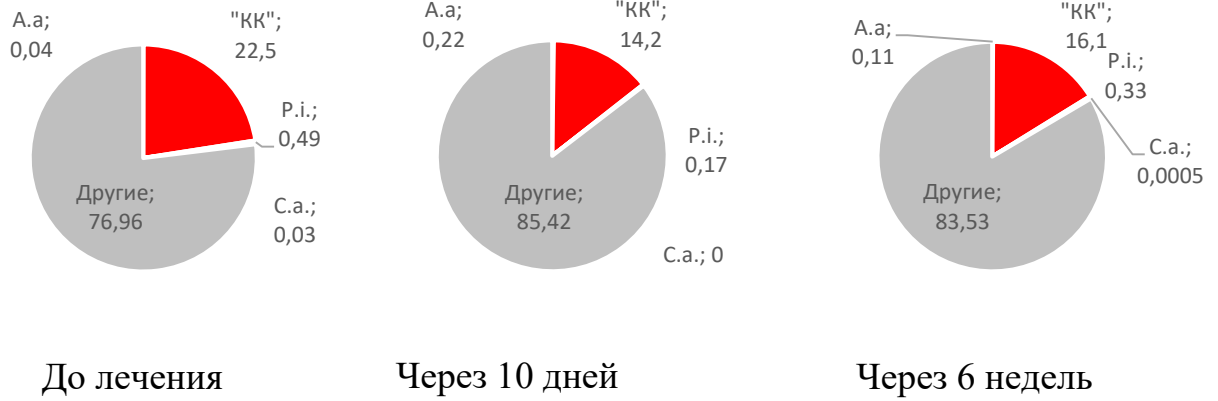


Рисунок 3.47 – Динамика изменения доли бактерий «красного комплекса» (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) в структуре поддесневового бактериального сообщества после лечения в группе 2 (УЗСВ). *A.a.* – *A. actinomycetemcomitans*, «КК» - «красный комплекс», *P.i.* – *P. intermedia*, *C.a.* – *Candida albicans*



Рисунок 3.48 – Динамика изменения доли бактерий «красного комплекса» (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) в структуре поддесневового бактериального сообщества после лечения в группе 3 (Кюреты+УЗСВ). *A.a.* – *A. actinomycetemcomitans*, «КК» - «красный комплекс», *P.i.* – *P. intermedia*, *C.a.* – *Candida albicans*

3.2.4 Корреляционный анализ

При проведении корреляционного анализа были установлена положительная корреляционная статистически значимая связь между показателями количества

ОБМ и *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, а также положительная корреляционная связь между количеством *P. gingivalis* и *T. forsythia*, *T. forsythia* и *T. denticola* во всех группах исследования до начала лечения, что свидетельствует об однородности групп на исходном уровне (таблица 3.9).

Таблица 3.9 – Результаты корреляционного анализа взаимосвязи ОБМ, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola* до лечения (ρ)

	Группа 1 (Кюреты)			Группа 2 (УЗСВ)			Группа 3 (Кюреты+УЗСВ)		
	<i>P.g.</i>	<i>T.f.</i>	<i>T.d.</i>	<i>P.g.</i>	<i>T.f.</i>	<i>T.d.</i>	<i>P.g.</i>	<i>T.f.</i>	<i>T.d.</i>
ОБМ	0,68	0,86	0,47	0,46	0,78	0,60	0,58	0,89	0,45
<i>T.f.</i>	0,64	--	0,50	0,51	--	0,50	0,56	--	0,47
<i>T.d.</i>	--	0,50	--	--	0,50	--	--	0,47	--

Через 10 дней после проведения процедуры удаления поддесневой микробной биопленки в группе 1 (Кюреты) сохранялась вышеуказанная положительная корреляционная статистически значимая связь между показателями количества ОБМ и *P. gingivalis*, *T.forsythia*, *T.denticola*, а также положительная корреляционная связь между количеством *P.gingivalis* и *T.forsythia*, *T.forsythia* и *T.denticola* в полном объеме, а в группе 2 (УЗСВ) отмечалось исчезновение корреляционной связи между показателем ОБМ и *P. gingivalis*, в группе 3 (Кюреты+УЗСВ) отмечалось исчезновение корреляционной связи между показателем ОБМ и *T.denticola* (таблица 3.10).

Таблица 3.10 – Результаты корреляционного анализа взаимосвязи ОБМ, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola* через 10 дней после лечения (ρ)

	Группа 1 (Кюреты)			Группа 2 (УЗСВ)			Группа 3 (Кюреты+УЗСВ)		
	<i>P.g.</i>	<i>T.f.</i>	<i>T.d.</i>	<i>P.g.</i>	<i>T.f.</i>	<i>T.d.</i>	<i>P.g.</i>	<i>T.f.</i>	<i>T.d.</i>
ОБМ	0,39	0,65	0,53	--	0,78	0,45	0,82	0,66	--
<i>T.f.</i>	0,69	--	0,85	0,44	--	0,66	0,79	--	0,43
<i>T.d.</i>	--	0,85	--	--	0,66	--	--	0,43	--

Через 6 недель после проведения процедуры удаления поддесневой микробной биопленки в группе 1 (Кюреты) сохранялась положительная корреляционная статистически значимая связь между показателями количества ОБМ и *T. forsythia*, *T. denticola*, а также положительная корреляционная связь между количеством, *T. forsythia* и *T. denticola*, корреляционная связь между *P. gingivalis* и ОБМ, *P. gingivalis* и *T. forsythia* обнаруживаться перестала. В группе 2 (УЗСВ) отмечалось исчезновение корреляционной связи между показателем ОБМ и *T. denticola*, а корреляционная связь между ОБМ и *P. gingivalis* появилась вновь в сравнении с предыдущим этапом оценки. В группе 3 (Кюреты+УЗСВ) продолжалось отмечаться исчезновение корреляционной связи между показателем ОБМ и *T. denticola*, также не отмечалось наличия корреляционной связи между количеством *T. forsythia* и *T. denticola* (таблица 3.11).

Таблица 3.11 – Результаты корреляционного анализа взаимосвязи ОБМ, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola* через 6 недель после лечения (ρ)

	Группа 1 (Кюреты)			Группа 2 (УЗСВ)			Группа 3 (Кюреты+УЗСВ)		
	<i>P.g.</i>	<i>T.f.</i>	<i>T.d.</i>	<i>P.g.</i>	<i>T.f.</i>	<i>T.d.</i>	<i>P.g.</i>	<i>T.f.</i>	<i>T.d.</i>
ОБМ	--	0,55	0,53	0,49	0,54	--	0,71	0,71	--
<i>T.f.</i>	--	--	0,73	0,73	--	0,63	0,79	--	--
<i>T.d.</i>	--	0,73	--	--	0,63	--	--	--	--

3.3 Результаты сканирующей электронной микроскопии с 3D-визуализацией

Были получены микрофотографии микробной биопленки на поверхности корня зуба, микрофотографии поверхности цемента при различных увеличениях интактных зубов и зубов, пораженных пародонтитом, удаленных атравматичными по отношению к поверхности корня методиками, микрофотографии поверхности цемента после *in vivo* удаления поддесневой микробной биопленки с помощью ручных зоноспецифических кюрет, ультразвуковой системы Вектор и комбинации использования ручных кюрет и ультразвуковой системы Вектор.

3.3.1 Стрoение поддесневой микробной биопленки

Нативная биопленка поддесневой зубной бляшки наблюдалась во всех образцах, несмотря на то что для сканирующей микроскопии образцы должны быть обезвожены, так как исследование проводится в условиях вакуума, демонстрируя, что протокол подготовки образцов был эффективен для этой цели. У некоторых зубов цемент корня был полностью покрыт микробной биопленкой, у других поддесневая бляшка отмечалась в виде скоплений или узелков, а также обнаруживались участки свободные от биопленки.

На полученной серии микрофотографий наблюдалось множество различных морфологических форм бактериальных клеток (прямые палочки, извитые формы, цепочки крупных коротких палочек или шаровидных клеток, нитевидные), многовидовая структурированная биопленка поддесневой зубной бляшки, некоторые этапы формирования бактериальной пленки и элементов экзополисахаридного матрикса. В исследуемых образцах кокковые и нитевидные бактериальные морфотипы наиболее часто встречались в корональной трети поверхности корня. Средняя и апикальная треть поверхности корня в основном была колонизирована прямыми палочками и извитыми формами. На микрофотографиях микробной биопленки в области цемента-эмалевого соединения отмечалось наличие преимущественно кокковой микрофлоры (рисунок 3.49). При реконструкции классического изображения, полученного с помощью сканирующей электронной микроскопии, в трехмерное (рисунок 3.50) даже на относительно небольшом увеличении ($\times 1500$) заметна сложная пространственная многослойная организация биопленки, в то время как стандартное изображение кажется однослойным и плоскостным. На микрофотографиях с большим увеличением ($\times 5000$) становится заметным, что бактериальные клетки не просто лежат, на поверхности цемента корня, а тяжи бактерий покрыты внеклеточным экзополисахаридным матриксом (рисунок 3.51). Трехмерная реконструкция изображений делала наличие экзополисахаридного матрикса еще более заметным,

а также давала более достоверное представление о сложном многослойном рельефе микробной биопленки (рисунок 3.52). Массив биопленки был пронизан многочисленными каналами, устья которых открывались на внешнюю (исследуемую) поверхность биопленки. Через просветы каналов не видно подложки, на которой сформировалась биопленка.

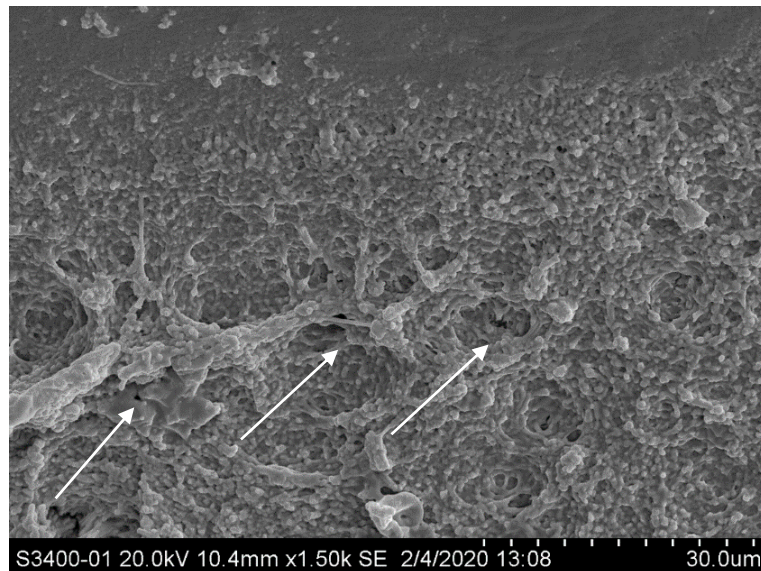


Рисунок 3.49 – Микробная биопленка в области верхней трети поверхности корня.

Стрелками указаны каналы в биопленке. Увеличение 1500

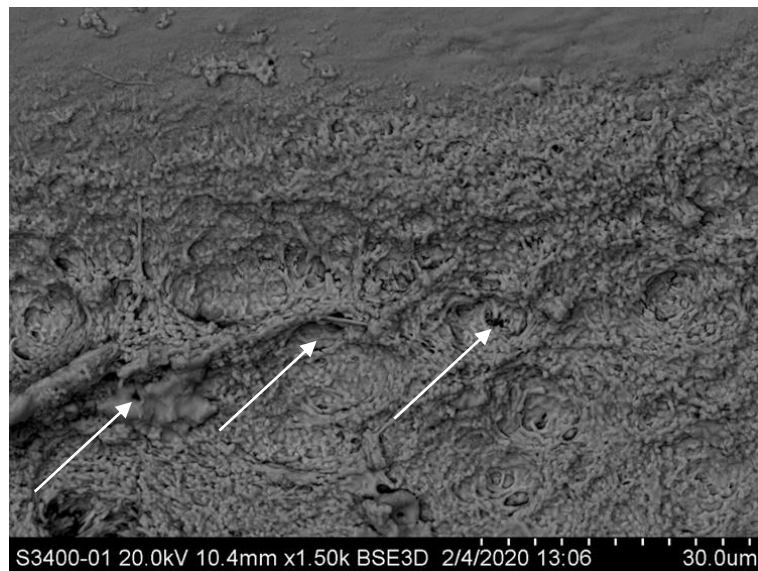


Рисунок 3.50 – Микробная биопленка в области верхней трети корня. 3D

визуализация. Увеличение 1500

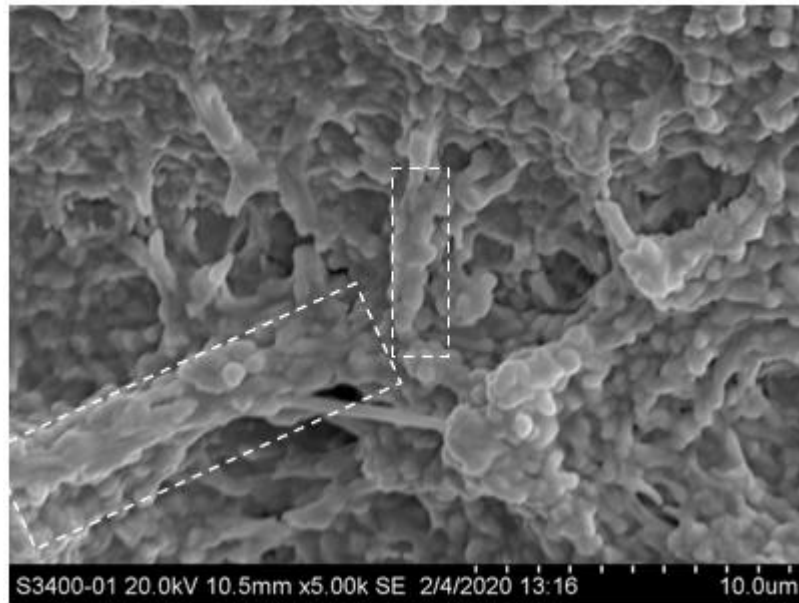


Рисунок 3.51 – Микробная биопленка в области верхней трети пародонтального кармана. Увеличение 5000. Тяжи бактерий, покрытых экзополисахаридным матриксом (выделено прерывистой линией)

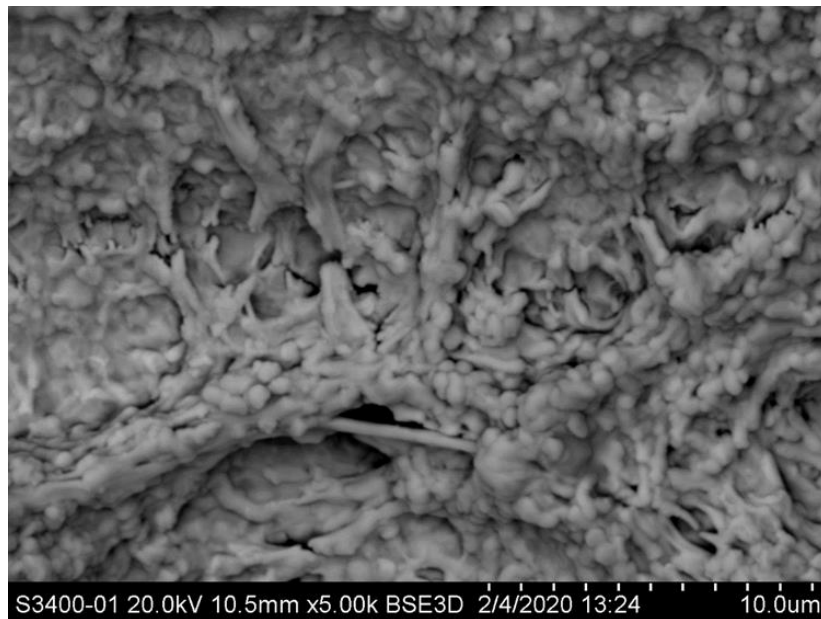


Рисунок 3.52 – Тяжи бактерий, покрытых экзополисахаридным матриксом, многослойный рельеф микробной биопленки. 3D визуализация. Увеличение 5000

В средней трети поверхности корня чаще всего биопленка почти полностью покрывала поверхность цемента корня (рисунок 3.53), отмечалось преобладание палочковидных и извитых форм бактерий (рисунок 3.54). Отмечались межвидовые

взаимодействия между бактериями, коагрегация палочковидных и овоидных микроорганизмов (рисунок 3.55). Также, как и в микробной биопленке верхней трети поверхности корня обнаруживались тяжи бактерий, заключенный в экзополисахаридный межмикробный матрикс.

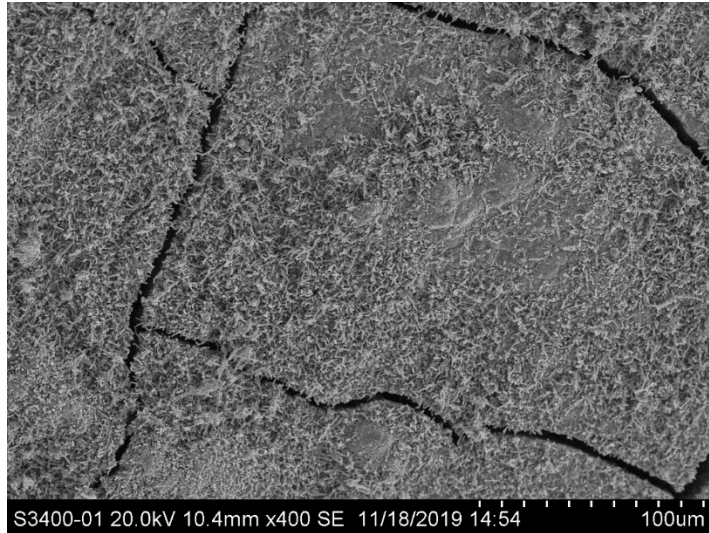


Рисунок 3.53 – Микробная биопленка в средней трети поверхности корня.

Увеличение 400

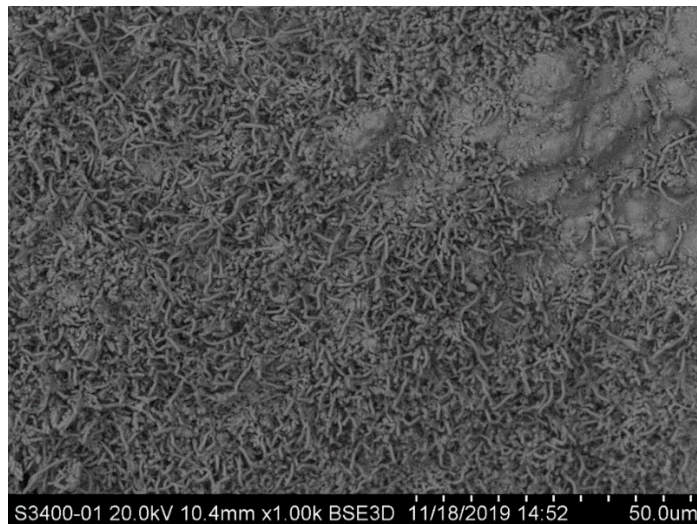


Рисунок 3.54 – Преобладание палочковидных и извитых форм бактерий в микробной биопленке средней трети поверхности корня. Увеличение 1000.3D

визуализация

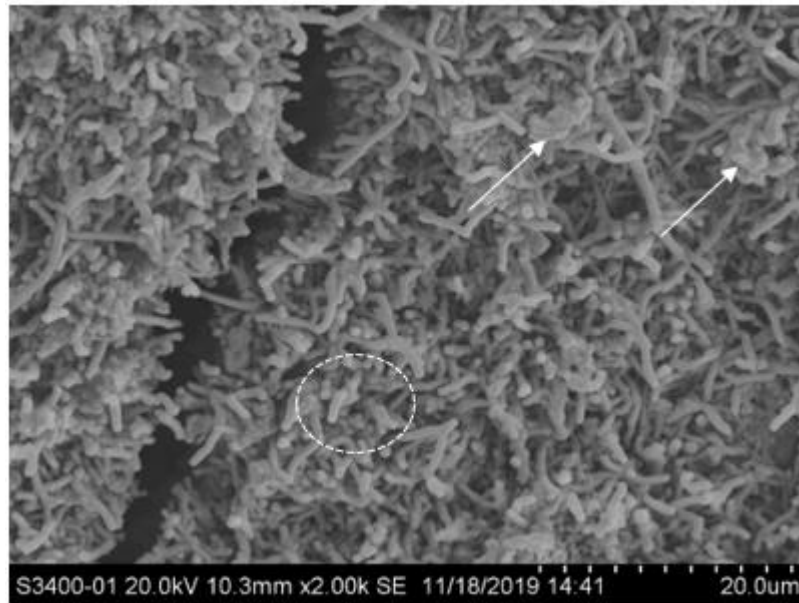


Рисунок 3.55 – Межвидовое взаимодействие бактериальных форм в биоплёнке средней трети поверхности корня (выделено прерывистой линией). Тяжи бактерий, заключённых в экзополисахаридный матрикс указаны стрелками.

Увеличение 2000

Микробная биопленка апикальной трети поверхности корня часто не была сформирована полностью, мелкие агрегаты и отдельные бактериальные клетки были рассеяны по всей исследуемой зоне. На микрофотографии с 3D визуализацией отдельные бактериальные клетки лучше контрастируют на поверхности неизмененного цемента корня (рисунок 3.56 – 3.59). Некоторые бактерии были фиксированы на волокнах сохраненной периодонтальной связки (рисунок 3.60). Нами были обнаружены длинные/короткие палочковидные спирохетообразные и нитевидные микроорганизмы.

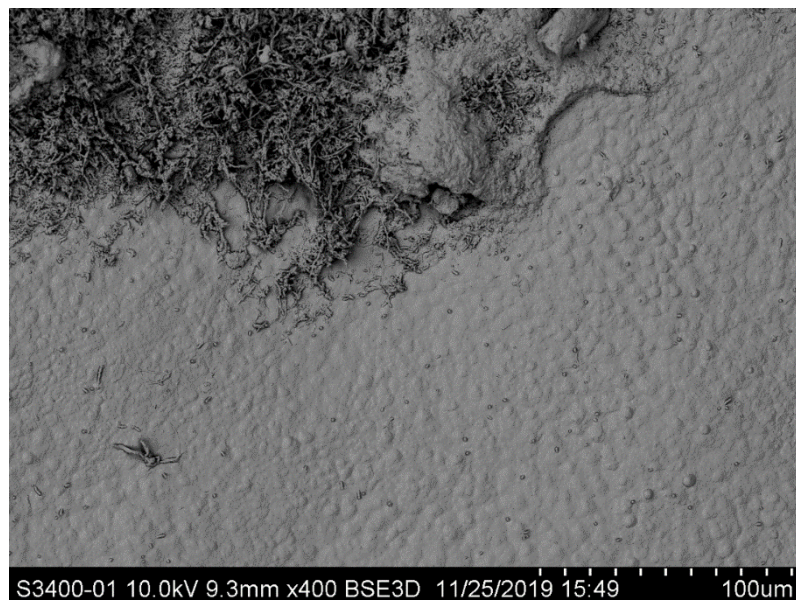


Рисунок 3.56 – Микробная биопленка апикальной трети корня. Отдельные бактериальные клетки рассеяны по поверхности корня. Увеличение 400. 3D визуализация

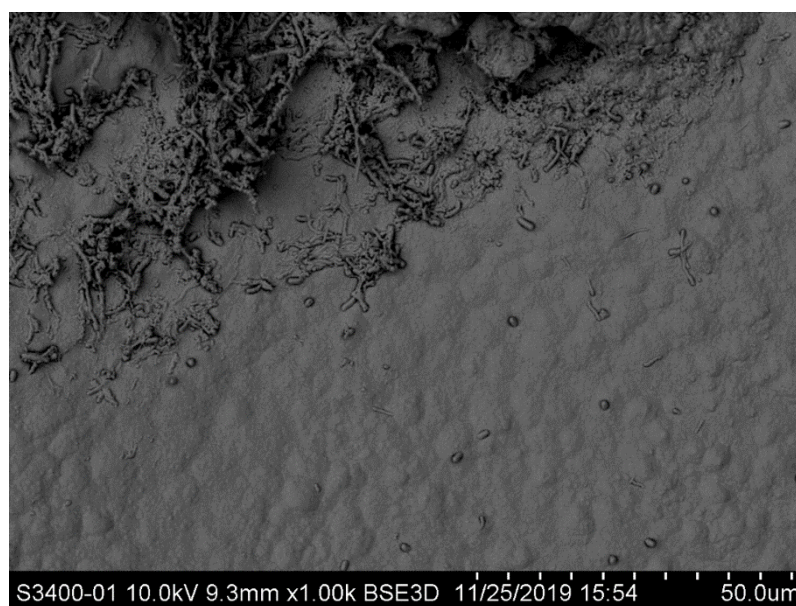


Рисунок 3.57 – Микробная биопленка апикальной трети корня. Конгломераты бактерий и отдельные бактериальные клетки на поверхности корня. Увеличение 1000. 3D-визуализация

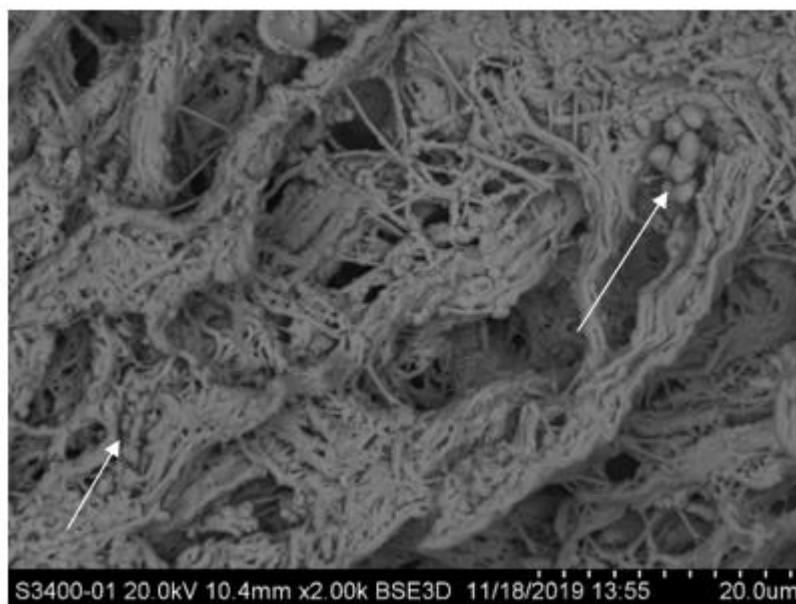


Рисунок 3.58 – Бактериальные клетки, фиксированные на волокнах периодонта в апикальной трети корня (указаны стрелками). Увеличение 2000. 3D-визуализация

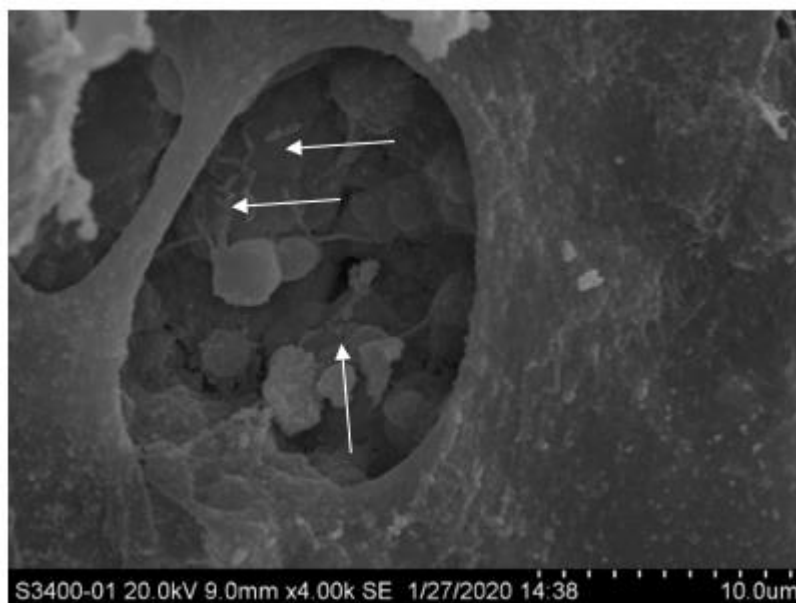


Рисунок 3.59 – Палочковидные спирохетообразные и нитевидные микроорганизмы в апикальной трети поверхности корня. Увеличение 4000



Рисунок 3.60 – Палочковидные спирохетообразные и нитевидные микроорганизмы в апикальной трети поверхности корня. Увеличение 4000. 3D-визуализация

С помощью микрофотографий нам удалось зафиксировать некоторые этапы формирования микробной биопленки. Можно наблюдать адгезию микроорганизмов к поверхности (рисунок 3.61 А, Б). На данных микрофотографиях предположительно обнаруживаются дрожжеподобные грибы. На следующих микрофотографиях определяется процесс коагрегации клеток дрожжеподобных грибов, их почкование и начало синтеза элементов экзополисахаридного матрикса (рисунок 3.61 В, Г). Микрофотографии в режиме 3D (рисунок 3.61 Б, Г) лучше демонстрируют объемную структуру и пространственную организацию биопленки, находящейся в стадии формирования, более четкие контуры бактерий. Элементы экзоклеточного липополисахаридного матрикса более отчетливо визуализируются на трехмерных фотографиях. Следует отметить, что у пациента, которому было проведено удаление зуба по поводу хронического генерализованного пародонтита тяжелой степени для исследования с помощью СЭМ, было подтверждено наличие грибов *Candida albicans* в содержимом пародонтальных карманов с помощью ПЦР в реальном времени.

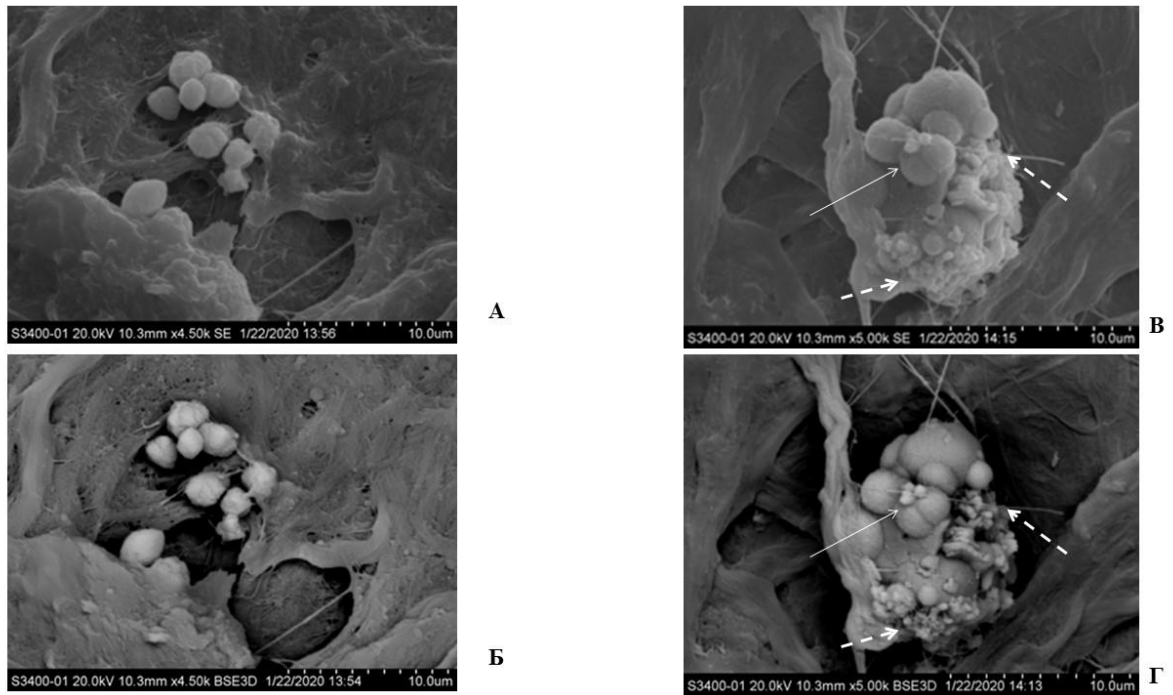


Рисунок 3.61 – Этапы формирования биопленки дрожжеподобных грибов. А – адгезия микроорганизмов к поверхности. Увеличение 4500. Б – адгезия микроорганизмов к поверхности. Увеличение 4500. 3D визуализация. В – коагрегация дрожжеподобных грибов, почкование, синтез элементов экзополисахаридного матрикса. Увеличение 5000. Г – коагрегация дрожжеподобных грибов, почкование, синтез элементов экзо полисахаридного матрикса. Увеличение 5000. 3D визуализация. Сплошной стрелкой указана почкующаяся клетка. Прерывистыми стрелками указаны элементы экзополисахаридного матрикса

3.3.2 Ультраструктура цемента интактных зубов

На микрофотографиях интактных зубов поверхность цемента имела однородный регулярный вид и была покрыта периодонтальными волокнами. При чем в верхней и средней трети корня поверхность цемента имела галечный вид за счет многочисленных небольших бугорков (рисунки 3.62 – 3.65), а в апикальной области и зоне фуркации представляла собой куполообразную поверхность, напоминающую пористый шоколад (рисунки 3.66 – 3.71). Для сравнения представлены изображения, полученные с помощью классической СЭМ и

изображения с 3D визуализацией. Микротрещины на поверхности исследуемого цемента обусловлены обезвоживанием образцов согласно протоколу сканирующей электронной микроскопии.

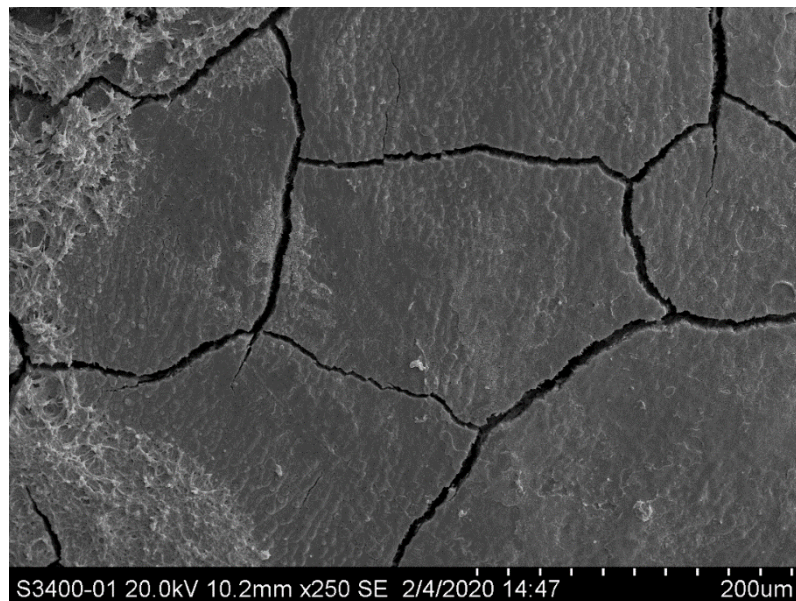


Рисунок 3.62 – Поверхность цемента в верхней и средней трети корня интактного зуба. Увеличение 250

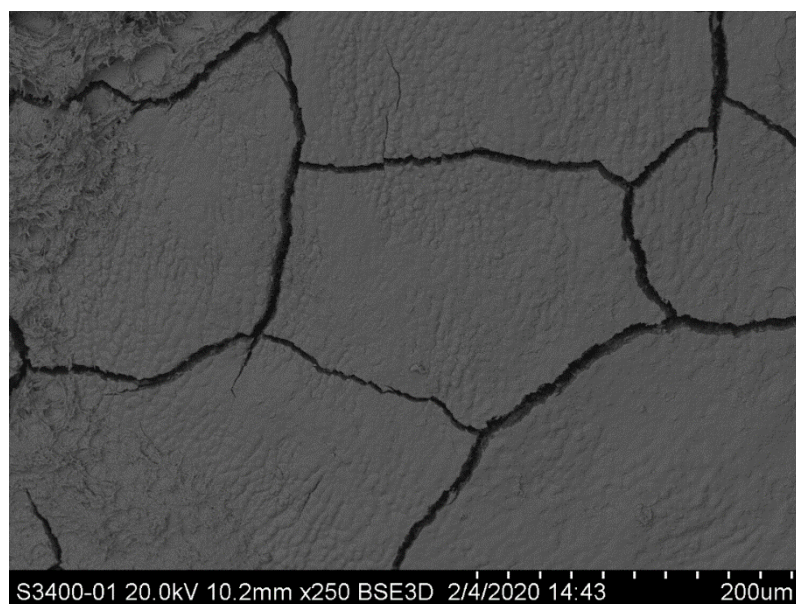


Рисунок 3.63 – Поверхность цемента в верхней и средней трети корня интактного зуба. Увеличение 250. 3D-визуализация

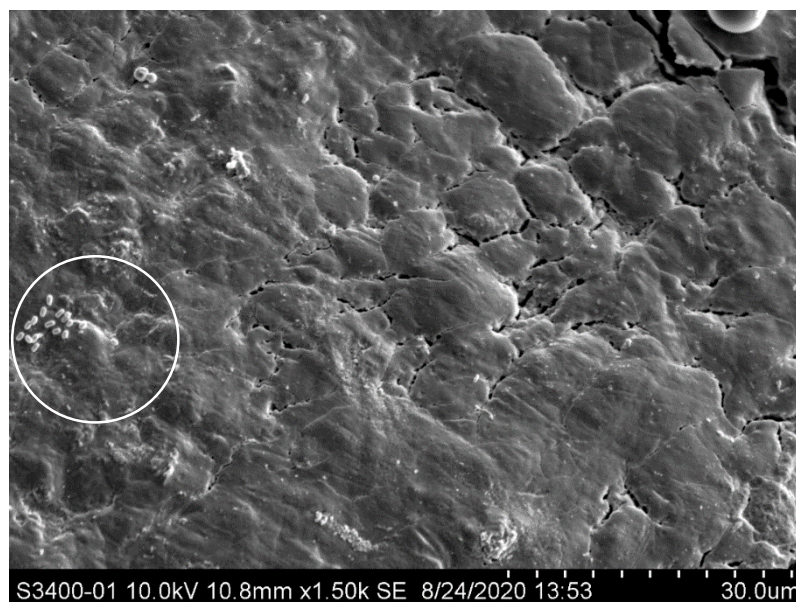


Рисунок 3.64 – Галечный вид интактного цемента в верхней и средней трети корня. Выделенная область – отдельная колония микроорганизмов. Увеличение 1500

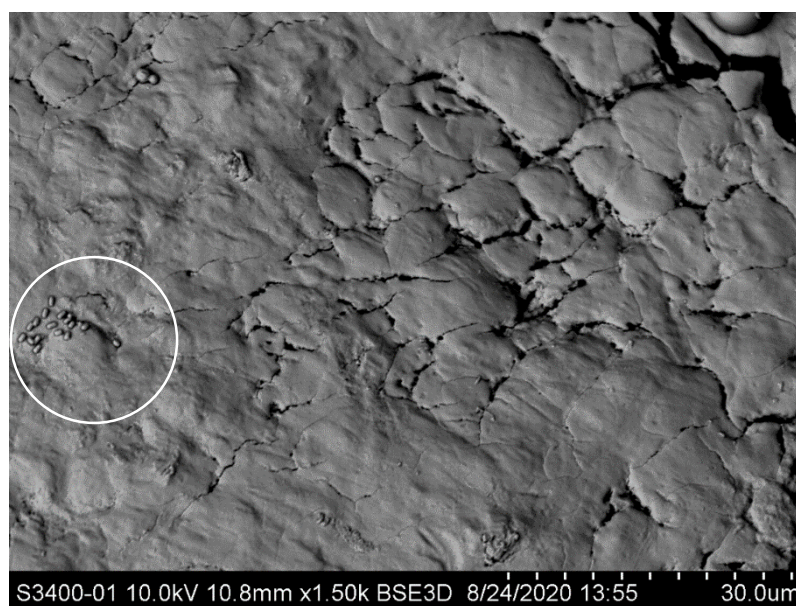


Рисунок 3.65 – Галечный вид интактного цемента в верхней и средней трети корня. Выделенная область – отдельная колония микроорганизмов. Увеличение 1500. 3D-визуализация

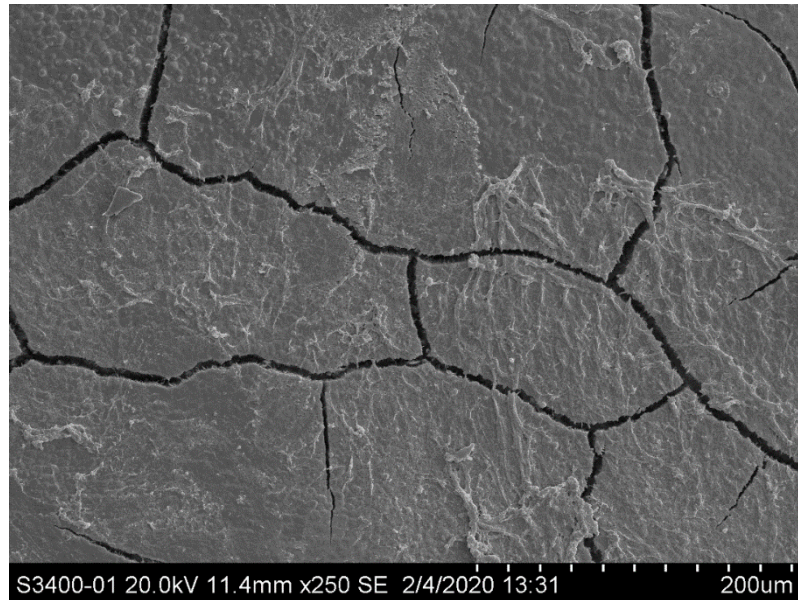


Рисунок 3.66 – Цемент интактного зуба в нижней трети корня с остатками периодонтальных волокон. Увеличение 250

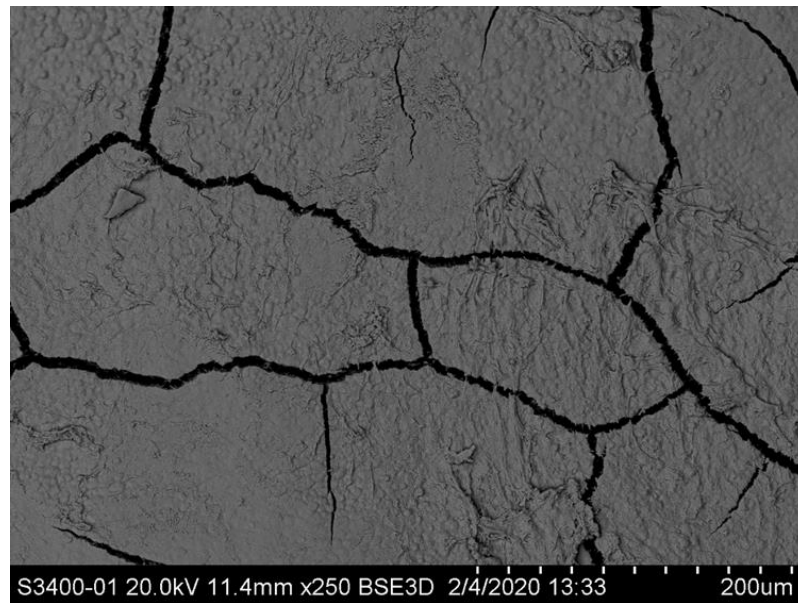


Рисунок 3.67 – Цемент интактного зуба в нижней трети корня с остатками периодонтальных волокон. Увеличение 250.3D визуализация

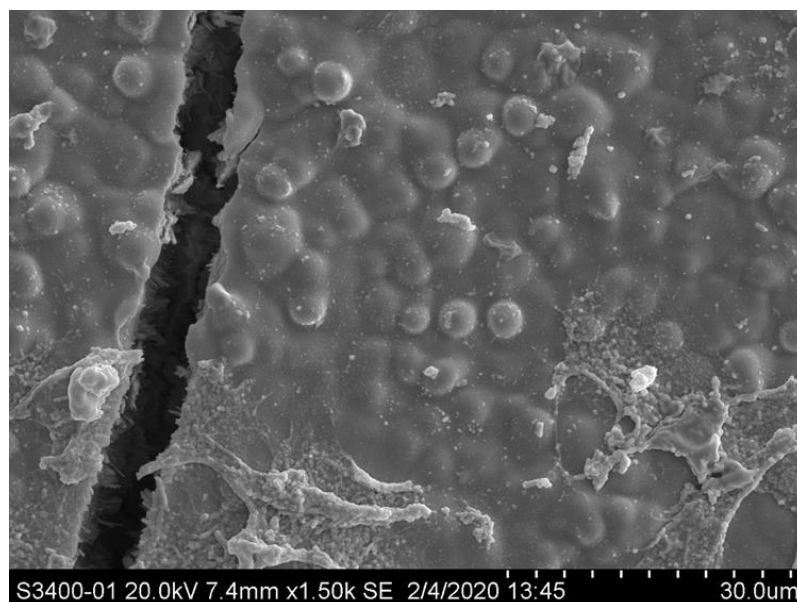


Рисунок 3.68 – Куполообразная поверхность интактного цемента в нижней трети корня. Увеличение 1500

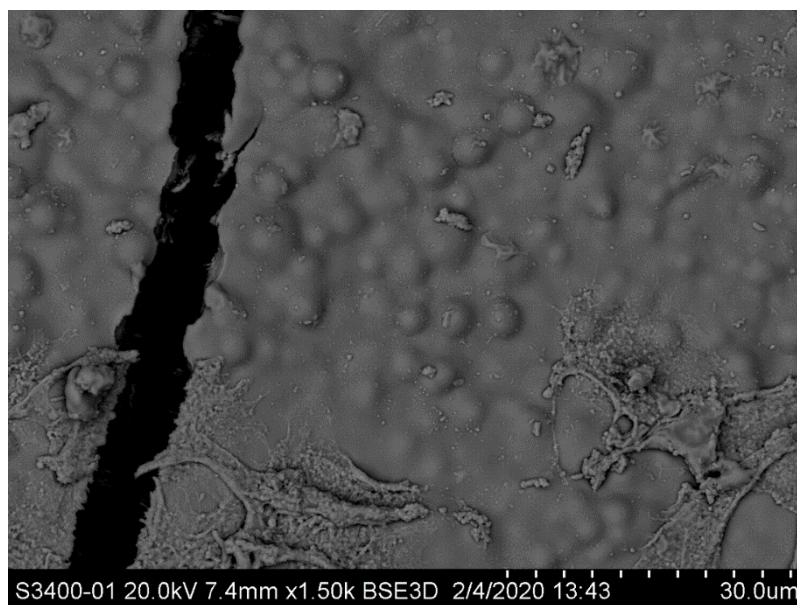


Рисунок 3.69 – Куполообразная поверхность интактного цемента в нижней трети корня. Увеличение 1500. 3D-визуализация

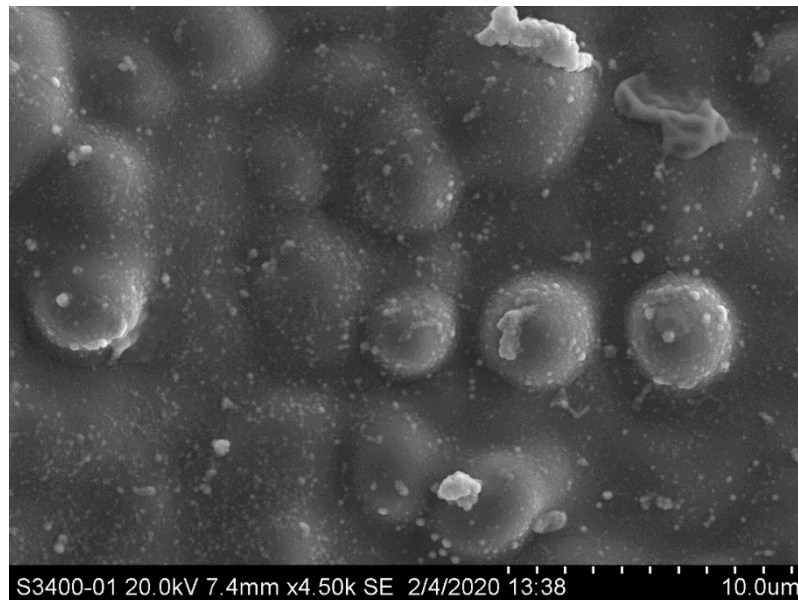


Рисунок 3.70 – Куполообразная поверхность интактного цемента, напоминающая пористый шоколад в нижней трети корня. Увеличение 4500

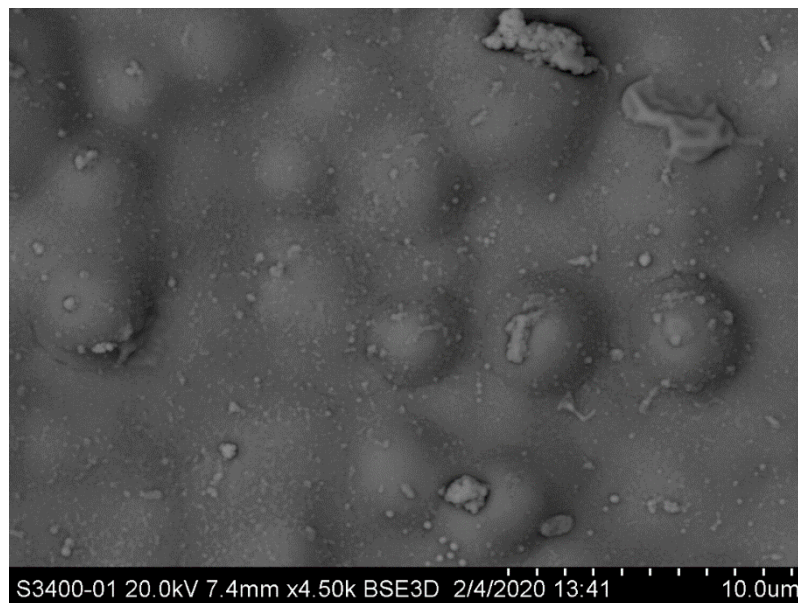


Рисунок 3.71 – Куполообразная поверхность интактного цемента, напоминающая пористый шоколад в нижней трети корня. Увеличение 4500. 3D визуализация

Цемент зубов с клинически здоровым пародонтом на поперечном срезе демонстрировал плотную упаковку волокон и наличие цементцитов, одни отростки которого выходят в поверхностный слой цемента, а другие переплетаются с внутренними волокнами, формируя беспорядочную волокнистую сеть (рисунок 3.72).

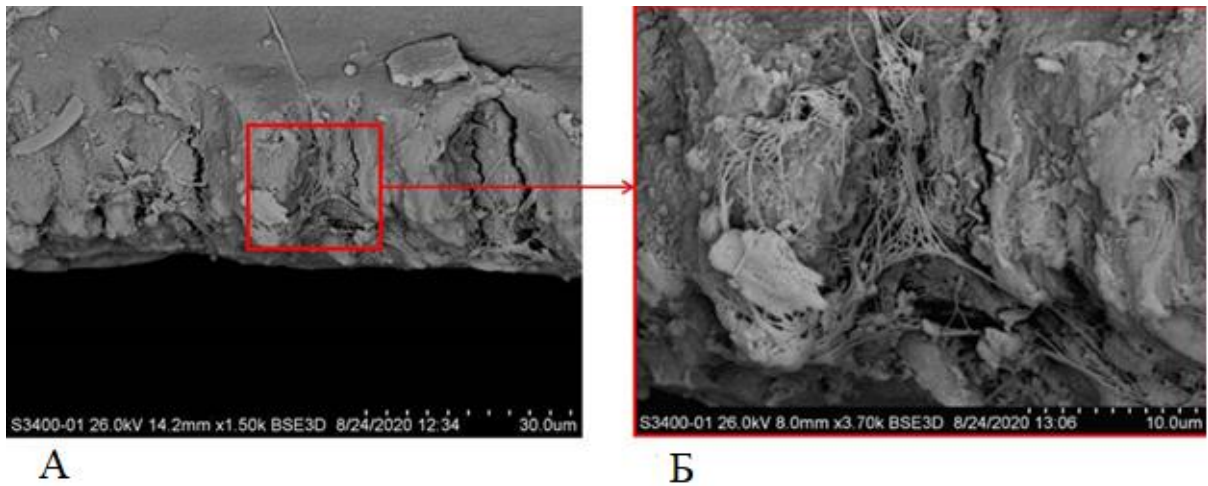


Рисунок 3.72 – Поперечный срез цемента интактного зуба. А – плотно упакованные пучки коллагеновых волокон. Увеличение 1500. 3D-визуализация. Б – цемтоцит с отростками, распространяющимися во внешний и внутренний слои цемента. Увеличение 3700. 3D-визуализация

3.3.3 Ультраструктура поверхности цемента зубов, пораженных хроническим генерализованным пародонтитом

Микрофотографии цемента зубов, пораженных пародонтитом, демонстрировали большое разнообразие исследуемой поверхностных характеристик. На поверхности корня обнаруживались большие скопления поддесневой бактериальной биопленки, под которой в некоторых участках поверхность цемента с его характерным куполообразным или галечным видом (рисунок 3.73).

Поверхность цемента у зубов, пораженных хроническим генерализованным пародонтитом, часто утрачивала теряла свое холмистое строение и выглядела неоднородной и шероховатой, периодонтальные волокна часто полностью отсутствовали (рисунок 3.74). Сглаженный рельеф пораженного цемента наиболее отчетливо был замечен после 3D визуализации изображений (рисунок 3.75). На поверхности цемента отмечались поддесневые зубные отложения в виде чешуек (рисунок 3.76 – 3.77). Также обнаруживались участки повреждения цемента и обнаженными отверстиями дентинных канальцев.



Рисунок 3.73 – Микробная биопленка на поверхности цемента корня зуба, пораженного хроническим генерализованным пародонтитом

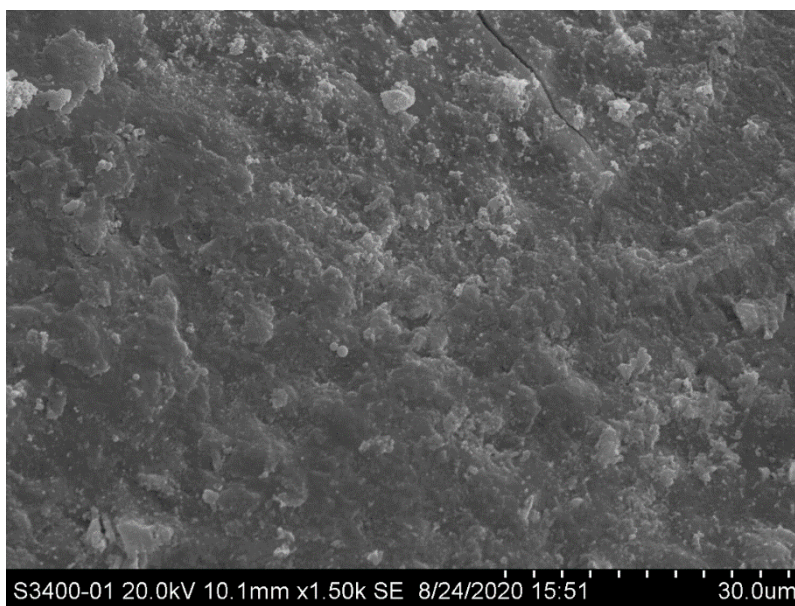


Рисунок 3.74 – Неоднородная сглаженная поверхность цемента зуба, пораженного хроническим генерализованным пародонтитом. Увеличение 1500



Рисунок 3.75 – Неоднородная сглаженная поверхность цемента зуба, пораженного хроническим генерализованным пародонтитом. Увеличение 1500. 3D визуализация

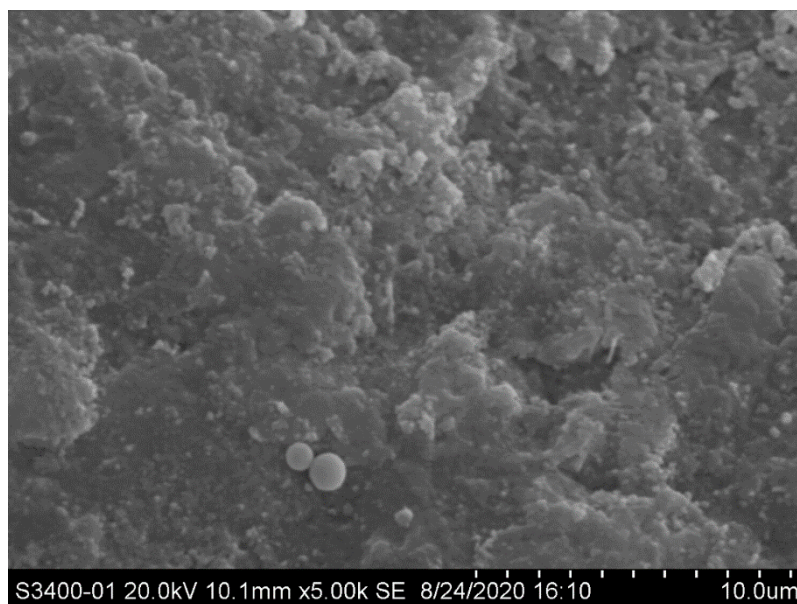


Рисунок 3.76 – Поддесневые минерализованные зубные отложения в виде чешуек на поверхности цемента зуба, пораженного хроническим генерализованным. Увеличение 5000

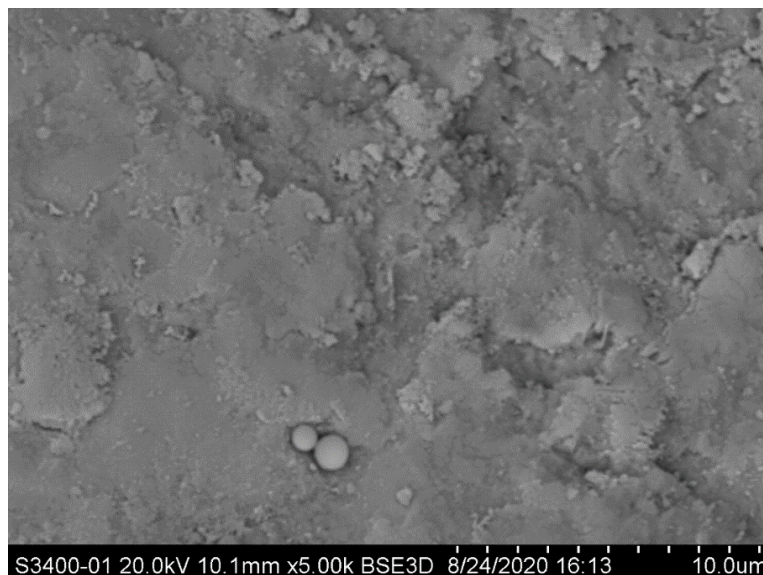


Рисунок 3.77 – Поддесневые минерализованные зубные отложения в виде чешуек на поверхности цемента зуба, пораженного хроническим генерализованным
Увеличение 5000. 3D-визуализация

Также были обнаружены участки корня с выраженной деструкцией поверхности цемента, обнажением внутренних волокнистых слоев или подстилающего дентина и отверстий дентинных канальцев (рисунок 3.78), деминерализацией цемента (рисунок 3.79), наличием множественных кратеров и зон глубокой резорбции (рисунок 3.80).

В тоже время в области дна пародонтального кармана могли встречаться участки цемента с сохранением его нормальной структуры (рисунки 3.81 – 3.82). Было установлено, что в куполообразные возвышения на поверхности цемента вплетаются волокна периодонта (рисунок 3.83).

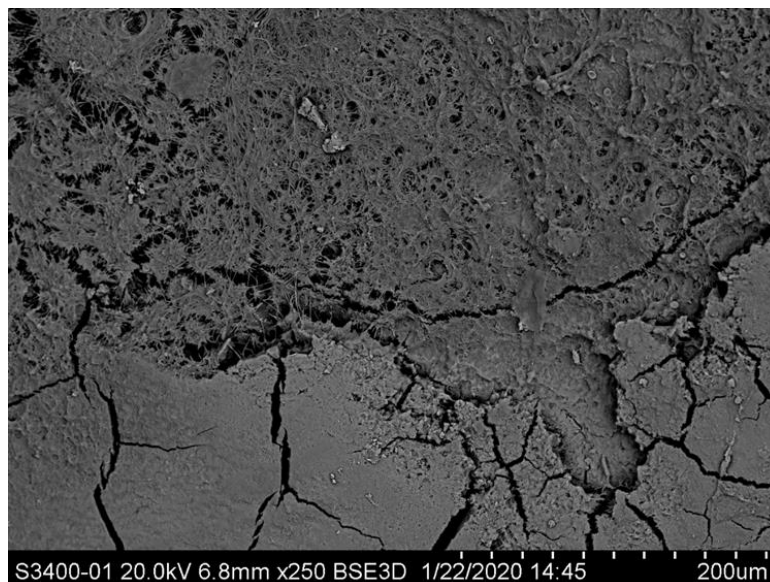


Рисунок 3.78 – Поверхность корня с участком полностью отсутствующего цемента, обнаженными отверстиями дентинных канальцев. Увеличение 250. 3D визуализация

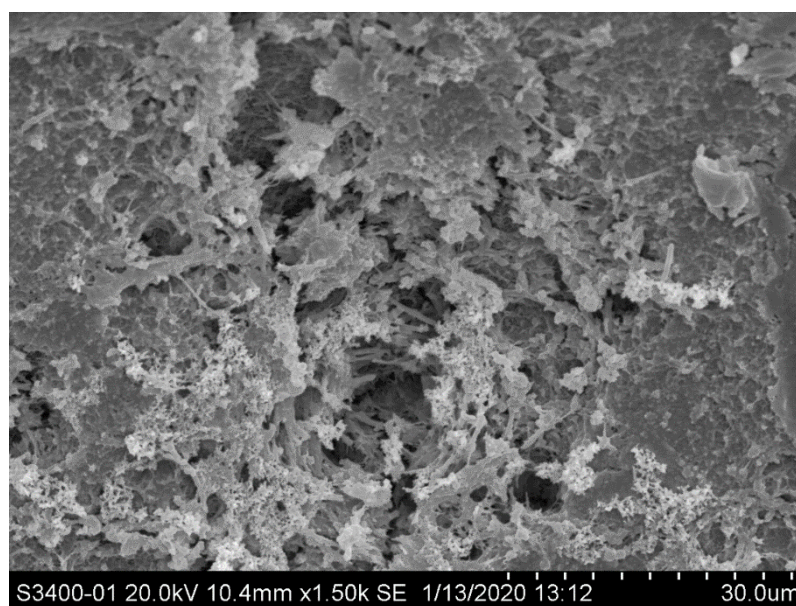


Рисунок 3.79 – Деминерализованный внутренний слой цемента. Обнаженные коллагеновые волокна. Увеличение 1500. 3D визуализация

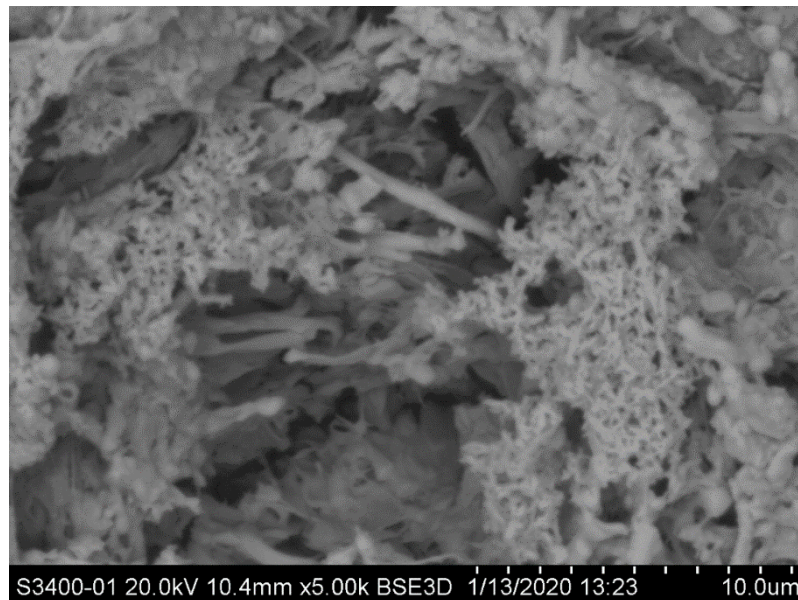


Рисунок 3.80 – Внутренний слой деминерализованного цемента. Увеличение 5000. 3D-визуализация

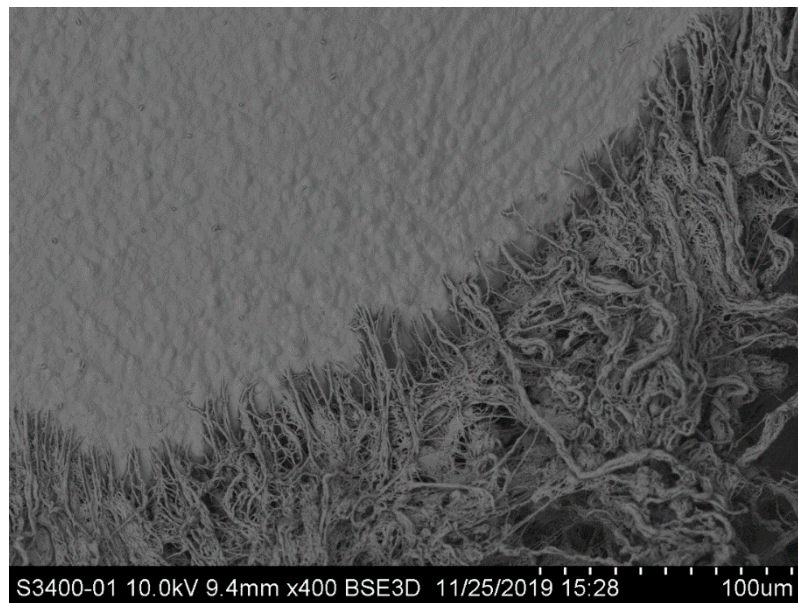


Рисунок 3.81 – Куполообразная структура поверхности цемента в области дна пародонтального кармана. Увеличение 400. 3D-визуализация

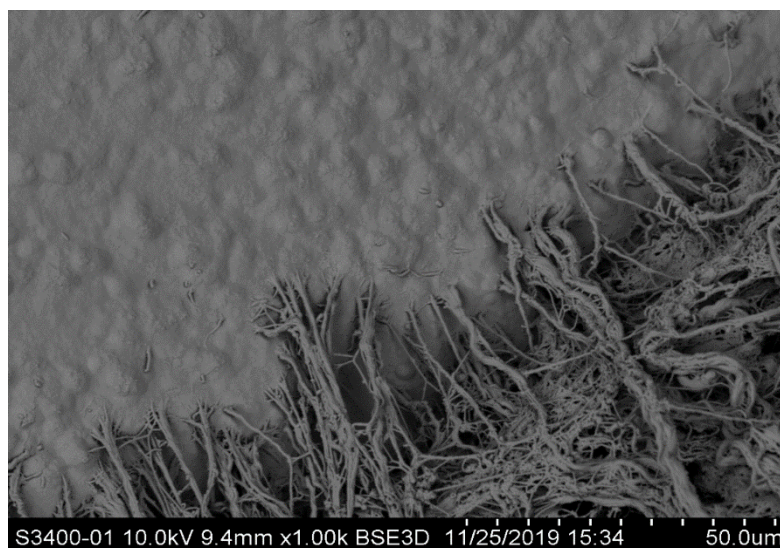


Рисунок 3.82 – Куполообразная структура поверхности цемента в области дна пародонтального кармана. Увеличение 400. 3D-визуализация

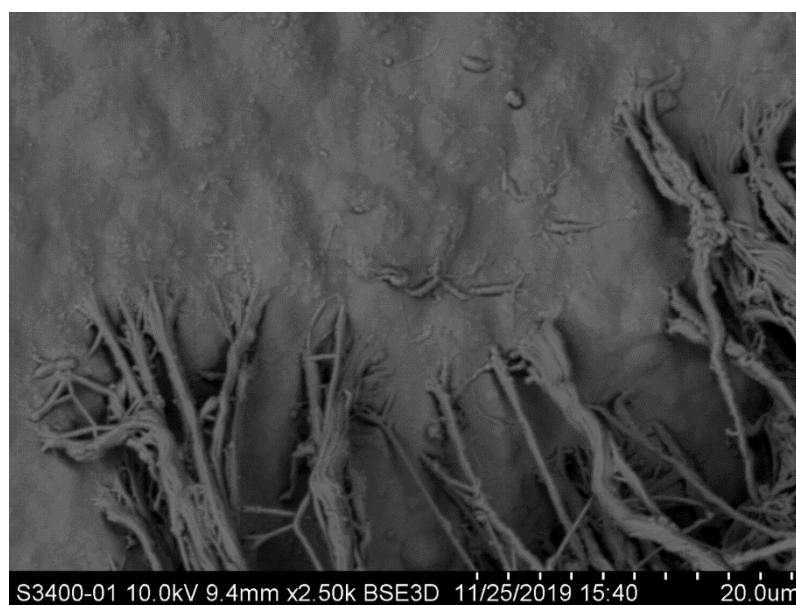


Рисунок 3.83 – Волокна периодонта вплетаются в вершины куполообразных возвышений на поверхности цемента. Увеличение 2500. 3D визуализация

На поперечном срезе зубов пациентов с хроническим пародонтитом часто отмечалось отсутствие цемента, либо его деминерализация (рисунок 3.84).

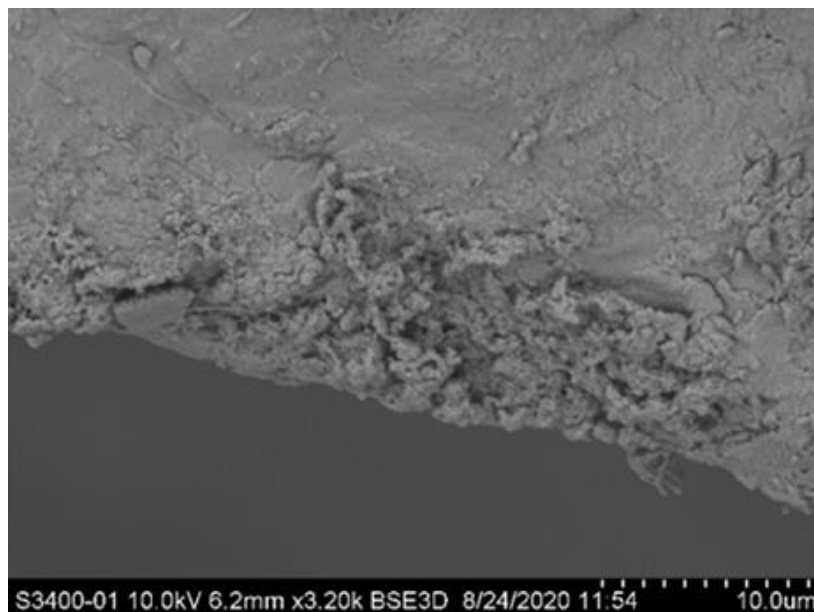


Рисунок 3.84 – Поперечный срез цемента корня зуба у пациента с хроническим генерализованным пародонтитом. Увеличение 3200.3D-визуализация

3.3.4 Сравнение эффективности разных методов удаления поддесневой микробной биопленки и их воздействие на ультраструктуру цемента корня зуба

Поверхность цемента после удаления поддесневой микробной биопленки и обработки ручными зоноспецифическими кюретами выглядела достаточно однородной и гладкой (рисунок 3.85). В тоже время отмечались достаточно глубокие параллельные борозды, указывающие на направление инструментации и свидетельствующие о частичном удалении поверхности цемента корня (рисунки 3.86 – 3.87). Отдельные незначительные бактериальные скопления сохранялись на поверхности цемента (рисунок 3.88).

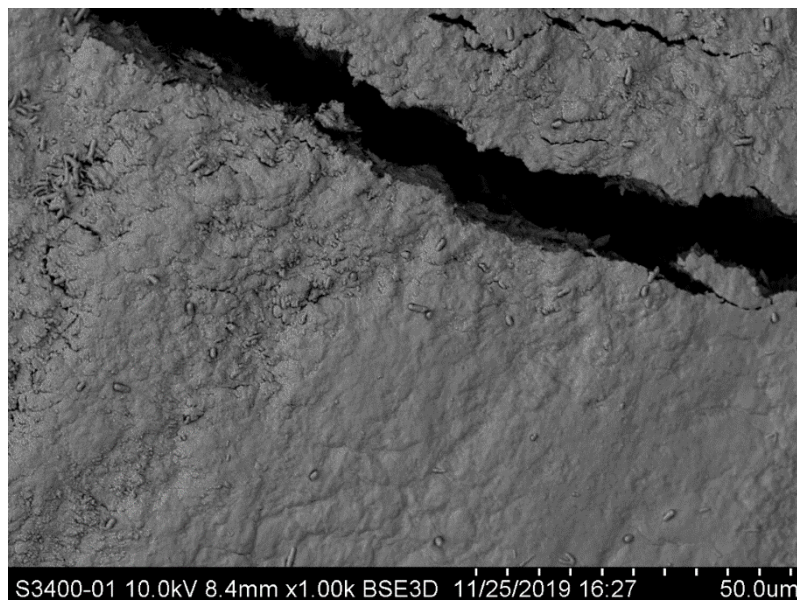


Рисунок 3.85 – Сглаженная поверхность цемента после обработки зоноспецифическими кюретами. Увеличение 1000. 3D-визуализация

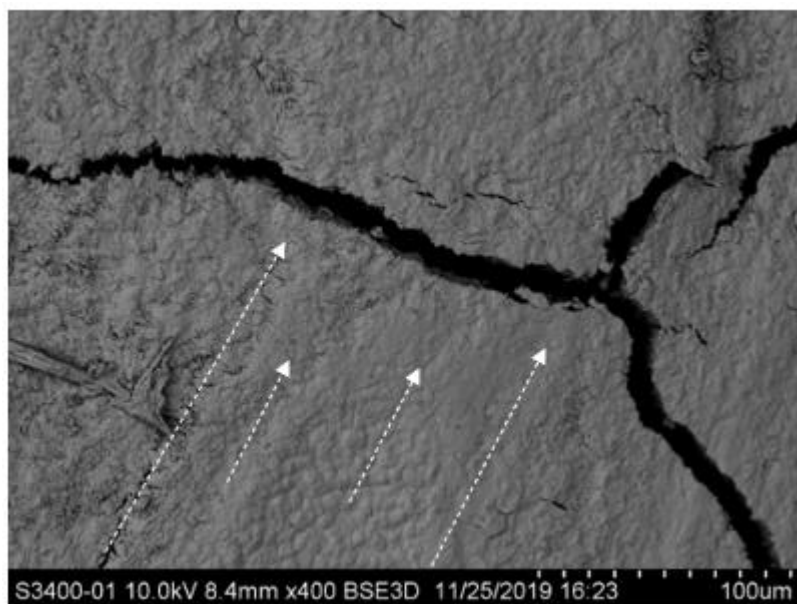


Рисунок 3.86 – Цементного корня после обработки зоноспецифическими кюретами Грейси. Стрелками указано направление инструментации и борозды, образовавшиеся на поверхности цемента. Увеличение 400. 3D-визуализация

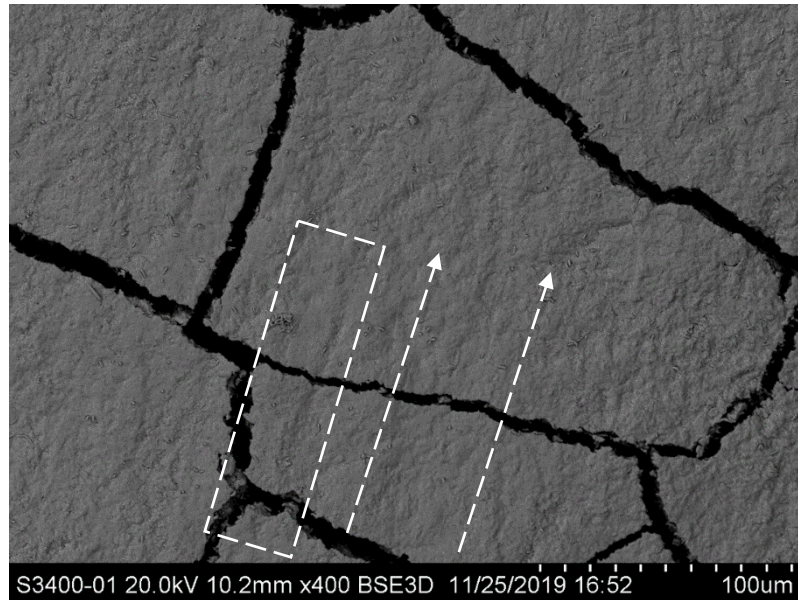


Рисунок 3.87 – Борозды на поверхности цемента после удаления поддесневой микробной биопленки с помощью зоноспецифических кюрет Грейси (выделено прямоугольником) и предполагаемое направление инструментации. Увеличение 400. 3D-визуализация

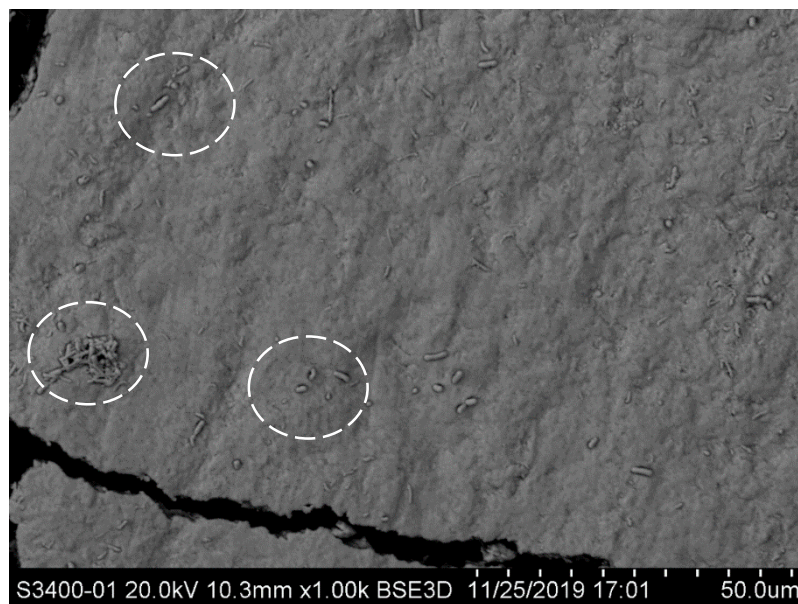


Рисунок 3.88 – Отдельные бактериальные клетки и небольшие конгломераты, рассеянные по поверхности цемента после обработки зоноспецифическими кюретами Грейси. Увеличение 1000. 3D-визуализация

Поверхность цемента после удаления поддесневой микробной биопленки и обработки с помощью ультразвуковой системы Вектор (УЗСВ) демонстрирует

отсутствие глубоких борозд на поверхности и сохранение структуры поверхности цемента с его минимальной потерей (рисунки 3.89 – 3.90). Даже в тех участках, где поверхность цемента предположительно изначально была поврежденной, дальнейшая обработка устройством Вектор не приводила к дополнительным его повреждениям (рисунок 3.91). Отмечалось наличие остаточных минерализованных отложений и отдельных бактериальных скоплений (рисунок 3.92).

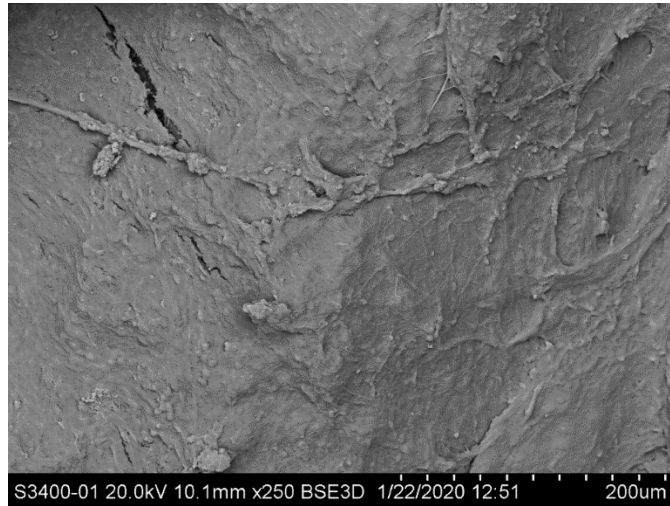


Рисунок 3.89 – Поверхность цемента после обработки УЗСВ. Увеличение 250. 3D-визуализация

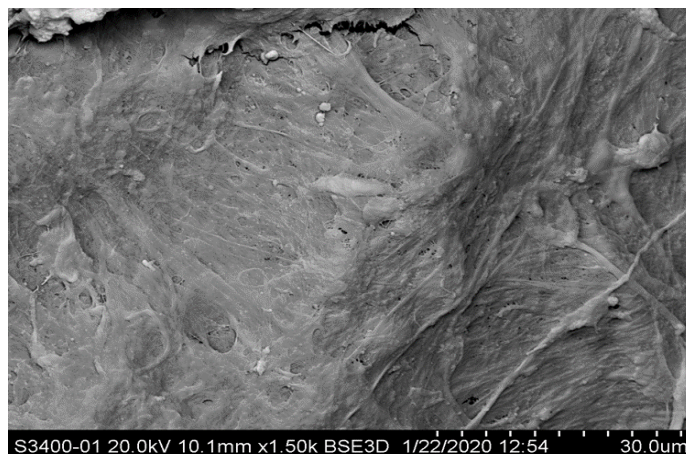


Рисунок 3.90 – Отсутствие борозд, сохранная поверхность цемента и остатков периодонтальных волокон после обработки УЗСВ. Увеличение 1500. 3D-визуализация

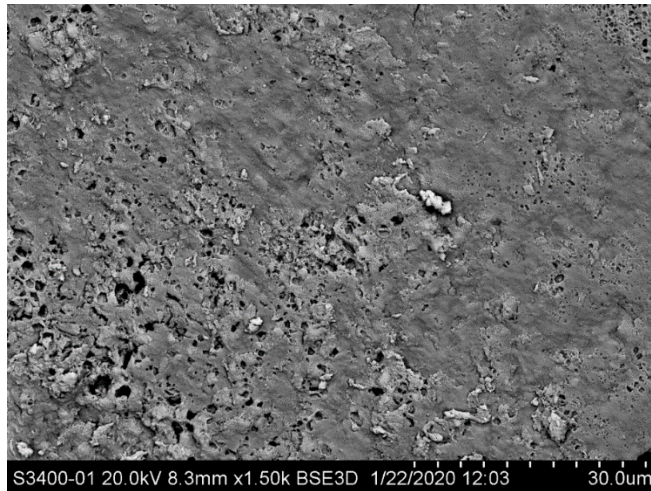


Рисунок 3.91 – Отсутствие дополнительных повреждений цемента после обработки поверхности корня УЗСВ. Увеличение 1500. 3D-визуализация

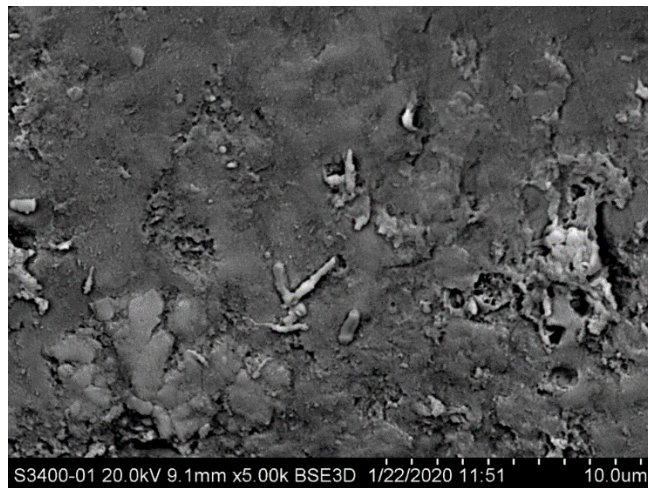


Рисунок 3.92 – Наличие остаточных минерализованных зубных отложений и бактериальных скоплений на поверхности цемента после обработки УЗСВ. Увеличение 1500. 3D-визуализация

Микрофотографии поверхности цемента после удаления поддесневой микробной биопленки и обработки с помощью комбинации зоноспецифических кюрет и устройства Вектор демонстрировали однородную, как будто заполированную, поверхность без наличия глубоких борозд. Отдельные незначительные фрагменты бактериальной биопленки обнаруживались на поверхности цемента (рисунки 3.93 – 3.94).

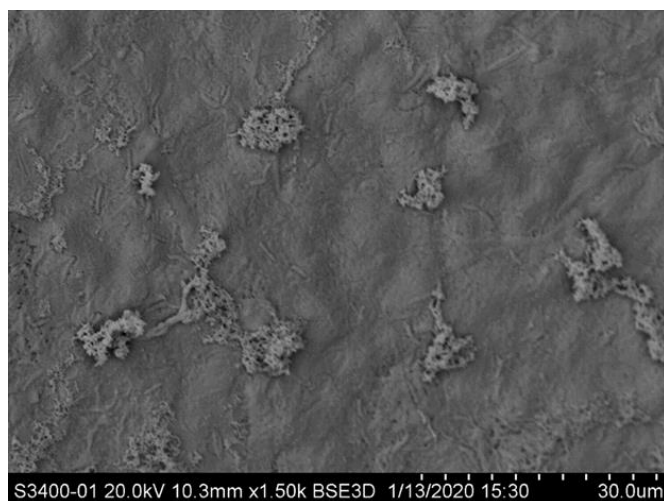


Рисунок 3.93 – Поверхность цемента после обработки зоноспецифическими кюретами и УЗСВ. Наличие фрагментов бактериальной биопленки. Увеличение 1500. 3D-визуализация

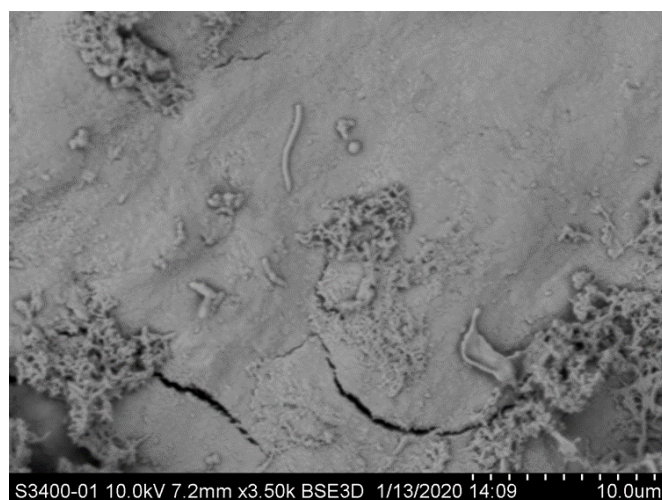


Рисунок 3.94 – Отсутствие глубоких борозд на поверхности цемента корня после обработки зоноспецифическими кюретами и аппаратом Вектор. Увеличение 3500. 3D визуализация

Резюме главы 3

Все 3 метода удаления поддесневой микробной биопленки показали сопоставимую клиническую эффективность на основании статистически значимых улучшений в индексном состоянии тканей пародонта через 10 дней и 6 недель. Обнаружена статистически значимое снижение уровня кровоточивости (по

индексу ВОР) в группе 3 (Кюреты + УЗСВ) по сравнению с группой 1 (Кюреты), что может свидетельствовать о том, что включение Вектор-терапии в консервативный этап лечения значительно ускоряет сроки снятия воспаления в тканях пародонта. Это предположение было подтверждено и результатами корреляционного анализа, показавшего обратную корреляционную зависимость между методом удаления поддесневой микробной биопленки. Все 3 метода удаления микробной биопленки не приводили к полной эрадикации пародонтопатогенной микробиоты в сроки до 6 недель. Отмечалось изменение структуры микробного консорциума, выражающееся в изменении доли ключевых пародонтопатогенных микроорганизмов. Сравнительная микробиологическая оценка эффективности удаления поддесневой микробной биопленки у пациентов с выявила определённые различия при использовании традиционных методов (с ручными инструментами) и Вектор-терапии, которые позволили констатировать снижение доли ключевых представителей пародонтопатогенного микробного консорциума в общей бактериальной массе, которое было более выражено при у пациентов группы 1 (Кюреты) и Группы 3 (Кюреты +УЗСВ).

В полученных с помощью сканирующей электронной микроскопии микрофотографиях отмечалось отсутствие больших массивов поддесневой бактериальной биопленки, что свидетельствует в пользу того, что все из представленных методов эффективны в отношении удаления биопленки с поверхности цемента. Эффективность системы Вектор в отношении удаления поддесневой микробной биопленки и поддесневого зубного камня была несколько ниже, чем у ручных инструментов. В то же время, устройство Вектор минимально воздействовало на поверхность цемента и показало себя более консервативным с точки зрения удаления цемента с поверхности корня.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основным этиологическим фактором воспалительных заболеваний пародонта считается дисбиотическое микробное сообщество, существующее на поверхности корня зуба в виде сложно организованной биопленки [34; 46; 96]. Механическое разрушение поддесневой биопленки с целью элиминации пародонтопатогенных микроорганизмов и снижения бактериальной нагрузки является важнейшей стратегией в лечении хронического генерализованного пародонтита, направленной на остановку или замедление его прогрессирования [34; 44; 82; 112; 134; 181].

Однако разрушение и удаление поддесневой бактериальной биопленки с поверхности корня зуба может приводить к таким нежелательным явлениям как возникновение чрезмерной шероховатости поверхности цемента корня и чрезмерное удаление цемента [33; 88; 107; 156; 182]. Цемент корня зуба играет важную роль в регенерации тканей пародонтального комплекса [40; 53]. Сохранение и минимальное повреждение цемента во время проведения поддесневой обработки поверхности корня в качестве лечения является обязательным условием дальнейшего успешного восстановления структур сложно устроенного пародонтального комплекса. Методом выбора должен быть такой вид пародонтологического лечения, который совмещает высокий уровень очищения поверхности корня от бактериальной биопленки и зубных отложений и сохранение целостности структуры цемента зуба.

Поэтому целью нашего исследования стало повышение эффективности лечения хронического генерализованного пародонтита путем определения наиболее эффективной и безопасной методики поддесневой обработки поверхности корня. Для осуществления обозначенной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Сравнить клиническую эффективность различных методов удаления поддесневой микробной биопленки.

2. Провести сравнительную оценку эффективности различных методов удаления поддесневой микробной биопленки путем оценки качественного и количественного состава пародонтопатогенов красного и оранжевого комплексов до и после обработки поверхности корня зуба различными методами.

3. Оценить изменения структуры поддесневого бактериального сообщества после обработки поверхности корня зуба различными методами путем определения доли пародонтопатогенов в общей бактериальной.

4. Дать сравнительную оценку состояния поверхности цемента корня зуба в норме и при хроническом генерализованном пародонтите с помощью сканирующей электронной микроскопии с 3D визуализацией.

5. Оценить влияние различных методов удаления поддесневой микробной биопленки на поверхностные и ультраструктурные характеристики цемента корня зуба с помощью сканирующей электронной микроскопии с 3D визуализацией.

Диссертационное исследование проходило в 2 этапа. В первой части исследования оценивалась клиническая и микробиологическая эффективность удаления поддесневой микробной биопленки в 3 группах пациентов, разделенных по способу поддесневой обработки поверхности корня с помощью зоноспецифических кюрет Грейси, с помощью ультразвуковой системы Вектор и комбинированной методикой с последовательным использованием вначале зоноспецифических кюрет Грейси, а затем ультразвуковой системы Вектор на основании оценки изменения показателей пародонтологического статуса и результатов молекулярно-генетического исследования содержимого пародонтального кармана, проведенного при помощи ПЦР в реальном времени, до лечения, через 10 дней и через 6 недель после исследования. Данные сроки наблюдения обусловлены литературными данными о времени, необходимом для созревания бактериальной поддесневой биопленки (7-10 дней), и сроками формирования соединительно-тканного пародонтального прикрепления (от 6 недель). Во второй части исследования с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с 3D визуализацией проводили исследование поверхности корней, удаленных интактных зубов, зубов, подвергшихся воздействию

хронического генерализованного пародонтита, а также зубов с неблагоприятным прогнозом, которым перед удалением *in vivo* была проведено удаление поддесневой микробной биопленки с помощью методов перечисленных выше аналогично клинической части исследования. Современные высокоинформативные методы, такие как ПЦР в реальном времени и СЭМ, использованные нами в настоящем исследовании, позволили нам получить следующие результаты, которые будут обсуждены в данной главе.

Нами была проведена оценка пародонтологического статуса пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней и тяжелой степени и микробиологического состава содержимого пародонтальных карманов до лечения. Критериями включения пациентов в исследование являлись возраст старше 18 лет, наличие у пациента установленного в ходе обследования диагноза хронический генерализованный пародонтит средней и тяжелой степени, наличие у пациентов в полости рта не менее 14 зубов и не менее 5 зубов с глубиной зондирования ≥ 5 мм. Следует отметить, что несмотря на известные данные о том, что хронический генерализованный пародонтит является одной из основных причин потери зубов у взрослого населения в нашем исследовании средняя величина компонента «У» показателя КПУ принимала относительно невысокие значения (в группе 1 (Кюреты) – 3,0 (1,00 – 5,75), в группе 2 (УЗСВ) – 1,0 (0,00-4,00), в группе 3- (Кюреты + УЗСВ) – 2,0 (0,00-6,00)). Объяснением этому может служить то, что одним из критериев включения в исследование являлся факт первичного обращения пациентов к стоматологу-пародонтологу по поводу хронического генерализованного пародонтита. Также следует указать, на то, что несмотря на большой возрастной диапазон участников исследования от 26 до 70 лет (средний возраст $48 \pm 12,1$ лет) и очевидные различия в характере течения пародонтита (агрессивное течение и хроническое течение) на исходном уровне нами не удалось обнаружить статистически значимых различий в частоте обнаружения и количестве изучаемых микроорганизмов. Всемирный семинар 2017 г. по классификации заболеваний пародонта и состояния тканей вокруг имплантатов внес новые изменения в ранее принятую классификацию заболеваний пародонта

[39]. В соответствии с новой классификацией фенотипы заболевания, ранее признанные «хроническими» и «агрессивными», были сгруппированы в одну категорию «пародонтит» [32; 158].

После рандомизации пациентов в группы в зависимости от метода удаления поддесневой микробной биопленки не было обнаружено различий в пародонтологическом статусе и микробном составе содержимого пародонтального кармана. Такая однородность результатов до лечения позволяла нам предполагать последующий клинический анализ и молекулярно-генетический сравнительный анализ микробиоты пародонтальных карманов после удаления поддесневой микробной биопленки вполне корректным. К тому же методы лечения пародонтита, независимо от характера течения пародонтита и возраста являются одинаковыми.

В ходе нашего исследования было установлено, что наиболее часто обнаруживаемыми из 5 изучаемых пародонтопатогенных бактерий (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola*) были бактерии, так называемого, красного комплекса *T. forsythia*, *P. gingivalis* и *T. denticola* [170], частота выделения которых из содержимого пародонтального кармана составляла 98,1%, 89,7% и 86,9% соответственно. Как видно, наиболее распространенным пародонтопатогеном красного комплекса в нашем исследовании являлась *T. forsythia*, а не *P. gingivalis*, считающаяся ключевым пародонтопатогеном [97]. По одним данным, в бактериальном налете превалирует *T. forsythia*, по другим – *P. gingivalis*, по третьим – *T. denticola* [17; 18]. Частота обнаружения *A. actinomycetemcomitans* была значительно ниже остальных микроорганизмов и составляла 35,5 %. Похожие результаты были обнаружены и в других исследованиях частоты обнаружения, указанных пародонтопатогенных микроорганизмов [79; 150; 165]. В то же время литературные данные о частоте обнаружения пародонтопатогенных микроорганизмов достаточно неоднородны, что возможно объясняется этнической принадлежностью исследуемых популяций [72], способом отбора проб для микробиологического исследования, а также самим методом идентификации бактериальных микроорганизмов [48; 67; 165].

При оценке абсолютного количества указанных микроорганизмов по количественным и их долей в структуре бактериального сообщества те же бактерии «красного комплекса» *T. forsythia*, *P. gingivalis* и *T. denticola* показывали преимущество по сравнению с другими изучаемыми членами бактериального консорциума пародонтального кармана (*P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans*). Были обнаружены существенные статистически значимые положительные корреляционные взаимосвязи между количеством *T. forsythia* и *P. gingivalis* ($\rho=0,58$; $p<0,001$), *T. denticola* и *P. gingivalis* ($\rho=0,35$; $p <0,001$), *T. denticola* и *T. forsythia* ($\rho=0,48$; $p<0,001$, а также между абсолютным показателем ОБМ и количеством *T. forsythia* ($\rho=0,84$; $p<0,001$), ОБМ и *P. gingivalis* ($\rho=0,60$; $p<0,001$) ОБМ и *T. denticola* ($\rho=0,48$; $p<0,001$), подтверждающих их синергические взаимодействия в составе микробной биопленки [106].

Роль грибов и вирусов, которые вместе с бактериями обнаружены в поддесневой микробной биопленке, активно изучается [20]. Поэтому нами была предпринята попытка качественного и количественного определения дрожжеподобного гриба *Candida albicans* в составе биопленки пародонтального кармана у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом. Эти условно – патогенные микроорганизмы могут длительное время персистировать в различных нишах полости рта без клинических проявлений, однако при снижении иммунного статуса, изменении условий их обитания они могут вызывать появление заболеваний, поскольку дрожжеподобные грибы обладают факторами вирулентности, с помощью которых они вторгаются в ткани хозяина и уклоняются от его защитных механизмов. В нашем исследовании *Candida albicans* обнаруживалась у 9,3 % пациентов в содержимом пародонтального кармана, при этом медиана абсолютного количества *Candida albicans* составила 0,00 lg ГЭ/мл. Частота обнаружения *Candida albicans* у пациентов с ХГП в других исследованиях колеблется от 7,5% до 100 % [1; 9; 23; 54; 108; 109]. Мнения о роли бластов, выделенных из пародонтальных карманов, разнятся. Исследователи рассматривают дрожжеподобные грибы, как один из этиологических факторов в развитии, прогрессировании и осложненном течении ХГП. Есть предположения,

что грибы могут действовать в сочетании с пародонтопатогенами как ко-фактор, индуцируя выработку провоспалительных цитокинов, что в результате приводит к возникновению заболеваний пародонта. Наличие грибов *Candida albicans* было продемонстрировано в соединительной ткани пародонта пациентов в ассоциации с высоко инвазивными анаэробными бактериями, такими как *P. gingivalis*, *P. intermedia* и *A. actinomycetemcomitans*. Малое количество и незначительная доля *Candida albicans* в структуре поддесневой сообщества, а также отсутствие корреляционных зависимостей с количеством исследуемых пародонтопатогенных бактерий в нашем исследовании не позволяет точно судить о их роли в течении ХГП. Однако факт обнаружения этого дрожжеподобного гриба может иметь значение при назначении системной антибиотикотерапии, нередко используемой в комплексном лечении ХГП. Предположительно антибиотики могут способствовать прогрессированию роста дрожжевых грибов и усиливать колонизацию пародонтального кармана.

Как уже было сказано, основной целью лечения хронического генерализованного пародонтита является установление адекватного инфекционного контроля, т. е. снижение бактериальной нагрузки при индивидуальных порогах воспаления / заболевания [66; 199]. Этот контроль измеряется отсутствием клинических признаков воспаления, отсутствием кровоточивости при зондировании пародонтальных карманов, уменьшением глубины пародонтальных карманов [173]. На основании этого положения мы провели сравнительную оценку клинической эффективности различных методов удаления поддесневой микробной биопленки с поверхности корня.

Все исследуемые методы удаления поддесневой микробной биопленки, а именно использование зоноспецифических кюрет Грейси, ультразвуковая система Вектор с металлическими насадками и полировочной суспензией и комбинированная методика с последовательным использованием вышеуказанных инструментов приводили к статистически значимым внутригрупповым клиническим улучшениям, заключающимся в улучшении уровня гигиены полости рта по индексу РІ, снижении кровоточивости при зондировании, уменьшении

потери клинического прикрепления CAL, как через 10 дней, так и через 6 недель после проведенной процедуры. Что позволяет считать их использование в базовом этапе лечения хронического генерализованного пародонтита обоснованным и эффективным, и нашло подтверждение в большом количестве работ других исследователей [63; 66; 86; 89; 114; 122; 138; 144; 145; 147; 173; 184]

Сравнительная клиническая оценка эффективности удаления поддесневой микробной биопленки у пациентов с ХГП средней и тяжелой степени выявила определённые различия при использовании традиционных методов (с ручными инструментами) и включении Вектор-терапии, которые позволили констатировать статистически значимое наиболее низкое значение индекса кровоточивости при зондировании в группе 3 (Кюреты + УЗСВ), равное 0,3 (0,15;0,34), по сравнению с группой 1 (Кюреты), равное 0,5 (0,32;0,50), через 10 дней после проведения процедуры удаления поддесневой микробной биопленки. Следует отметить, что значение индекса кровоточивости при зондировании в группе 2 (УЗСВ) через 10 дней после лечения составляло 0,4 (0,20;0,40) и было ниже значения индекса в группе 1 (Кюреты), но это различие не было статистически значимым. Также установленные корреляционные связи между динамикой индекса кровоточивости при зондировании и методом удаления поддесневой микробной биопленки в процессе проведения пародонтологического лечения позволяют предположить, что включение использования УЗСВ в консервативный этап лечения ХГП позволяет сократить сроки купирования воспалительных реакций в тканях пародонта. Аналогичный результат был получен в исследовании, который авторы исследования объясняют более гладкой поверхностью корней после обработки аппаратом Вектор без царапин и канавок, которые могли бы стимулировать реколонизацию поддесневых бактерий [89].

Относительно других оцениваемых клинических параметров состояния пародонта таких как уровень гигиены полости рта по индексу РІ, глубины пародонтальных карманов при зондировании (ГПК) и потере пародонтального прикрепления (CAL) не наблюдалось статистически значимых различий при межгрупповых сравнениях в показателях на сроках наблюдения через 10 дней и 6

недель после лечения в зависимости от метода поддесневой обработки поверхности корня. Однако внутри каждой группы отмечались статистически значимые улучшения по вышеперечисленным клиническим параметрам на всех сроках наблюдения, заключающиеся в улучшении уровня гигиены полости рта, уменьшении ГПК и САЛ. Данный факт находит подтверждение и в других исследованиях, в которых не было обнаружено преимуществ одного из методов над другим [63; 86; 89; 90; 118; 144; 145; 147; 173; 175; 177; 195].

Установленные корреляционные связи между динамикой индекса кровоточивости при зондировании и методом удаления поддесневой микробной биопленки в процессе проведения пародонтологического лечения позволяют аргументировать целесообразность комбинированного подхода в протоколе лечения с использованием зоноспецифических кюрет и устройства Вектор.

Лечение пародонтита направлено на снижение общей бактериальной нагрузки и подавление патогенных видов в поддесневом микробиоме путем механического разрушения и удаления поддесневой биопленки. Конечная целью этого лечения является восстановление микробиома, совместимого с клинически здоровым состоянием пародонта [131], поскольку при пародонтите различные виды бактерий в поддесневой биопленке находятся в дисбиотическом состоянии [102]. Поэтому нами была проведена сравнительная оценка эффективности удаления поддесневой микробной биопленки различными методами на основании изменения микробиологических параметров, полученных в результате проведения ПЦР в реальном времени.

Не удалось установить закономерностей в изменении частоты обнаружения пародонтопатогенных микроорганизмов в группах исследования в зависимости от метода удаления поддесневой микробной биопленки, что может свидетельствовать о том, что оценка частоты обнаружения пародонтопатогенов до и после лечения может быть нецелесообразной в качестве критерия эффективности проведенного лечения.

При оценке изменения абсолютного количества исследуемых микроорганизмов в группах исследования, исходя из того, что на исходном уровне

группы были сопоставимы по микробиологическим показателям ни один из исследуемых методов удаления поддесневой микробной биопленки не показал преимуществ. Изменения в абсолютном содержании исследуемых микроорганизмов не демонстрировали закономерность, связанную с методом лечения, но наблюдалась тенденция к наиболее значимому снижению количества каждого из исследуемых микроорганизмов через 10 дней после исследования, а к 6 неделям после лечения наблюдался рост показателя абсолютного количества и количество микроорганизма либо достигало исходных значений, либо оставалось незначительно сниженным по сравнению с исходным уровнем. Так как методы удаления поддесневой микробной биопленки не являются селективными по отношению к определенным видам микроорганизмов, то подобные хаотичные изменения в количестве бактерий можно объяснить тем фактом, что поддесневое микробное сообщество является динамичной структурой и существует множество факторов, влияющих на изменение в его составе. Интересные находки были получены в отношении *A. actinomycetemcomitans*, количество которой не изменялось после лечения на всех сроках наблюдения независимо от метода лечения. А также в отношении *Candida albicans*, количество которой показало статистически значимое увеличение через 6 недель в группе 2 (УЗСВ). Данный факт требует дальнейшего изучения в лонгитюдных исследованиях.

Наиболее наглядные результаты при оценке микробиологической эффективности удаления поддесневой микробной биопленки были получены при изучении изменения структуры микробного сообщества пародонтального кармана путем вычисления доли пародонтопатогенных микроорганизмов относительно общей бактериальной массы. Отмечалось изменение структуры микробного консорциума, выражающееся в изменении доли ключевых пародонтопатогенных микроорганизмов. Сравнительная микробиологическая оценка позволила констатировать снижение суммарной доли ключевых представителей пародонтопатогенного микробного консорциума (бактерий красного комплекса – *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) в общей бактериальной массе и через 10 дней, и через 6 недель относительно исходных значений, которое было более выражено

у пациентов группы 1 (Кюреты) и Группы 3 (Кюреты + УЗСВ), в сравнении с группой 2 (УЗСВ). При чем в группе 1 (Кюреты) к 6 неделям наблюдалась тенденция к незначительному росту доли бактерий красного комплекса по сравнению со сроком 10 дней после лечения, а в группе 3 (Кюреты + УЗСВ) на сроке 10 дней – 6 недель после лечения доля бактерий красного комплекса продолжала снижаться. Данная динамика может свидетельствовать о более существенных изменениях в структуре микробного сообщества при использовании комбинированной методики лечения. Уменьшение доли таксонов, ассоциированных с пародонтитом, наблюдалось и в других исследованиях, посвященных изучению динамики поддесневого микробного сообщества у пациентов с ХГП после лечения. Результаты этих исследований также регистрировали сдвиг в поддесневом микробиоме, заключающийся в уменьшении доли бактерий красного комплекса [136; 165]. Известно, что сразу после санации наблюдается значительное снижение количества пародонтопатогенов [102]. Это нашло подтверждение в проведенном нами исследовании. Все изучаемые методы удаления поддесневой микробной биопленки приводили к статистически значимому снижению пародонтопатогенов красного комплекса (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) через 10 дней после лечения. Реколонизация бактерий в остаточных пародонтальных карманах неизбежна в период после проведенной процедуры поддесневой обработки поверхности корня, однако скорость реколонизации может быть различной. Некоторые исследования показали, что со временем, обычно от трех до шести месяцев, микробиота, по-видимому, восстанавливается до той же нагрузки или состава, что и до поддесневой санации [102; 135; 136]. В нашем исследовании в промежутке наблюдения 10 дней – 6 недель у большинства микроорганизмов наблюдалась тенденция к возвращению к исходному уровню значений, а статистически значимое снижение абсолютного количества наблюдалось только относительно *T. forsythia* в группе 1 (Кюреты) и Группе 3 (Кюреты + УЗСВ). Наименее отчетливые изменения в структуре поддесневого микробного сообщества и более быстрая тенденция к реколонизации наблюдалась в группе 2 (УЗСВ). Наиболее выраженные изменения в микробиоме,

закрывающиеся в последовательной тенденции к снижению суммарной доли бактерий красного комплекса наблюдалось в группе 3 (Кюреты + УЗСВ).

Также мы наблюдали изменение характера корреляционных связей между количеством бактерий красного комплекса после проведенного лечения в зависимости от метода удаления микробной биопленки. Следует заметить, что наиболее выраженные изменения этих связей были обнаружены в группе 1 (Кюреты) и в группе 3 (Кюреты + УЗСВ) через 6 недель после лечения. Изменения заключались в исчезновении корреляционных взаимосвязей между *P. gingivalis*, *T. forsythia* и *T. denticola*, что свидетельствует о разрыве синергетических взаимодействий между пародонтопатогенными микроорганизмами, обладающими наиболее агрессивными факторами вирулентности и патогенности по отношению к тканям пародонта. Можно предположить, что введение пробиотических микроорганизмов в момент разрыва этих патогенных синергетических взаимодействий, способствовало бы возможному поддержанию нормальных соотношений микроорганизмов, в результате занятия освободившихся микробных ниш. Таким образом поддесневая обработка поверхности корня с помощью различных инструментов и методов вряд ли полностью устранит предполагаемые патогены, но при его тщательном выполнении она может создать здоровую экосистему, изменяя численность и состав микробного сообщества, а также способствовать созреванию иммунного ответа хозяина [102].

Качество проведенной поддесневой обработки поверхности корня (*scaling & root planning, root debridement* в англоязычной литературе) определяется не только удалением микробной биопленки с поверхности корня зуба, но и состоянием цемента корня. Цемент корня занимает промежуточное положение между дентином корня и периодонтальной связкой и, являясь компонентом твердых тканей самого зуба, функционально принадлежит пародонту. Цемент можно описать как минерализованную ткань, которая покрывает корни зубов и служит для прикрепления зуба к альвеолярной кости через коллагеновые волокна периодонтальной связки. Помимо своей незаменимой роли в прикреплении зуба к окружающей альвеолярной кости, цемент корня обладает важными

адаптационными и репаративными функциями, которые имеют важное значение для поддержания окклюзионных взаимоотношений, а также для целостности поверхности корня и его функции в опорно-удерживающем аппарате зуба. К тому же цемент представляет собой матрицу, богатую факторами роста, которые могут влиять на активность различных типов клеток пародонта и участвовать в регенерации структур пародонта [29; 40; 53; 74].

В проведенном нами исследовании было обнаружено, что поверхность неповрежденного цемента интактных зубов не является абсолютно гладкой, а имеет либо галечную поверхность, либо куполообразную (или похожую на пористый шоколад) в зависимости от исследуемой зоны корня. Подобная поверхность по всей видимости необходима для прикрепления волокон периодонтальной связки, в частности шарпеевских волокон. Эти данные нашли подтверждение в других исследованиях, описывающих подобную структуру поверхности цемента [38; 47; 113; 161; 200].

Также наше исследование подтвердило предположение о том, что прогрессирование хронического пародонтита приводит к изменениям в структуре цемента корня. Микрофотографии цемента зубов, пораженных пародонтитом, демонстрировали утрату холмистого строения поверхности цемента, участки с выраженной деструкцией поверхности цемента, его деминерализацией, наличием множественных кратеров и зон глубокой резорбции, обнажением внутренних волокнистых слоев или подстилающего дентина и отверстий дентинных канальцев. Следует отметить, что модификация классических изображений СЭМ в 3D давала более достоверное представление о рельефе поврежденного цемента. Эти изменения могут носить необратимый характер и иметь важное значение для пародонтальной терапии и последующей регенерации тканей пародонта. Незначительные непатологические дефекты резорбции на поверхности корней обычно обратимы и заживают за счет репаративного цементаобразования, которое, очевидно, повторяет развитие цементагенеза. Необратимое повреждение может произойти, когда поверхность цемента подвергается воздействию окружающей среды пародонтального кармана и полости рта [38; 53; 139; 141; 142].

Существенной задачей регенерации пародонта является формирование нового цементного слоя и восстановление соединительной и эпителиальной связи с цементом [153]. Влияние изменения состава и структуры цемента на регенерацию пародонта требует дальнейшего изучения, однако очевидным является тот факт, что воздействие агрессивных способов обработки поверхности корня зуба на уже поврежденный цемент могут значительно затруднить или даже сделать невозможной полноценное восстановление структур пародонтального комплекса.

На поверхности цемента в зубах, удаленных по поводу пародонтита, обнаруживалась микробная биопленка, которая представляла из себя собой сложную флору, состоящую из кокковидных бактерий, коротких и длинных палочек, нитевидных и веретенообразных бактерий и спирохет. Можно было наблюдать комбинации различных морфологических типов бактерий. К тому же на поверхности цемента зубов, удаленных по поводу пародонтита, отмечалось наличие поддесневых зубных отложений листовидной формы или в виде чешуек. Бактериальные ферменты и кислотные метаболиты могут присутствовать в достаточно высоких концентрациях для того, чтобы вызвать частичную деминерализацию и локализованные повреждения. В результате этого может произойти бактериальная инвазия в более глубокие слои цемента. Наличие лакунарных дефектов было описано ранее как общая черта в корневых поверхностях пародонтологически пораженных зубов человека, которые впоследствии могут колонизироваться поддесневой бактериальной биопленкой, не иметь тенденций к восстановлению и плохо поддаваться обработке различными инструментами. Возможно, бактерии, оставшиеся в этих лакунах, являются резервуарами, ответственны за реколонизацию механически очищенных поверхностей, что приводит к рецидиву заболеваний пародонта. Также имеются сведения о том, что бактерии способны внедряться в дентин корня через отверстия дентинных канальцев. Соответственно, отсутствие или повреждение цемента на поверхности корня, упрощает им эту задачу. Различные токсичные продукты от вторгающихся бактерий могут вызывать воспалительные реакции и в пульпе зуба [197].

Последние экспериментальные исследования подтверждают обнаружение бактериальных эндотоксинов в поверхностных слоях цемента, но связывание этих эндотоксинов с поверхностью цемента слабое. Эти открытия позволили изменить концепцию поддесневой обработки корня и цемента. Важность полного удаления обнаженного цемента традиционной обработкой для удаления бактериальной биопленки и бактериальных эндотоксинов подвергнута сомнению.

В нашем исследовании мы сравнивали поверхность цемента после удаления поддесневой микробной биопленки с помощью ручных инструментов (зоноспецифических кюрет), ультразвуковой системой Вектор (УЗСВ) и комбинированной методики с последовательных использование ручных зоноспецифических кюрет и ультразвуковой системы Вектор.

В полученных нами СЭМ микрофотографиях отмечалось отсутствие больших массивов поддесневой бактериальной биопленки, что свидетельствует в пользу того, что все из представленных методов эффективны в отношении удаления биопленки с поверхности цемента. Однако, отдельные бактериальные скопления все же обнаруживались во всех исследуемых образцах. Это находит подтверждение и в других работах, свидетельствующих о том, что снижение уровня бактериальной нагрузки ниже определенного уровня является эффективной стратегией в лечении воспалительных заболеваний пародонта [33].

Что касается наличия остаточных зубных отложений, было обнаружено что в группе исследования, в которой поддесневая обработка поверхности корня проводилась с помощью УЗСВ отмечалось незначительное количество остаточного минерализованного зубного камня. Возможно, это объяснить тем, что в наконечнике УЗСВ, что генерируются осциллирующие ультразвуковые колебания передаются на насадку через резонансный контур, в результате инструменту сообщаются упорядоченные колебания параллельно очищаемой поверхности корня, что способствует более мягкому удалению поддесневых зубных отложений и микробной биопленки, но, видимо, недостаточно эффективному при большом количестве твердых зубных отложений.

Относительно поверхностных характеристик цемента и потери количества цемента во время инструментальной поддесневой обработки в исследуемых группах были получены следующие результаты. После обработки поверхности корня ручными зоноспецифичными кюретами отмечалась относительно гладкая и однородная поверхность цемента, отмечались глубокие борозды, показывающие направление движения инструмента. Можно отметить, что обработанная поверхность имела выровненную топографическую структуру из-за направленного инструментирования. Можно предположить, что в результате такой обработки удаляется значительное количество цемента. Поверхность цемента после удаления поддесневой микробной биопленки и обработки с помощью УЗСВ демонстрирует отсутствие глубоких борозд на поверхности и сохранение структуры поверхности цемента с его минимальной потерей. Даже в тех участках, где поверхность цемента предположительно изначально была поврежденной, дальнейшая обработка УЗСВ не приводила к дополнительным его повреждениям. Поверхность цемента после удаления поддесневой микробной биопленки и обработки с помощью комбинации зоноспецифических кюрет и УЗСВ демонстрирует гладкую однородную поверхность без наличия глубоких борозд. Можно предположить, что гладкость обработанной поверхности обусловлена воздействием полировочной суспензии мелкодисперсного гидроксиапатита на поверхность цемента с бороздами после обработки ручными зоноспецифическими кюретами.

Большинство исследований показывают, что более гладкая поверхность цемента достигается с помощью ручных кюрет, чем с помощью ультразвуковых устройств. Однако, данная гладкость может обусловлена направленным инструментированием поверхности и выравнивания топографии цемента. Ультразвуковые инструменты для обработки поверхности корня в свою очередь показало, что оно более консервативно с точки зрения удаления цемента с поверхности корня. Многие авторы показали, что для получения гладкой и очищенной поверхности необходимо удалить незначительное количество зубной ткани [33; 140].

Ручные инструменты оставляют после себя более гладкую поверхность, но ультразвуковые устройства оказались более консервативными с точки зрения удаления цемента с поверхности корня зуба. В результате до сих пор не ясно, в какой степени желательно преднамеренное удаление цемента корня. Многие авторы показали, что для получения гладкой и очищенной поверхности необходимо удалить незначительное количество тканей зуба [33; 140]. С другой стороны, когда визуальная чистота и тактильная гладкость используются в качестве конечных точек поддесневой обработки, следует учитывать тенденцию к чрезмерной обработке поверхности корня, поскольку часто бывает трудно отличить заполированную поверхность от грубого, но чистого цемента. Обработка корней ручными инструментами может быть затруднена в области фуркации, анатомических бороздках корня и глубоких пародонтальных карманах из-за физических размеров инструмента, где ультразвуковые инструменты могут быть инструментами выбора.

В нашем исследовании было обнаружено, что поверхность цемента, обработанная с помощью ультразвуковой системы с вертикальными ультразвуковыми колебаниями Вектор, приводит к минимальному изменению поверхности цемента, но является не настолько эффективной в удалении поддесневых минерализованных зубных отложений по сравнению с ручными инструментами и комбинации ручных зоноспецифических кюрет и устройства Вектор.

Крайне важно выбрать инструменты и способ обработки поверхности корня, которые минимизируют риск возникновения морфологических изменений на поверхности корня, чрезмерного удаления цемента и в то же время будут высоко эффективными в отношении удаления микробной биоплёнки и зубных отложений. Поэтому постоянно предпринимаются попытки усовершенствовать или изобрести новые методы нехирургической пародонтальной терапии. Некоторые исследования пришли к выводу, что гладкая поверхность корней не является критическим фактором для успешного результата лечения [196]. Однако между учеными нет согласия относительно того, способствует ли гладкая поверхность

корня заживлению пародонта, поскольку фибробласты пародонта лучше прилипают к более грубой поверхности. Это может ускорить образование соединения эпителия [156]. Однако оптимальная шероховатость поверхности корней, которая индуцирует адгезию фибробластов, но в то же время не способствует образованию биопленки, неизвестна. Поскольку этап поддерживающего лечения ХГП является неотъемлемым для контроля реколонизации бактериальной биопленки и поддержания долгосрочного здорового гомеостаза микроорганизмов, регулярная потеря цемента в результате обработки поверхности корня с помощью зоноспецифических ручных инструментов в течение многих лет может иметь серьезный кумулятивный эффект и может стать серьезной проблемой, вызывающей такие осложнения, как гиперчувствительность, эндодонтические осложнения и в конечном итоге влиять на выживаемость зуба.

В *in vivo* исследованиях было показано, что шероховатость поверхности корня может оказывать незначительное влияние на формирование нового пародонтального прикрепления и заживление в тканях пародонта, однако она может способствовать накоплению зубного налета [33; 182]. Гладкая поверхность корня, однако, очень важна в области десневого края и при экспозиции цемента в полость рта в результате рецессии, потому что гладкая поверхность будет менее накапливать зубной налет [182].

Поскольку цемент корня зуба играет значительную роль в регенерации тканей пародонтального комплекса и способ удаления микробной биопленки с его поверхности может стать важным фактором в последующем восстановлении соединительнотканного прикрепления, необходимо выбирать оптимальные методы поддесневой обработки поверхности корня, эффективные с точки зрения удаления биопленки и щадящие по отношению к цементу корня зуба.

ВЫВОДЫ

1. Сравнительная оценка клинической эффективности удаления поддесневой микробной биопленки с помощью ручных инструментов, ультразвуковой системы и комбинированной методики показала, что все методы сопоставимо эффективны на основании статистически значимого улучшения уровня гигиены полости рта, снижения кровоточивости при зондировании, уменьшении глубины зондирования пародонтальных карманов и потери пародонтального прикрепления на сроках наблюдения 10 дней и 6 недель после лечения. Включение обработки поверхности корня ультразвуковой системой с полировочной суспензией в консервативный этап лечения хронического генерализованного пародонтита средней и тяжелой степени приводило к ускорению купирования воспалительных явлений в тканях пародонта на основании более низкого показателя индекса кровоточивости десны в группе, где удаление поддесневой микробной биопленки проводилось с помощью комбинированной методики через 10 дней после лечения, который составил 0,3 (0,19-0,36), в сравнении с индексом кровоточивости 0,40 (0,28-0,53) в группе, где удаление поддесневой микробной биопленки проводилось с помощью ручных инструментов ($N=14,9$; $p=0,015$).

2. Сравнительная оценка качественного и количественного состава пародонтопатогенов «красного комплекса» установила, что исследуемые методы удаления поддесневой микробной биопленки не показали статистически значимых различий при межгрупповых сравнениях для оценки частоты обнаружения и абсолютного количества микроорганизмов на сроках наблюдения 10 дней и 6 недель. Через 10 дней после лечения внутри каждой группы статистически значимо снижалось абсолютное количество бактерий «красного комплекса» (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*), а через 6 недель статистически значимое снижение по сравнению с исходным значением наблюдалось только у *T. forsythia* в группе 1 (Кюреты) и группе 3 (Кюреты+Ультразвуковая Система).

3. Изменение структуры поддесневого бактериального сообщества после обработки поверхности корня выражалось в уменьшении суммарной доли пародонтопатогенных бактерий красного комплекса (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) на протяжении 6 недель после лечения. Наиболее значительные сдвиги в структуре поддесневого микробиома наблюдались в группе 1 (Кюреты) и в группе 2 (Кюреты + Ультразвуковая Система).

4. При сравнительной оценке состояния поверхности цемента корня зуба в норме и при хроническом генерализованном пародонтите с помощью сканирующей электронной микроскопии с 3D визуализацией было обнаружено, что интактный цемент корня зуба имеет поверхность в виде «галечной» мостовой, либо «куполообразную» поверхность, являющуюся основой для прикрепления волокон периодонтальной связки. Потеря пародонтального прикрепления и воздействие микробной биопленки на цемент корня зуба при хроническом генерализованном пародонтите средней и тяжелой степени приводили к необратимым структурным изменениям поверхности цемента, выражающимися в утрате характерного строения поверхности, появлений участков выраженной деструкции и деминерализации вплоть до обнажения нижележащих слоев дентина.

5. Сканирующая электронная микроскопия с 3D визуализацией показала, что обработка поверхности корня зуба ручными инструментами приводит к формированию относительно гладкой и однородной поверхности цемента, за счёт удаления значительного количества поверхностного слоя цемента. Обработка поверхности корня зуба с помощью ультразвуковой системы с полировочной жидкостью является более щадящей и не приводит к дополнительным повреждениям цемента, однако является недостаточной эффективной при больших количествах поддесневых зубных отложений.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней и тяжелой степени, впервые обратившиеся за пародонтологическим лечением, у которых отмечается большое количество поддесневых зубных отложений, а также у пациентов в период обострения хронического генерализованного пародонтита, когда имеются наиболее значительные сдвиги в микробиоме пародонтального кармана в сторону патогенных микроорганизмов и воспалительные явления в тканях пародонта наиболее ярко выражены, рекомендовано проводить обработку поверхностей корней зубов и удаление поддесневой микробной биопленки комбинированной методикой с последовательным использованием ручных инструментов (зоноспецифических кюрет Грейси) и ультразвуковой системы с полировочной суспензией в одно посещение.

2. В поддерживающей пародонтальной терапии рекомендовано использование только ультразвуковой системы с полировочной суспензией в виду сопоставимой клинической и микробиологической эффективности в сравнении с другими исследуемыми методами с целью сохранения поверхности цемента корня зуба, так как этот метод демонстрировал наиболее щадящее отношение к поверхности цемента корня благодаря линейным колебаниям насадки с малой амплитудой что имеет значение для достаточно частых сеансов поддерживающей пародонтальной терапии (1 раз в 3 месяца).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ГПК – Глубина пародонтального кармана

ГЭ – Геном-эквивалент

ДИ – Доверительный интервал

КЛКТ – Конусно-лучевая компьютерная томография

КПУ – Кариес-пломба-удаленный

ЛПС – Липолисахарид

ОБМ – Общая бактериальная масса

ОПТГ – Ортопантомография

ПЦР – Полимеразная цепная реакция

СЭМ – Сканирующая электронная микроскопия

УЗСВ – Ультразвуковая система Вектор

ХГП – Хронический генерализованный пародонтит

16S – Компонент малой субъединицы бактериальных рибосом

ANOVA – Analysis of variance (Дисперсионный анализ)

ВОР – Bleeding on probing (Индекс кровоточивости при зондировании)

CAL – Clinical attachment loss (Клиническая потеря пародонтального прикрепления)

Ct – Пороговый цикл в ПЦР

F – Критерий Фридмана

H – критерий Краскела-Уоллиса

HMP – Human Microbiome Project (Проект Микробиом человека)

Lg – Десятичный логарифм

M – Среднее арифметическое

Me - медиана

P – p-value (уровень статистической значимости)

PI – Plaque index (Индекс зубного налета)

r – Коэффициент линейной корреляции Пирсона

Q₁ – Нижний квартиль

Q_3 – Верхний квартиль

SD – Стандартное отклонение

ρ – Коэффициент ранговой корреляции Спирмена

χ^2 – Критерий Хи-квадрат Пирсона

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Видовой состав микрофлоры в содержимом пародонтальных карманов при обострении хронического генерализованного пародонтита / Ф. З. Мирсаева, Т. В. Ханов, Т. Н. Кузнецова, О. В. Буйлова // Проблемы стоматологии. – 2018. – Т. 14. – № 3. – С. 29-34.
2. Дмитриева, Л. А. Сравнительная оценка качества обработки корней зубов при использовании ручных и ультразвуковых инструментов с помощью сканирующего электронного микроскопа / Л. А. Дмитриева, В. В. Яшкова // Пародонтология. – 2014. – Т. 4. – № 73. – С. 3-5.3
3. Значение вирусно-бактериального консорциума в возникновении и развитии хронического пародонтита / В. Н. Царев, Е. А. Ягодина, Т. В. Царева, Е. Н. Николаева // Пародонтология. – 2020. – Т. 25. – № 2. – С. 84-89.
4. Ипполитов, Е. В. Мониторинг формирования микробной биопленки и оптимизация диагностики воспалительных заболеваний пародонта: 03.02.03 «Микробиология», 14.03.09 «Клиническая иммунология, аллергология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук/ Ипполитов Евгений Валерьевич; Мос. гос. мед.-стом. ун-т.- Москва :2016.-48с.
5. Ипполитов, Е. В. Особенности морфологии биопленки пародонта при воспалительных заболеваниях десен (хронический катаральный гингивит, хронический пародонтит, кандидо-ассоциированный пародонтит) по данным электронной микроскопии / Е. В. Ипполитов, Л. В. Диденко, В. Н. Царев // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – Т. 60. – № 12. – С. 59-64.

6. Ипполитов, Е. В. Биопленка полости рта - индукторы сигнальных систем врожденного иммунитета / Е. В. Ипполитов, Е. Н. Николаева, В. Н. Царев // *Стоматология*. – 2017. – Т. 96. – № 4. – С. 58.
7. Исследование *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* и комплекса *Treponema denticola/Tanerella forsythensis* в качестве этиологического фактора хронического пародонтита методами количественной ПЦР / О. О. Янушевич, Р. А. Айвазова, А. В. Шибаета [и др.] // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2015. – Т. 160. – № 10. – С. 502-504.
8. Методы культивирования и изучения бактериальных биопленок / И. Р. Симонова, С. Н. Головин, Л. М. Веркина [и др.] // *Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки*. – 2017. – Т. 1. – № 193. – С. 73-79.
9. Новые возможности в визуализации поддесневой микробной биопленки с помощью сканирующей электронной микроскопии / Е. С. Слажнева, Л. А. Елизова, Е. С. Лобода [и др.] // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. – 2020. – Т. 15. – № 4. – С. 544-548.
10. Окулич, В. К. Особенности течения хронического периодонтита, ассоциированного с биопленкообразующими микроорганизмами / В. К. Окулич, Н. Э. Колчанова, Ю. П. Чернявский // *Пародонтология*. – 2018. – Т. 24. – № 4. – С. 9-14.
11. Оценка воздействия инструментальных пародонтологических систем на микробиоценоз и местный иммунный статус полости рта в комплексном лечении больных с воспалительными заболеваниями пародонта. / В. В. Еричев, Т. В. Аксенова, Е. С. Овчаренко, С. В. Мелехов // *Пародонтология*. – 2017. – Т. 22. – № 3. – С. 49-54.
12. Плотников, Ф. В. Комплексное лечение пациентов с гнойными ранами в зависимости от способности микроорганизмов-возбудителей формировать

- биопленку / Ф. В. Плотников // *Новости хирургии.* – 2014. – Т. 22. – № 5. – С. 575-581.
13. Применение метода ПЦР в реальном времени для изучения микробиома пародонта у пациентов с сочетанной патологией гастродуоденальной зоны и хроническим пародонтитом / А. В. Шиббаева, Р. А. Айвазова, Д. В. Ребриков [и др.] // *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* – 2016. – Т. 34. – № 1. – С. 26-30.
 14. Разина, И. Н. Выявление дрожжеподобных грибов рода *Candida* у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом / И. Н. Разина, М. Г. Чеснокова, В. Б. Недосеко // *Стоматология.* – 2017. – Т. 96. – № 4. – С. 4-6.
 15. Слажнева, Е. С. Пародонтопатогены: новый взгляд. Систематический обзор. Часть 1. / Е. С. Слажнева, В. Г. Тихомирова, Е. А. Атрушкевич // *Стоматология детского возраста и профилактика.* – 2020. – Т. 20. – № 1. – С. 70-76.
 16. Слажнева, Е. С. Пародонтопатогены: новый взгляд. Систематический обзор. Часть 2. / Е. С. Слажнева, В. Г. Тихомирова, Е. А. Атрушкевич // *Стоматология детского возраста и профилактика.* – 2020. – Т. 20. – № 2. – С. 55-63.
 17. Современные технологии исследования бактериальных пленок / И. В. Чеботарь, А. Г. Погорелов, В. А. Яшин [и др.] // *Современные технологии в медицине.* – 2013. – № 1. – С. 14-18.
 18. Соотношение патогенных представителей микробиоценоза пародонтальных карманов при пародонтите разной степени тяжести / О. А. Зорина, А. А. Кулаков, О. А. Борискина, Д. В. Ребриков // *Acta Naturae.* – 2011. – Т. 3. – № 2(9). – С. 103-106.
 19. Сравнительная оценка изменения микробиома пародонта у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом после проведения Вектор-

- терапии. / Е. С. Слажнева, В. Г. Атрушкевич, Л. Ю. Орехова [и др.] // Пародонтология. – 2020. – Т. 25. – № 3. – С. 190-200.
20. Сравнительная оценка эффективности удаления микробной биопленки с поверхности зубов электрическими зубными щетками различных типов вращения щетинок / В. Царев, Н. Омеляненко, В. Атрушкевич, Л. Елизова // Пародонтология. – 2017. – Т. 22. – № 3. – С. 19-23.
21. Сравнительная характеристика комбинированных способов удаления поддесневых зубных отложений / Л. Ю. Орехова, О. В. Прохорова, Л. И. Шалами [и др.] // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2020. – Т. 20. – № 2. – С. 109-115.
22. Сравнительная характеристика микробиоценозов пародонтальных карманов при хроническом генерализованном и агрессивном пародонтите до и после комплексного лечения / О. А. Зорина, И. С. Беркутова, Б. А. Рехвиашвили, Н. К. Аймадинова // Российский стоматологический журнал. – 2013. – № 1. – С. 27-31.
23. Сравнительное исследование количественного и видового состава дрожжеподобных грибов рода *Candida* у больных хроническим генерализованным пародонтитом разной степени тяжести / Г. В. Волченкова, С. В. Кирюшенкова, А. И. Николаев [и др.] // Вестник РАМН. – 2017. – Т. 72. – № 2. – С. 143-148.
24. Тихомирова, Е. А. β -дефензины и воспалительные заболевания пародонта: систематический обзор / Е. А. Тихомирова, Е. С. Слажнева, В. Г. Атрушкевич // Пародонтология. – 2020. – Т. 25. – № 4. – С. 276-286.
25. Царев, В. Н. Микробиология, вирусология и иммунология полости рта : учеб. / Царев В. Н. и др. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2016. - 576 с. - ISBN 978-5-9704-3913-5.
26. Царев, В. Н. Пародонтопатогенные бактерии - основной фактор возникновения и развития пародонтита / В. Н. Царев, Е. Н. Николаева, Е.

- В. Ипполитов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2017. – № 5. – С. 101-112.
27. Царев, В. Н. Особенности диагностики инвазивной кандидозной инфекции слизистой оболочки полости рта и тканей пародонта / В. Н. Царев, С. А. Суркова, М. М. Давыдова // Медицинский алфавит. – 2012. – № 4. – С. 12-16.
28. 3DSEM: A 3D microscopy dataset. / A. P. Tafti, A. B. Kirkpatrick, J. D. Holz [et al.] // Data in brief. – 2016. – Vol. 6. – P. 112-116.
29. A comparative scanning electron microscopy study between the effect of an ultrasonic scaler, reciprocating handpiece, and combined approach on the root surface topography in subgingival debridement / L. Dassatti, P. F. Manicone, S. Lauricella [et al.] // Clinical and Experimental Dental Research. – 2020. – Vol. 6. – № 4. – P. 470-477.
30. A core human microbiome as viewed through 16S rRNA sequence clusters / S. M. Huse, Y. Ye, Y. Zhou, A. A. Fodor // PloS one. – 2012. – Vol. 7. – № 6. – P. e34242.
31. A Filifactor alocis-centered co-occurrence group associates with periodontitis across different oral habitats / H. Chen, Y. Liu, M. Zhang [et al.] // Scientific reports. – 2015. – Vol. 5. – P. 9053.
32. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification / J. G. Caton, G. Armitage, T. Berglundh [et al.] // Journal of Clinical Periodontology. – 2018. – Vol. 45. – P. S1-S8.
33. A quantitative study of cementum removal with hand curettes / N. B. Coldiron, R. A. Yukna, J. Weir, R. F. Caudill // Journal of periodontology. – 1990. – Vol. 61. – № 5. – P. 293-299.

34. A systematic review on bacterial community changes after periodontal therapy with and without systemic antibiotics: An analysis with a wider lens / E. Dilber, D. Hagenfeld, B. Ehmke, C. M. Faggion // *Journal of Periodontal Research*. – 2020. – Vol. 55. – № 6. – P. 785-800.
35. A tale of two risks: smoking, diabetes and the subgingival microbiome / S. M. Ganesan, V. Joshi, M. Fellows [et al.] // *The ISME journal*. – 2017. – Vol. 11. – № 9. – P. 2075-2089.
36. Adhesion and invasion of *Candida albicans* from periodontal pockets of patients with chronic periodontitis and diabetes to gingival human fibroblasts / J. C. O. Sardi, C. Duque, F. S. Mariano [et al.] // *Medical mycology*. – 2012. – Vol. 50. – № 1. – P. 43-49.
37. Adhesive protein-mediated cross-talk between *Candida albicans* and *Porphyromonas gingivalis* in dual species biofilm protects the anaerobic bacterium in unfavorable oxic environment / D. Bartnicka, J. Karkowska-Kuleta, M. Zawrotniak [et al.] // *Scientific Reports*. – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 1-13.
38. Amro, S. O. Scanning Electron Microscopy and Energy-Dispersive X-ray Analysis of Root Cementum in Patients with Rapidly Progressive Periodontitis / S. O. Amro, H. Othman, A. S. Koura // *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. – 2016. – Vol. 10. – № June. – P. 16-26.
39. Armitage, G. C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions / G. C. Armitage // *Annals of periodontology*. – 1999. – Vol. 4. – № 1. – P. 1-6.
40. Arzate, H. Cementum proteins: role in cementogenesis, biomineralization, periodontium formation and regeneration / H. Arzate, M. Zeichner-David, G. Mercado-Celis // *Periodontology 2000*. – 2015. – Vol. 67. – № 1. – P. 211-233.

41. Association of subgingival colonization of *Candida albicans* and other yeasts with severity of chronic periodontitis / A. Canabarro, C. Valle, M. R. Farias [et al.] // *Journal of Periodontal Research*. – 2013. – Vol. 48. – № 4. – P. 428-432.
42. Azithromycin as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of *Porphyromonas gingivalis*-associated periodontitis: a pilot study / A. Oteo, D. Herrera, E. Figuero [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2010. – Vol. 37. – № 11. – P. 1005-1015.
43. Bacterial Community Shift in Treated Periodontitis Patients Revealed by Ion Torrent 16S rRNA Gene Amplicon Sequencing / S. Jünemann, K. Prior, R. Szczepanowski [et al.] // *PLoS ONE*. – 2012. – Vol. 7. – № 8. – P. e41606.
44. Baek, K. Complex Intratissue Microbiota Forms Biofilms in Periodontal Lesions / K. Baek, S. Ji, Y. Choi // *Journal of dental research*. – 2018. – Vol. 97. – № 2. – P. 192-200.
45. Bandara, H. M. H. N. Biodiversity of the human oral mycobiome in health and disease / H. M. H. N. Bandara, C. P. Panduwawala, L. P. Samaranayake // *Oral Diseases*. – 2019. – Vol. 25. – № 2. – P. 363-371.
46. Bartold, P. M. Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts / P. M. Bartold, T. E. Van Dyke // *Periodontology 2000*. – 2013. – Vol. 62. – № 1. – P. 203-217.
47. Barton, N. S. Periodontally diseased vs. normal roots as evaluated by scanning electron microscopy and electron probe analysis / N. S. Barton, R. L. Van Swol // *Journal of periodontology*. – 1987. – Vol. 58. – № 9. – P. 634-638.
48. Belibasakis, G. N. Molecular microbiological evaluation of subgingival biofilm sampling by paper point and curette / G. N. Belibasakis, P. R. Schmidlin, P. Sahrman // *APMIS*. – 2014. – Vol. 122. – № 4. – P. 347-352.
49. Berezow, A. B. Microbial shift and periodontitis. / A. B. Berezow, R. P. Darveau // *Periodontology 2000*. – 2011. – Vol. 55. – № 1. – P. 36-47.

50. Bernard, C. *Candida albicans* interaction with Gram-positive bacteria within interkingdom biofilms / C. Bernard, M. Girardot, C. Imbert // *Journal de mycologie medicale*. – 2020. – Vol. 30. – № 1. – P. 100909.
51. *Biofilm mechanics: Implications in infection and survival* / E. S. Gloag, S. Fabbri, D. J. Wozniak, P. Stoodley // *Biofilm*. – 2020. – Vol. 2. – P. 100017.
52. *Biogeography of a human oral microbiome at the micron scale* / J. L. M. Welch, B. J. Rossetti, C. W. Rieken [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2016. – Vol. 113. – № 6. – P. E791-E800.
53. *Bosshardt, D. D. Dental cementum: The dynamic tissue covering of the root* / D. D. Bosshardt, K. A. Selvig // *Periodontology 2000*. – 1997. – Vol. 13. – № 1. – P. 41-75.
54. *Candida species in periodontal disease: A literature review* / N. K J, A. Suresh U, S. S [et al.] // *International Journal of Periodontology and Implantology*. – 2020. – Vol. 4. – № 4. – P. 124-129.
55. *Candida species in periodontal disease: A literature review* / U. A. Suresh, K. J. Nisha, G. Shruthi, P. Batra // *IP International Journal of Periodontology and Implantology*. – 2019. – Vol. 4. – № 4. – P. 124-129.
56. *Candida spp. in periodontal disease: a brief review* / J. C. O. Sardi, C. Duque, F. S. Mariano [et al.] // *Journal of Oral Science*. – 2010. – Vol. 52. – № 2. – P. 177-185.
57. *Cellular Components Mediating Coadherence of Candida albicans and Fusobacterium nucleatum* / T. Wu, L. Cen, C. Kaplan [et al.] // *Journal of Dental Research*. – 2015. – Vol. 94. – № 10. – P. 1432-1438.
58. *Changes in oral microbial profiles after periodontal treatment as determined by molecular analysis of 16S rRNA genes* / M. Sakamoto, Y. Huang, M. Ohnishi

- [et al.] // *Journal of Medical Microbiology*. – 2004. – Vol. 53. – № 6. – P. 563-571.
59. Characterization of *Porphyromonas gingivalis* sialidase and disruption of its role in host-pathogen interactions / A. M. Frey, M. J. Satur, C. Phansopa [et al.] // *Microbiology (Reading, England)*. – 2019. – Vol. 165. – № 11. – P. 1181-1197.
60. Characterization of the Oral Fungal Microbiome (Mycobiome) in Healthy Individuals / M. A. Ghannoum, R. J. Jurevic, P. K. Mukherjee [et al.] // *PLoS Pathogens*. – 2010. – Vol. 6. – № 1. – P. e1000713.
61. Clinical, Immune, and Microbiome Traits of Gingivitis and Peri-implant Mucositis / G. P. Schincaglia, B. Y. Hong, A. Rosania [et al.] // *Journal of dental research*. – 2017. – Vol. 96. – № 1. – P. 47-55.
62. Clinical and microbiological effects of systemic antimicrobials combined to an anti-infective mechanical debridement for the management of aggressive periodontitis: a 12-month randomized controlled trial. / M. X. E. Silva-Senem, D. Heller, V. M. Varela [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2013. – Vol. 40. – № 3. – P. 242-251.
63. Clinical effects after subgingival polishing with a non-aggressive ultrasonic device in initial therapy / M. Kahl, E. Haase, T. Kocher, A. Rühling // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2007. – Vol. 34. – № 4. – P. 318-324.
64. Colombo, A. P. V. The Role of Bacterial Biofilms in Dental Caries and Periodontal and Peri-implant Diseases: A Historical Perspective / A. P. V. Colombo, A. C. R. Tanner // *Journal of Dental Research*. – 2019. – Vol. 98. – № 4. – P. 373-385.
65. Community-wide transcriptome of the oral microbiome in subjects with and without periodontitis / A. E. Duran-Pinedo, T. Chen, R. Teles [et al.] // *The ISME journal*. – 2014. – Vol. 8. – № 8. – P. 1659-1672.

66. Comparison Between Hand and Sonic/ Ultrasonic Instruments for Periodontal Treatment: Systematic Review with Meta-Analysis / F. W. M. G. Muniz, G. P. J. Langa, R. P. Pimentel [et al.] // Journal of the International Academy of Periodontology. – 2020. – Vol. 22. – № 4. – P. 187-204.
67. Comparison of Curet and Paper Point Sampling of Subgingival Bacteria as Analyzed by Real-Time Polymerase Chain Reaction / P.-M. Jervøe-Storm, H. AlAhdab, M. Koltzschner [et al.] // Journal of Periodontology. – 2007. – Vol. 78. – № 5. – P. 909-917.
68. Comparison of Root Surface Wear and Roughness Resulted from Different Ultrasonic Scalers and Polishing Devices Applied on Human Teeth: An In-Vitro Study / M. B. Mahiroglu, E. Kahramanoglu, M. Ay [et al.] // Healthcare. – 2020. – Vol. 8. – № 1. – P. 55.
69. Comparison of Subgingival and Buccal Mucosa Microbiome in Chronic and Aggressive Periodontitis: A Pilot Study. / Y. Wei, M. Shi, M. Zhen [et al.] // Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2019. – Vol. 9. – P. 53.
70. Comparison of the oral microbiome of patients with generalized aggressive periodontitis and periodontitis-free subjects. / S. Schulz, M. Porsch, I. Grosse [et al.] // Archives of oral biology. – 2019. – Vol. 99. – P. 169-176.
71. Composition Analysis and Feature Selection of the Oral Microbiota Associated with Periodontal Disease. / W.-P. Chen, S.-H. Chang, C.-Y. // BioMed research international. – 2018. – Vol. 2018. – P. 3130607.
72. Dahlen, G. Current concepts and an alternative perspective on periodontal disease. / G. Dahlen, O. Fejerskov, F. Manji // BMC oral health. – 2020. – Vol. 20. – № 1. – P. 235.
73. Deep sequencing of the oral microbiome reveals signatures of periodontal disease. / B. Liu, L. L. Faller, N. Klitgord [et al.] // PloS one. – 2012. – Vol. 7. – № 6. – P. e37919.

74. Dental cementum reviewed: development, structure, composition, regeneration and potential functions / P. F. Gonçalves, E. A. Sallum, A. W. Sallum [et al.] // Brazilian Journal of Oral Sciences. – 2005. – Vol. 4. – № 12. – P. 651-658.
75. Diaz, P. I. Subgingival fungi, Archaea, and viruses under the omics loupe / P. I. Diaz // Periodontology 2000. – 2021. – Vol. 85. – № 1. – P. 82-89.
76. Did Omics change periodontal therapy? / M. Feres, B. Retamal-Valdes, C. Gonçalves [et al.] // Periodontology 2000. – 2021. – Vol. 85. – № 1. – P. 182-209.
77. Ding, T. Dynamics and associations of microbial community types across the human body. / T. Ding, P. D. Schloss // Nature. – 2014. – Vol. 509. – № 7500. – P. 357-360.
78. Distinct and complex bacterial profiles in human periodontitis and health revealed by 16S pyrosequencing. / A. L. Griffen, C. J. Beall, J. H. Campbell [et al.] // The ISME journal. – 2012. – Vol. 6. – № 6. – P. 1176-1185.
79. Distribution of 8 periodontal microorganisms in family members of Chinese patients with aggressive periodontitis / X. Feng, L. Zhu, L. Xu [et al.] // Archives of oral biology. – 2015. – Vol. 60. – № 3. – P. 400-407.
80. Do different probing depths exhibit striking differences in microbial profiles? / P. J. Pérez-Chaparro, J. A. McCulloch, E. M. Mamizuka [et al.] // Journal of Clinical Periodontology. – 2018. – Vol. 45. – № 1. – P. 26-37.
81. Do we treat our patients or rather periodontal microbes with adjunctive antibiotics in periodontal therapy? A 16S rDNA microbial community analysis. / D. Hagenfeld, R. Koch, S. Jünemann [et al.] // PloS one. – 2018. – Vol. 13. – № 4. – P. e0195534.
82. Drisko, C. L. Periodontal Debridement: Still the Treatment of Choice / C. L. Drisko // Journal of Evidence Based Dental Practice. – 2014. – Vol. 14. – P. 33-41.e1.

83. Dyke, T. E. Van. The Nexus Between Periodontal Inflammation and Dysbiosis / T. E. Van Dyke, P. M. Bartold, E. C. Reynolds // *Frontiers in Immunology*. – 2020. – Vol. 11. – P. 1-10.
84. Dynamic Changes in the Subgingival Microbiome and Their Potential for Diagnosis and Prognosis of Periodontitis / B. Shi, M. Chang, J. Martin [et al.] // *mBio*. – 2015. – Vol. 6. – № 1. – P. e01926-14.
85. Effect of photodynamic therapy adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients: A randomized clinical trial / S. Pulikkotil, C. Toh, K. Mohandas, K. Leong // *Australian Dental Journal*. – 2016. – Vol. 61. – № 4. – P. 440-445.
86. Effects of vector ultrasonic system debridement and conventional instrumentation on the levels of TNF- α in gingival crevicular fluid of patients with chronic periodontitis / O. Arpağ, A. Dağ, B. İzol [et al.] // *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. – 2017. – Vol. 26. – № 9. – P. 1419-1424.
87. Empirical or microbiologically guided systemic antimicrobials as adjuncts to non-surgical periodontal therapy? A systematic review. / L. Nibali, V. P. Koidou, T. Hamborg, N. Donos // *Journal of clinical periodontology*. – 2019. – Vol. 46. – № 10. – P. 999-1012.
88. Evaluation of root surface microtopography following the use of four instrumentation systems by confocal microscopy and scanning electron microscopy: an in vitro study / C. Solís Moreno, A. Santos, J. Nart [et al.] // *Journal of Periodontal Research*. – 2012. – Vol. 47. – № 5. – P. 608-615.
89. Firkova, E. Clinical efficacy and subjective pain evaluation of two ultrasonic systems in non-surgical periodontal treatment of moderately advanced chronic periodontitis / E. Firkova, L. Yaneva // *Journal of IMAB - Annual Proceeding (Scientific Papers)*. – 2019. – Vol. 25. – № 2. – P. 2521-2525.
90. Full-mouth ultrasonic debridement versus quadrant scaling and root planing as an initial approach in the treatment of chronic periodontitis / J. L. Wennstrom,

- C. Tomasi, A. Bertelle, E. Dellasega // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2005. – Vol. 32. – № 8. – P. 851-859.
91. Functional signatures of oral dysbiosis during periodontitis progression revealed by microbial metatranscriptome analysis. / S. Yost, A. E. Duran-Pinedo, R. Teles [et al.] // *Genome medicine*. – 2015. – Vol. 7. – № 1. – P. 27.
92. Gaffen, S. L. Regulation of host-microbe interactions at oral mucosal barriers by type 17 immunity / S. L. Gaffen, N. M. Moutsopoulos // *Science Immunology*. – 2020. – Vol. 5. – № 43. – P. eaau4594.
93. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. / N. J. Kassebaum, E. Bernabé, M. Dahiya [et al.] // *Journal of dental research*. – 2014. – Vol. 93. – № 11. – P. 1045-1053.
94. Haffajee, A. D. Microbiological changes associated with four different periodontal therapies for the treatment of chronic periodontitis. / A. D. Haffajee, M. Patel, S. S. Socransky // *Oral microbiology and immunology*. – 2008. – Vol. 23. – № 2. – P. 148-157.
95. Haffajee, A. D. The effect of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota / A. D. Haffajee, R. P. Teles, S. S. Socransky // *Periodontology 2000*. – 2006. – Vol. 42. – P. 219-258.
96. Hajishengallis, G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation / G. Hajishengallis // *Nature Reviews Immunology*. – 2015. – Vol. 15. – № 1. – P. 30-44.
97. Hajishengallis, G. The keystone-pathogen hypothesis / G. Hajishengallis, R. P. Darveau, M. A. Curtis // *Nature Reviews Microbiology*. – 2012. – Vol. 10. – № 10. – P. 717-725.
98. Hajishengallis, G. Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease

- etiology. / G. Hajishengallis, R. J. Lamont // *Molecular oral microbiology*. – 2012. – Vol. 27. – № 6. – P. 409-419.
99. Han, J. The microbial community shifts of subgingival plaque in patients with generalized aggressive periodontitis following non-surgical periodontal therapy: a pilot study / J. Han, P. Wang, S. Ge // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8. – № 6. – P. 10609-10619.
100. Hoare, A. Ecological therapeutic opportunities for oral diseases / A. Hoare, P. D. Marsh, P. I. Diaz // *Microbiology Spectrum*. – 2017. – Vol. 5. – № 4. – P. 235-265.
101. Human Microbiome Project. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome / Human Microbiome Project // *Nature*. – 2012. – Vol. 486. – № 7402. – P. 207-214. –
102. Impact of Local Drug Delivery of Minocycline on the Subgingival Microbiota during Supportive Periodontal Therapy: A Randomized Controlled Pilot Study / H. Miyazawa, T. Nakajima, M. Horimizu [et al.] // *Dentistry journal*. – 2020. – Vol. 8. – № 4.
103. Impact of systemic factors in shaping the periodontal microbiome / F. Teles, Y. Wang, G. Hajishengallis [et al.] // *Periodontology 2000*. – 2020. – Vol. 85. – № 1. – P. 1-37.
104. Influence of periodontal treatment on subgingival and salivary microbiotas / D. Belstrøm, M. A. Grande, M. L. Sembler-Møller [et al.] // *Journal of Periodontology*. – 2018. – Vol. 89. – № 5. – P. 531-539.
105. Influence of residual pockets on progression of periodontitis and tooth loss: Results after 11 years of maintenance / G. Matuliene, B. E. Pjetursson, G. E. Salvi [et al.] // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2008. – Vol. 35. – № 8. – P. 685-695.

106. Investigate the correlation between clinical sign and symptoms and the presence of *P. gingivalis*, *T. denticola*, and *T. forsythia* individually or as a “Red complex” by a multiplex PCR method / T. Sanghavi, N. Shah, R. Shah, A. Sanghavi // *Journal of Conservative Dentistry*. – 2014. – Vol. 17. – № 6. – P. 555.
107. Investigation of the effect of type 2 diabetes mellitus on subgingival plaque microbiota by high-throughput 16S rDNA pyrosequencing. / M. Zhou, R. Rong, D. Munro [et al. // *PloS one*. – 2013. – Vol. 8. – № 4. – P. e61516.
108. Investigations of the prevalence and virulence of *Candida albicans* in periodontal and endodontic lesions in diabetic and normoglycemic patients / C. C. Gomes, L. S. Guimarães, L. C. C. Pinto [et al.] // *Journal of Applied Oral Science*. – 2017. – Vol. 25. – № 3. – P. 274-281.
109. Isolation of *Candida Albicans* from Subgingival Plaque in Patients with Chronic Periodontitis- A Microbiological Study / P. S. Joshi, S. G. Joshi, R. Gedam [et al.] // *International Journal of Scientific Research*. – 2012. – Vol. 2. – № 2. – P. 268-270.
110. Japanese subgingival microbiota in health vs disease and their roles in predicted functions associated with periodontitis. / E. Ikeda, T. Shiba, Y. Ikeda [et al.] // *Odontology*. – 2020. – Vol. 108. – № 2. – P. 280-291.
111. Jenkinson, H. F. Oral microbial communities in sickness and in health. / H. F. Jenkinson, R. J. Lamont // *Trends in microbiology*. – 2005. – Vol. 13. – № 12. – P. 589-595.
112. Jepsen, K. Antibiotics/antimicrobials: systemic and local administration in the therapy of mild to moderately advanced periodontitis / K. Jepsen, S. Jepsen // *Periodontology 2000*. – 2016. – Vol. 71. – № 1. – P. 82-112.
113. Jones, S. J. A study of human root cementum surfaces as prepared for and examined in the scanning electron microscope. / S. J. Jones, A. Boyde //

- Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie (Vienna, Austria : 1948). – 1972. – Vol. 130. – № 3. – P. 318-337.
114. Kamath, D. G. Detection, removal and prevention of calculus: Literature Review / D. G. Kamath, S. Umesh Nayak // *The Saudi Dental Journal*. – 2014. – Vol. 26. – № 1. – P. 7-13.
115. Könönen, E. Periodontitis: A Multifaceted Disease of Tooth-Supporting Tissues / E. Könönen, M. Gursoy, U. Gursoy // *Journal of Clinical Medicine*. – 2019. – Vol. 8. – № 8. – P. 1135.
116. Koo, H. Candida–streptococcal interactions in biofilm-associated oral diseases / H. Koo, D. R. Andes, D. J. Krysan // *PLoS Pathogens*. – 2018. – Vol. 14. – № 12. – P. e1007342.
117. Kornman, K. S. Diagnostic and Prognostic Tests for Oral Diseases: Practical Applications / K. S. Kornman // *Journal of Dental Education*. – 2005. – Vol. 69. – № 5. – P. 498-508.
118. Krishna, R. Ultrasonic vs. hand instrumentation in periodontal therapy: clinical outcomes / R. Krishna, J. A. De Stefano // *Periodontology 2000*. – 2016. – Vol. 71. – № 1. – P. 113-127.
119. Lamont, R. J. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions / R. J. Lamont, H. Koo, G. Hajishengallis // *Nature Reviews Microbiology*. – 2018. – Vol. 16. – № 12. – P. 745-759.
120. Li, K. Analyses of the stability and core taxonomic memberships of the human microbiome. / K. Li, M. Bihan, B. A. Methé // *PloS one*. – 2013. – Vol. 8. – № 5. – P. e63139.
121. Long-term efficacy of microbiology-driven periodontal laser-assisted therapy / F. S. Martelli, E. Fanti, C. Rosati [et al.] // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. – 2016. – Vol. 35. – № 3. – P. 423-431.

122. Malali, E. Er: YAG Lasers Versus Ultrasonic and Hand Instruments in Periodontal Therapy: Clinical Parameters, Intra-crevicular Micro-organism and Leukocyte Counts / E. Malali, T. Kadir, U. Noyan // *Photomedicine and Laser Surgery*. – 2012. – Vol. 30. – № 9. – P. 543-550.
123. Marsh, P. D. How is the development of dental biofilms influenced by the host? / P. D. Marsh, D. A. Devine // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2011. – Vol. 38. – P. 28-35.
124. Marsh, P. D. Dental biofilm: ecological interactions in health and disease / P. D. Marsh, E. Zaura // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2017. – Vol. 44. – P. S12-S22.
125. Mechanical biofilm disruption causes microbial and immunological shifts in periodontitis patients / W. Johnston, B. T. Rosier, A. Artacho [et al.] // *Scientific Reports*. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 9796.
126. Metagenomic Analysis of Subgingival Microbiota Following Non-Surgical Periodontal Therapy: a Pilot Study / T. Laksmana, W. Kittichotirat, Y. Huang [et al.] // *The Open Dentistry Journal*. – 2012. – Vol. 6. – № 1. – P. 255-261.
127. Metagenomic sequencing reveals microbiota and its functional potential associated with periodontal disease. / J. Wang, J. Qi, H. Zhao [et al.] // *Scientific reports*. – 2013. – Vol. 3. – P. 1843.
128. Metronidazole alone or with amoxicillin as adjuncts to non-surgical treatment of chronic periodontitis: a secondary analysis of microbiological results from a randomized clinical trial. / G. M. S. Soares, J. A. V Mendes, M. P. Silva [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2014. – Vol. 41. – № 4. – P. 366-376.
129. Microbial changes in periodontitis successfully treated by mechanical plaque removal and systemic amoxicillin and metronidazole / G. Valenza, S. Veihelmann, J. Peplies [et al.] // *International Journal of Medical Microbiology*. – 2009. – Vol. 299. – № 6. – P. 427-438.

130. Microbial complexes in subgingival plaque / S. S. Socransky, A. D. Haffajee, M. A. Cugini [et al.] // *Journal of Clinical Periodontology*. – 1998. – Vol. 25. – № 2. – P. 134-144.
131. Microbial profiles at baseline and not the use of antibiotics determine the clinical outcome of the treatment of chronic periodontitis / S. Bizzarro, M. L. Laine, M. J. Buijs [et al.] // *Scientific Reports*. – 2016. – Vol. 6. – № 1. – P. 20205.
132. Microbiologic Response to Periodontal Therapy and Multivariable Prediction of Clinical Outcome. / A. Mombelli, A. Almaghlouth, N. Cionca [et al.] // *Journal of periodontology*. – 2017. – Vol. 88. – № 12. – P. 1253-1262.
133. Microbiological and immunological features of oral candidiasis / M. A. M. De Oliveira, L. P. Carvalho, M. D. S. Gomes [et al.] // *Microbiology and Immunology*. – 2007. – Vol. 51. – № 8. – P. 713-719.
134. Microbiological dynamics of red complex bacteria following full-mouth air polishing in periodontally healthy subjects—a randomized clinical pilot study / B. Reinhardt, A. Klocke, S. H. Neering [et al.] // *Clinical Oral Investigations*. – 2019. – Vol. 23. – № 10. – P. 3905-3914.
135. Microbiological effects and recolonization patterns after adjunctive subgingival debridement with Er:YAG laser / I. Sanz-Sánchez, A. Ortiz-Vigón, D. Herrera, M. Sanz // *Clinical Oral Investigations*. – 2016. – Vol. 20. – № 6. – P. 1253-1261.
136. Microbiome in maintained periodontitis and its shift over a single maintenance interval of 3 months / H. Lu, Y. Zhao, X. Feng [et al.] // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2019. – Vol. 46. – № 11. – P. 1094-1104.
137. Mira, A. Role of microbial communities in the pathogenesis of periodontal diseases and caries / A. Mira, A. Simon-Soro, M. A. Curtis // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2017. – Vol. 44. – P. S23-S38.

138. Mombelli, A. Microbial colonization of the periodontal pocket and its significance for periodontal therapy / A. Mombelli // *Periodontology* 2000. – 2018. – Vol. 76. – № 1. – P. 85-96.
139. Morphological Changes in Diseased Cementum Layers: A Scanning Electron Microscopy Study / E. Bilgin, C. A. Gürgan, M. N. Arpak [et al.] // *Calcified Tissue International*. – 2004. – Vol. 74. – № 5. – P. 476-485.
140. Müller ,H.-P. Clinical alterations in relation to the morphological composition of the subgingival microflora following scaling and root planing / H.-P. Müller, J. Hartmann, L. Flores-de-Jacoby // *Journal of Clinical Periodontology*. – 1986. – Vol. 13. – № 9. – P. 825-832.
141. Nanci, A. Structure of periodontal tissues in health and disease / A. Nanci, D. D. Bosshardt // *Periodontology* 2000. – 2006. – Vol. 40. – № 1. – P. 11-28.
142. Nasreldin, Z. M. Microscopic Differences in Cementum Structure and Mineral Composition of Teeth Extracted from Patients with Gingivitis , Chronic Periodontitis and Aggressive Periodontitis . A Preliminary Comparative Study / Z. M. Nasreldin, E. M. Awooda, N. T. Hashim // *International Journal of Dental Sciences and Research*. – 2016. – Vol. 4. – № 5. – P. 90-94.
143. Newly identified pathogens associated with periodontitis: a systematic review. / P. J. Pérez-Chaparro, C. Gonçalves, L. C. Figueiredo [et al.] // *Journal of dental research*. – 2014. – Vol. 93. – № 9. – P. 846-858.
144. Nirola, A. Comparison of nonsurgical periodontal therapy with hand scaler, conventional ultrasonic scaler, and vector™ ultrasonic system in patients with generalized chronic periodontitis / A. Nirola, P. Batra, S. Kaur // *Indian Journal of Dental Sciences*. – 2016. – Vol. 8. – № 4. – P. 226.
145. Non-surgical periodontal treatment with a new ultrasonic device (Vectortm-ultrasonic system) or hand instruments. A prospective, controlled clinical study / A. Sculean, F. Schwarz, M. Berakdar [et al.] // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2004. – Vol. 31. – № 6. – P. 428-433.

146. Nonsurgical and surgical treatment of periodontitis: how many options for one disease? / F. Graziani, D. Karapetsa, B. Alonso, D. Herrera // *Periodontology* 2000. – 2017. – Vol. 75. – № 1. – P. 152-188.
147. One stage, full-mouth, ultrasonic debridement in the treatment of severe chronic periodontitis in smokers: a preliminary, blind and randomized clinical trial / T. Meulman, A. P. O. Giorgetti, J. Gimenes [et al.] // *Journal of the International Academy of Periodontology*. – 2013. – Vol. 15. – № 3. – P. 83-90.
148. One stage full- versus partial-mouth disinfection in the treatment of chronic adult or generalized early-onset periodontitis. II. Long-term impact on microbial load. / M. Quirynen, C. Mongardini, M. Pauwels [et al.] // *Journal of periodontology*. – 1999. – Vol. 70. – № 6. – P. 646-656.
149. Oral Candida colonization in patients with chronic periodontitis. Is there any relationship? / J. De-La-Torre, G. Quindós, C. Marcos-Arias [et al.] // *Revista Iberoamericana de Micología*. – 2018. – Vol. 35. – № 3. – P. 134-139.
150. Oral microbiome in chinese patients with aggressive periodontitis and their family members / Y. Li, X. Feng, L. Xu [et al.] // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2015. – Vol. 42. – № 11. – P. 1015-1023.
151. Oral microbiota of periodontal health and disease and their changes after nonsurgical periodontal therapy / C. Chen, C. Hemme, J. Beleno [et al.] // *The ISME journal*. – 2018. – Vol. 12. – № 5. – P. 1210-1224.
152. Periodontal-disease-associated biofilm: A reservoir for pathogens of medical importance / A. P. Vieira Colombo, C. B. Magalhães, F. A. R. R. Hartenbach [et al.] // *Microbial Pathogenesis*. – 2015. – Vol. 94. – P. 27-34.
153. Periodontal Bone-Ligament-Cementum Regeneration via Scaffolds and Stem Cells / J. Liu, J. Ruan, M. D. Weir [et al.] // *Cells*. – 2019. – Vol. 8. – № 6.

154. Phylogenetic and functional gene structure shifts of the oral microbiomes in periodontitis patients. / Y. Li, J. He, Z. He [et al.] // The ISME journal. – 2014. – Vol. 8. – № 9. – P. 1879-1891.
155. Polymicrobial synergy within oral biofilm promotes invasion of dendritic cells and survival of consortia members. / A. El-Awady, M. de Sousa Rabelo, M. M. Meghil [et al.] // NPJ biofilms and microbiomes. – 2019. – Vol. 5. – № 1. – P. 11.
156. Profilometric and histological evaluation of the root surface after instrumentation in vitro with a fluorescence-controlled er: yag laser, hand instruments and an ultrasonic scaling device / J. Alkimavicius, A. Puteris, J. Zekoniene, R. Bendinskaite // Journal of Medical Sciences. – 2018.
157. Quantitative Molecular Detection of Putative Periodontal Pathogens in Clinically Healthy and Periodontally Diseased Subjects / A. Göhler, A. Hetzer, B. Holtfreter [et al.] // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9. – № 7. – P. e99244.
158. Ramanauskaite, E. Antiseptics as adjuncts to scaling and root planing in the treatment of periodontitis: a systematic literature review / E. Ramanauskaite, V. Machiulskiene // BMC Oral Health. – 2020. – Vol. 20. – № 1. – P. 143.
159. Relman, D. A. The human microbiome: ecosystem resilience and health. / D. A. Relman // Nutrition reviews. – 2012. – Vol. 70 Suppl 1. – № Suppl 1. – P. S2-9.
160. Roberts, F. A. Microbial protection and virulence in periodontal tissue as a function of polymicrobial communities: Symbiosis and dysbiosis / F. A. Roberts, R. P. Darveau // Periodontology 2000. – 2015. – Vol. 69. – № 1. – P. 18-27.
161. Root cementum ultrastructure in healthy and periodontally diseased teeth / E. S. Slazhneva, E. A. Tikhomirova, L. A. Elizova [et al.] // Пародонтология. – 2020. – Vol. 25. – № 4. – P. 317-321.

162. Rosier, B. T. Resilience of the Oral Microbiota in Health: Mechanisms That Prevent Dysbiosis / B. T. Rosier, P. D. Marsh, A. Mira // *Journal of dental research*. – 2018. – Vol. 97. – № 4. – P. 371-380.
163. Sardi, J. C. O. New antimicrobial therapies used against fungi present in subgingival sites - A brief review / J. C. O. Sardi, A. M. F. Almeida, M. J. S. Mendes Giannini // *Archives of Oral Biology*. – 2011. – Vol. 56. – № 10. – P. 951-959.
164. Scaling and root planing, systemic metronidazole and professional plaque removal in the treatment of chronic periodontitis in a Brazilian population II--microbiological results. / L. H. Carvalho, G. B. D'Avila, A. Leão [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2005. – Vol. 32. – № 4. – P. 406-411.
165. Shift in the subgingival microbiome following scaling and root planing in generalized aggressive periodontitis / G. Liu, Q. Luan, F. Chen [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2018. – Vol. 45. – № 4. – P. 440-452.
166. Signature of Microbial Dysbiosis in Periodontitis. / V. Meuric, S. Le Gall-David, E. Boyer [et al.] // *Applied and environmental microbiology*. – 2017. – Vol. 83. – № 14.
167. Singh, S. A comparative evaluation of the efficacy of manual, magnetostrictive and piezoelectric ultrasonic instruments: an in vitro profilometric and SEM study / S. Singh, A. Uppoor, D. Nayak // *Journal of Applied Oral Science*. – 2012. – Vol. 20. – № 1. – P. 21-26.
168. Smoking decreases structural and functional resilience in the subgingival ecosystem / V. Joshi, C. Matthews, M. Aspiras [et al.] // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2014. – Vol. 41. – № 11. – P. 1037-1047.
169. Socransky, S. S. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. / S. S. Socransky, A. D. Haffajee // *Periodontology 2000*. – 2002. – Vol. 28. – P. 12-55.

170. Socransky, S. S. Periodontal microbial ecology. / S. S. Socransky, A. D. Haffajee // *Periodontology* 2000. – 2005. – Vol. 38. – P. 135-187.
171. *Streptococcus gordonii* modulates *Candida albicans* biofilm formation through intergeneric communication / C. V. Bamford, A. D’Mello, A. H. Nobbs [et al.] // *Infection and Immunity*. – 2009. – Vol. 77. – № 9. – P. 3696-3704.
172. Subgingival areas as potential reservoirs of different *Candida* spp in type 2 diabetes patients and healthy subjects / S. Matic Petrovic, M. Radunovic, M. Barac [et al.] // *PLOS ONE*. – 2019. – Vol. 14. – № 1. – P. e0210527.
173. Subgingival instrumentation for treatment of periodontitis. A systematic review / J. Suvan, Y. Leira, F. M. Moreno Sancho [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2020. – Vol. 47. – № Suppl 2. – P. 155-175.
174. Subgingival microbiota in individuals with severe chronic periodontitis. / C.-Y. Tsai, C. Y. Tang, T.-S. Tan [et al.] // *Journal of microbiology, immunology, and infection* . – 2018. – Vol. 51. – № 2. – P. 226-234.
175. Supportive periodontal therapy (SPT) for maintaining the dentition in adults treated for periodontitis / C. Manresa, E. C. Sanz-Miralles, J. Twigg, M. Bravo // *The Cochrane database of systematic reviews*. – 2018. – Vol. 1. – № 1. – P. CD009376.
176. Suresh Unniachan, A. Association between *Candida* species and periodontal disease: A systematic review / A. Suresh Unniachan, N. Krishnavilasom Jayakumari, S. Sethuraman // *Current Medical Mycology*. – 2020. – Vol. 6. – № 2. – P. 63-68.
177. Surgical and Non-surgical Therapy in Patients with Chronic Periodontitis. MWF and SRP in Comparison with the VECTOR Ultrasonic Instrument. A Pilot Study. / A. Guentsch, T. Selmann, B. Sigusch [et al.] // *Perio*. – 2006. – № 3. – P. 7-13.

178. Synergistic Interaction between *Candida albicans* and Commensal Oral Streptococci in a Novel In Vitro Mucosal Model / P. I. Diaz, Z. Xie, T. Sobue [et al.] // *Infection and Immunity*. – 2012. – Vol. 80. – № 2. – P. 620-632.
179. Systemic antibiotics in the treatment of periodontitis / K. Schwarzberg, R. Le, B. Bharti [et al.] // *PloS one*. – 2014. – Vol. 9. – № 1. – P. e86708.
180. Systemic antibiotics in the treatment of periodontitis / M. Feres, L. C. Figueiredo, G. M. S. Soares, M. Faveri // *Periodontology 2000*. – 2015. – Vol. 67. – № 1. – P. 131-186.
181. Teles, R. P. Microbiological goals of periodontal therapy. / R. P. Teles, A. D. Haffajee, S. S. Socransky // *Periodontology 2000*. – 2006. – Vol. 42. – P. 180-218.
182. The effect of miniaturized manual versus mechanical instruments on calculus removal and root surface characteristics: An in vitro light microscopic study / F. Profili, S. Sparabombe, A. Tawse Smith [et al.] // *Clinical and Experimental Dental Research*. – 2019. – Vol. 5. – № 5. – P. 519-527.
183. The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases: 12-month results. / M. A. Cugini, A. D. Haffajee, C. Smith [et al.] // *Journal of clinical periodontology*. – 2000. – Vol. 27. – № 1. – P. 30-36.
184. The effect of the Vector® scaler system on human teeth: a systematic review / D. Slot, T. Koster, S. Paraskevas, G. Van der Weijden // *International Journal of Dental Hygiene*. – 2008. – Vol. 6. – № 3. – P. 154-165.
185. The Exopolysaccharide Matrix Modulates the Interaction between 3D Architecture and Virulence of a Mixed-Species Oral Biofilm / J. Xiao, M. I. Klein, M. L. Falsetta [et al.] // *PLoS Pathogens*. – 2012. – Vol. 8. – № 4. – P. e1002623.

186. The oral microbiome: A Lesson in coexistence / A. S. Sultan, E. F. Kong, A. M. Rizk, M. A. Jabra-Rizk // PLoS Pathogens. – 2018. – Vol. 14. – № 1. – P. 10-15.
187. The skin microbiome : impact of modern environments on skin ecology , barrier integrity , and systemic immune programming / S. L. Prescott, D.-L. Larcombe, A. C. Logan [et al.] // The World Allergy Organization journal. – 2017. – Vol. 10. – № 1. – P. 1-16.
188. The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation / L. Abusleme, A. K. Dupuy, N. Dutzan [et al.] // ISME Journal. – 2013. – Vol. 7. – № 5. – P. 1016-1025.
189. The subgingival microbiome of clinically healthy current and never smokers. / M. R. Mason, P. M. Preshaw, H. N. Nagaraja [et al.] // The ISME journal. – 2015. – Vol. 9. – № 1. – P. 268-272.
190. The Subgingival Microbiome of Periodontal Pockets With Different Probing Depths in Chronic and Aggressive Periodontitis: A Pilot Study. / M. Shi, Y. Wei, W. Hu [et al.] // Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2018. – Vol. 8. – P. 124.
191. The ultrastructure of subgingival dental plaque, revealed by high-resolution field emission scanning electron microscopy/ R. Holliday, P. M. Preshaw, L. Bowen, N. S. Jakubovics // BDJ open. – 2015. – Vol. 1. – P. 15003.
192. The visualization of biofilms in chronic diabetic foot wounds using routine diagnostic microscopy methods / A. Oates, F. L. Bowling, A. J. M. Boulton [et al.] // Journal of diabetes research. – 2014. – Vol. 2014. – P. 153586.
193. Thein, Z. M. Effect of oral bacteria on growth and survival of *Candida albicans* biofilms / Z. M. Thein, Y. H. Samaranayake, L. P. Samaranayake // Archives of Oral Biology. – 2006. – Vol. 51. – № 8. – P. 672-680.

194. *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* as prognostic markers following periodontal treatment / L. G. Simonson, P. J. Robinson, R. J. Pranger [et al.] // *Journal of periodontology*. – 1992. – Vol. 63. – № 4. – P. 270-273.
195. Tunkel, J. A systematic review of efficacy of machine-driven and manual subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis / J. Tunkel, A. Heinecke, T. F. Flemmig // *Journal of clinical periodontology*. – 2002. – Vol. 29. – № Suppl 3. – P. 71-72.
196. Ultramorphology of the root surface subsequent to hand-ultrasonic simultaneous instrumentation in vitro study / S. D. Aspriello, M. Piemontese, L. Levrini, S. Sauro // *Journal of applied oral science : revista FOB*. – 2011. – Vol. 19. – № 1. – P. 74-81.
197. Ultrastructural observations on bacterial invasion in cementum and radicular dentin of periodontally diseased human teeth / P. A. Adriaens, C. A. Edwards, J. A. De Boever, W. J. Loesche // *Journal of periodontology*. – 1988. – Vol. 59. – № 8. – P. 493-503.
198. Valm, A. M. The Structure of Dental Plaque Microbial Communities in the Transition from Health to Dental Caries and Periodontal Disease. / A. M. Valm // *Journal of molecular biology*. – 2019. – Vol. 431. – № 16. – P. 2957-2969.
199. Weijden, G. A. Van der. A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis / G. A. Van der Weijden, M. F. Timmerman // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2002. – Vol. 29. – № Suppl 3. – P. 55-71.
200. Worawongvasu, R. A comparative study of the surfaces of normal oral epithelia and inflammatory hyperplasias by scanning electron microscopy / R. Worawongvasu // *Ultrastructural Pathology*. – 2007. – Vol. 31. – № 4. – P. 283-292.