

*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)

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва - 2022



## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### 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 [Dahlen G., 2020; Könönen E., 2019]. На сегодняшний день пародонтит рассматривается как мультибактериальное дисбиотическое заболевание, которое развивается в результате трансформации нормофлоры в патогенное сообщество в результате сдвига в таксономическом составе и количественном соотношении микроорганизмов [Царев В.Н., 2017; Abusleme L., 2013; Roberts F. A., 2015; Colombo A. P. V., 2019; Dyke T. E., 2020] в контексте сложных механизмов взаимодействия между микробиотой пародонтального кармана, иммунной реакцией организма и окружающей средой [Янушевич О.О., 2015; Ипполитов Е.В., 2017; Царев В.Н., 2020; Тихомирова Е.А., Атрушкевич В.Г., 2020; Hajishengallis G., 2015; Lamont R.J., 2018]. Известны 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*) пародонтопатогенных бактерий, которые имеют высокий и умеренный риск развития пародонтита соответственно [Socransky S. S., 1998; Hoare A., 2017; Mira A., 2017].

Элиминация пародонтопатогенных микроорганизмов и снижение бактериальной нагрузки путем механического разрушения микробной биопленки на поверхности корня зуба с помощью различных инструментов и методов является основой базового этапа лечения хронического генерализованного пародонтита (ХГП) [Зорина О.А., 2013; Еричев В.В., 2017; Dilber E., 2020; Johnston W., 2021]. 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 ХГП, 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 [Bilgin E., 2004; Gonçalves P. F., 2005; Arzate H., 2015; Slazhneva E.S., 2017]. Инструменты, используемые для удаления поддесневых зубных отложений, могут негативно воздействовать на структуру цемента, приводя к возникновению шероховатости поверхности или чрезмерному его удалению [Мандра Ю.В., 2011; Дмитриева Л.А., Яшкова В.В., 2014; Орехова Л.Ю., 2020; Coldiron N. B., 1990; Solís Moreno C., 2012; Profili F., 2019; Dassatti L., 2020]. Учитывая роль цемента в дальнейшем восстановлении пародонта перечисленные воздействия должны быть сведены к минимуму.

Поиск методов лечения ХГП, 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 ХГП и прогнозом сохранения зубов.

### **Степень разработанности темы исследований**

Последние достижения в области методов лабораторной идентификации микроорганизмов, в частности, современные культурально-независимые методы исследования микроорганизмов, такие как полимеразная цепная реакция (ПЦР) в реальном времени, были использованы для идентификации и количественной оценки широкого спектра микробных таксонов, обитающих в десневой борозде и пародонтальном кармане [Царев В.Н., 2012; Янушевич О.О., Айвазова Р.А., Шибеева А.В., 2015; Мирсаева Ф.З., 2018], что способствовало лучшему пониманию сложных взаимосвязей в микробиоме полости рта как в состоянии здоровья, так и при патологии [Царев В.Н., 2016, Marsh P.D., 2017; Mira A, 2017].

Огромный пласт исследований посвящен оценке изменений качественного и количественного состава пародонтопатогенных микроорганизмов после лечения ХГП [Зорина О.А., 2013; Слажнева Е.С, Атрушкевич В.Г., Орехова Л.Ю., 2020; Haffajee A.D, 2006; Valenza G., 2009; Jünemann S., 2012; Jepsen K, 2016; Han J., 2017; Mombelli A., 2017; Dilber E., 2020; Feres M., 2021], в которых 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. Большая разнородность полученных результатов диктует необходимость дальнейшего изучения изменений в поддесневом микробном сообществе.

Важным и недостаточно изученным рубежом в микробиологии полости рта остается исследование роли грибов [Ghannoum M. A., 2010; Коо Н., 2018; Vandara Н.М., 2019; Suresh Unniachan A., 2020], прежде всего дрожжеподобных грибов рода *Candida*, которые рассматриваются, как один из этиологических факторов в развитии или осложненном течении ХГП [Царев В.Н., 2012; Еричев В.В., 2017; Разина И.Н., 2017; Sardi J. C. O., 2012; Canabarro A., 2013; Коо Н., 2018; Anjana Suresh U., 2019].

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 [Xiao J., 2012; Oates A., 2014; Tafti A.P., 2016]. 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 [Barton N.S., 1987; Worawongvasu R., 2007; Holliday R., 2015]

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 СЭМ 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 СЭМ 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 ХГП. 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 СЭМ 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 ХГП, 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 (периодонта), 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 ХГП (базовая терапия, поддерживающее лечение).

### **Методология и методы исследования**

Диссертация выполнена в дизайне рандомизированного клинического проспективного сравнительного исследования в соответствии с принципами и

правилами доказательной медицины с использованием морфологических, электронно-микроскопических, молекулярно-генетических, клинических и статистических методов исследования.

### **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-биологического исследования, в то время как наиболее выраженные изменения в микробиоме, заключающиеся в тенденции к суммарному снижению доли бактерий «красного комплекса» наблюдалась при комбинации ручных инструментов с ультразвуковой системой с полировочной суспензией.

2. Ультраструктура 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**

Основные положения диссертации были доложены, обсуждены и одобрены на 5 научных конференциях и получили отражение в 8 научных публикациях, 6 из которых были опубликованы в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 1 публикация – в издании, индексируемом в международной базе Scopus.

Диссертационное исследование выполнено с использованием достаточного объема современных клиничко-лабораторных методов исследования клинического материала. Статистическая обработка данных проведена с помощью современных методов медицинского статистического анализа, соответствующих поставленным целям и задачам исследования.

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

### **Внедрение результатов работы**

Результаты исследования внедрены в лечебный и учебный процесс кафедры пародонтологии стоматологического факультета ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова». Материалы диссертационной работы используются при чтении лекций, на теоретических и практических занятиях при обучении студентов, ординаторов и аспирантов, слушателей циклов последипломного образования.

### **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.

### **Личный вклад автора в выполнение работы**

Автор принимал участие во всех этапах диссертационного исследования, а именно в планировании исследования; анализе научной литературы для обоснования актуальности исследования и обсуждения полученных результатов; в самостоятельном обследовании, лечении и динамическом наблюдении 107 пациентов с ХГП. 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.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Исследование было проведено на клинической базе кафедры пародонтологии Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова. 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  $\geq 5$  мм. Критериями не включения пациентов в исследование являлись: факт проведения пародонтологического лечения в течение предшествующих 6 месяцев; приём 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.

Всем пациентам до начала лечения проводилось оценка клинического состояния тканей пародонта с помощью следующих индексов и показателей: индекса зубного налета (PI Silness - Loe, 1967), индекса кровоточивости при зондировании (ВОР), глубины зондирования пародонтального кармана (ГПК), уровня потери пародонтального прикрепления (CAL), подвижности зубов по Fleszar, а также рентгенологическое обследование.

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 проводилась с помощью зоноспецифических кюрет Грейси, в группе 2 (УЗСВ) – с помощью ультразвуковой системы Вектор с полировочной суспензией, 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 ультразвуковой системы Вектор с полировочной суспензией 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.

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. Итоговое количество участников исследования составило 107 человек.

Оценку клинического состояния тканей пародонта 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.

Для оценки эффективности различных методов удаления поддесневой микробной биопленки было проведено молекулярно-генетическое исследование заборов содержимого пародонтального кармана 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 с помощью набора реагентов «Пародонтоскрин» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Забор содержимого пародонтального кармана производили с помощью стерильных бумажных эндодонтических штифтов (размер 25 по ISO) в области самого глубокого пародонтального кармана, подлежащего обработке. Заборы проводили до лечения во время клинического осмотра, через 10 дней и через 6 недель после проведения удаления поддесневой микробной биопленки.

Для оценки эффективности удаления поддесневой микробной биопленки различными методами и их воздействия на ультраструктуру цемента использовалась сканирующая электронная микроскопия с протоколом 3D визуализации изображений поверхности корней удаленных зубов. Было удалено 16 зубов с подвижностью 3 степени и неблагоприятным пародонтологическим прогнозом у пациентов с ХГП тяжелой степени и 4 зубов с интактным пародонтом по ортодонтическим показаниям. Перед удалением зубов, пораженных ХГП, 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. Образцы зубов подвергали стандартной подготовке и исследовали в сканирующем электронном микроскопе S 3400N (Hitachi, Япония) с возможностью в режиме реального времени получать 3D-

микрофотографии исследуемой поверхности корня зуба, 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.

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.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### **Результаты клинических исследований**

Все методы удаления поддесневой микробной биопленки показали сопоставимую клиническую эффективность, заключающуюся в улучшении уровня гигиены полости рта по индексу РІ, снижении индекса кровоточивости при зондировании ВОР, уменьшении глубины зондирования пародонтальных карманов, уменьшения уровня потеря пародонтального прикрепления на сроках наблюдения через 10 дней и через 6 недель после лечения по сравнению с исходным значением, которые демонстрировали статистически значимые различия. Обнаружено, статистически значимое наиболее низкое значение уровня кровоточивости по индексу ВОР в группе 3 (Кюреты+УЗСВ), составившее 0,3 (0,19-0,36) по сравнению с группой 1 (Кюреты), где индекс ВОР 0,40 (0,28-0,53) составил через 10 дней после лечения ( $N=14,9$ ;  $p=0,015$ ), что может свидетельствовать о том, что включение терапии с использованием ультразвуковой системы с полировочной суспензией в консервативный этап лечения значительно ускоряет сроки снятия воспаления в тканях пародонта (рисунок 1).

Это предположение было подтверждено результатами корреляционного анализа, показавшего статистически значимую обратную корреляционную зависимость между методом удаления поддесневой микробной биопленки и индексом кровоточивости (рисунок 2). 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 ( $\rho = -0,29$ ;  $p 0,02$ ).

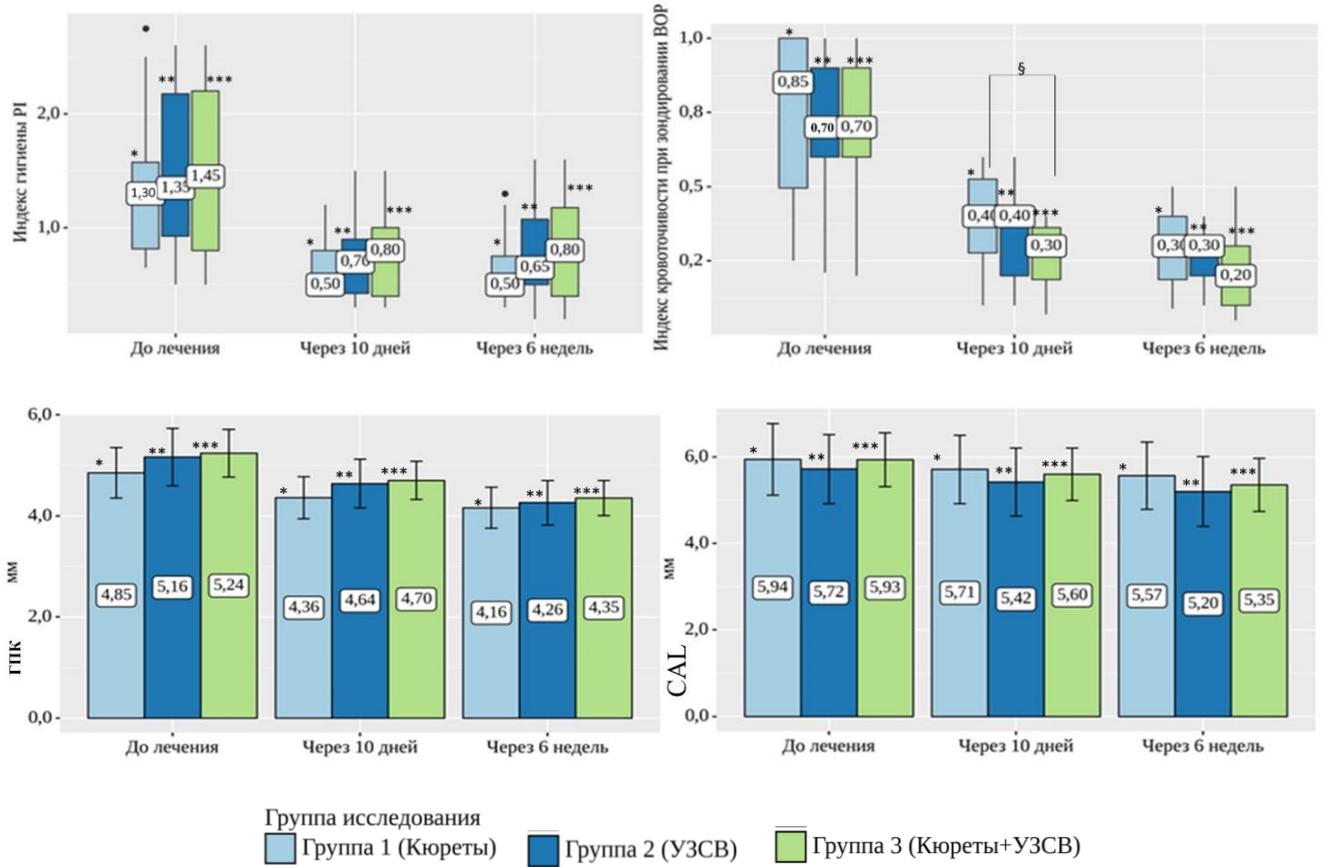


Рисунок 1 – Сравнение изменения клинических показателей состояния пародонта в группах исследования. \*, \*\*, \*\*\* - обнаружены статистически значимые различия по сравнению с исходным значением ( $p < 0,05$ ); § - обнаружены статистически значимые различия при межгрупповых сравнениях ( $p < 0,05$ )

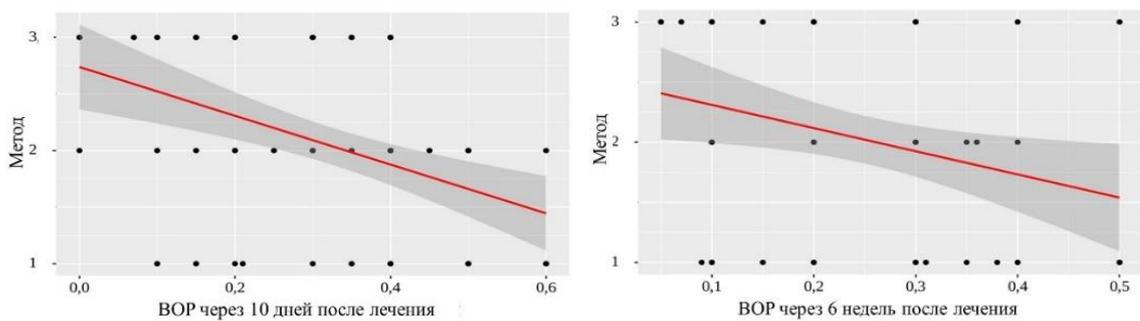


Рисунок 2 – График регрессионной функции, характеризующий зависимость индекса кровоточивости ВОР от метода удаления поддесневой микробной биопленки ВОР на разных сроках наблюдения. Метод :1- Кюреты, 2 – УЗСВ, 3 – Кюреты+УЗСВ

## Результаты молекулярно-генетического исследования

При сравнении частоты обнаружения исследуемых микроорганизмов до и после лечения было установлено, что все 3 метода удаления микробной биопленки не приводили к полной эрадикации пародонтопатогенной микробиоты в сроки 10 дней и 6 недель. Отмечалась тенденция к снижению частоты выявления исследуемых микроорганизмов после лечения в сравнении с исходными значениями. Однако, не удалось установить каких-либо закономерностей, которые бы описывали характер изменения частоты обнаружения отдельных микроорганизмов после каждого вида лечения. Интересные данные были получены относительно *Candida albicans* в группе 2 (УЗСВ), в которой частота обнаружения *Candida albicans* через 10 дней была самой низкой в сравнении с остальными группами, а через 6 недель демонстрировала самое высокое значение (таблица 1).

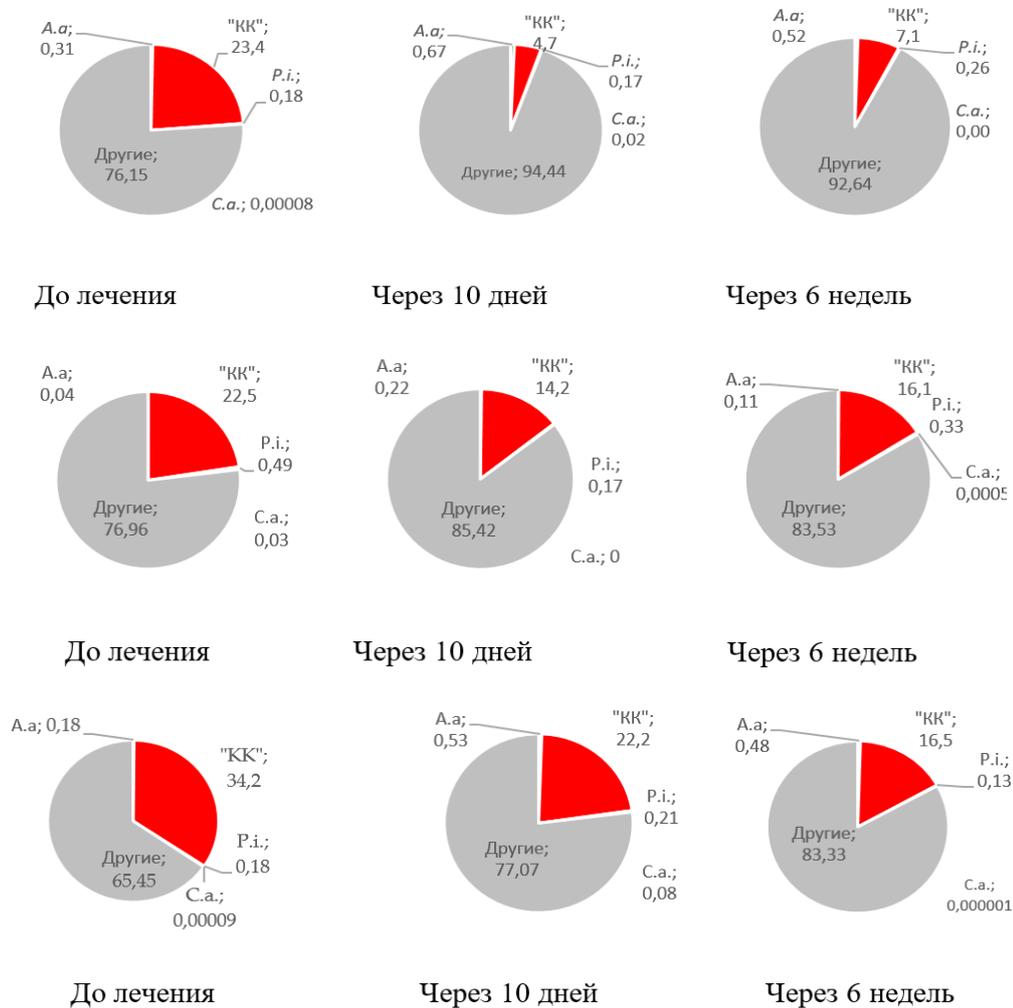
Таблица 1 - Частота обнаружения микроорганизмов в группах исследования в зависимости от метода удаления биопленки на различных сроках наблюдения

Микроорганизм/ Сроки наблюдения	Группа 1 (Кюреты)	Группа 2 (УЗСВ)	Группа 3 (Кюреты+УЗСВ)	$\chi^2$	p
<b><i>A. actinomycetemcomitans</i></b>					
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*
<b><i>P. gingivalis</i></b>					
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
<b><i>P.intermedia</i></b>					
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
<b><i>T. forsythia</i></b>					
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
<b><i>T. denticola</i></b>					
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

Продолжение таблицы 1.					
<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 .

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 в процентах (рисунок 3).



**Рисунок 3** - Динамика изменения доли бактерий «красного комплекса» (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) в структуре поддесневого бактериального сообщества после лечения в группах исследования

*A.a.* – *A. actinomycetemcomitans*, «КК» - «красный комплекс»,  
*P.i.* – *P. intermedia*, *C.a.* – *Candida albicans*

Сравнительная оценка позволила констатировать снижение суммарной доли бактерий так называемого «красного комплекса» (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*) через 10 дней и через 6 недель после лечения по сравнению исходными значениями, наиболее выраженное в группах 1 (Кюреты) и 3 (Кюреты + УЗСВ). В промежутке 10 дней - 6 недель отмечалась тенденция к росту доли бактерий красного комплекса в группах 1 (Кюреты) и 2 (УЗСВ), а в группе 3 динамика к снижению сохранялась. Что касается *Candida albicans* ее доля через 6 недель в группе 2 (УЗСВ) была статистически значимо выше, чем в остальных группах, но среднее значение составляло меньше 0,001% и было значительно меньше долей остальных исследуемых микроорганизмов.

Также мы наблюдали изменение характера корреляционных связей между количеством бактерий красного комплекса после проведенного лечения в зависимости от метода удаления микробной биопленки, которые заключались в исчезновении корреляционных взаимосвязей между *P. gingivalis*, *T. forsythia*, и *T. denticola*, что свидетельствует о разрыве синергетических взаимодействий между пародонтопатогенными микроорганизмами. Наиболее выраженными эти изменения были в группе 1 (Кюреты) и в группе 3 (Кюреты+УЗСВ) через 6 недель после лечения. (таблица 2).

Таблица 2 – Результаты корреляционного анализа взаимосвязи ОБМ, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola* в группах сравнения на различных сроках наблюдения ( $\rho$ )

		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>
До лечения	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	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	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	--	--	--	--

## Результаты сканирующей электронной микроскопии

Поверхность цемента корней зубов с интактным пародонтом (Группа Норма) 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 (рисунок 4А, Б), а в апикальной области и зоне фуркации представляла собой куполообразную поверхность, напоминающую пористый шоколад (рисунок 4В). Микрофотографии цемента с 3D преобразованием давали более достоверное представление о поверхностных характеристиках цемента (рисунок 4Г)

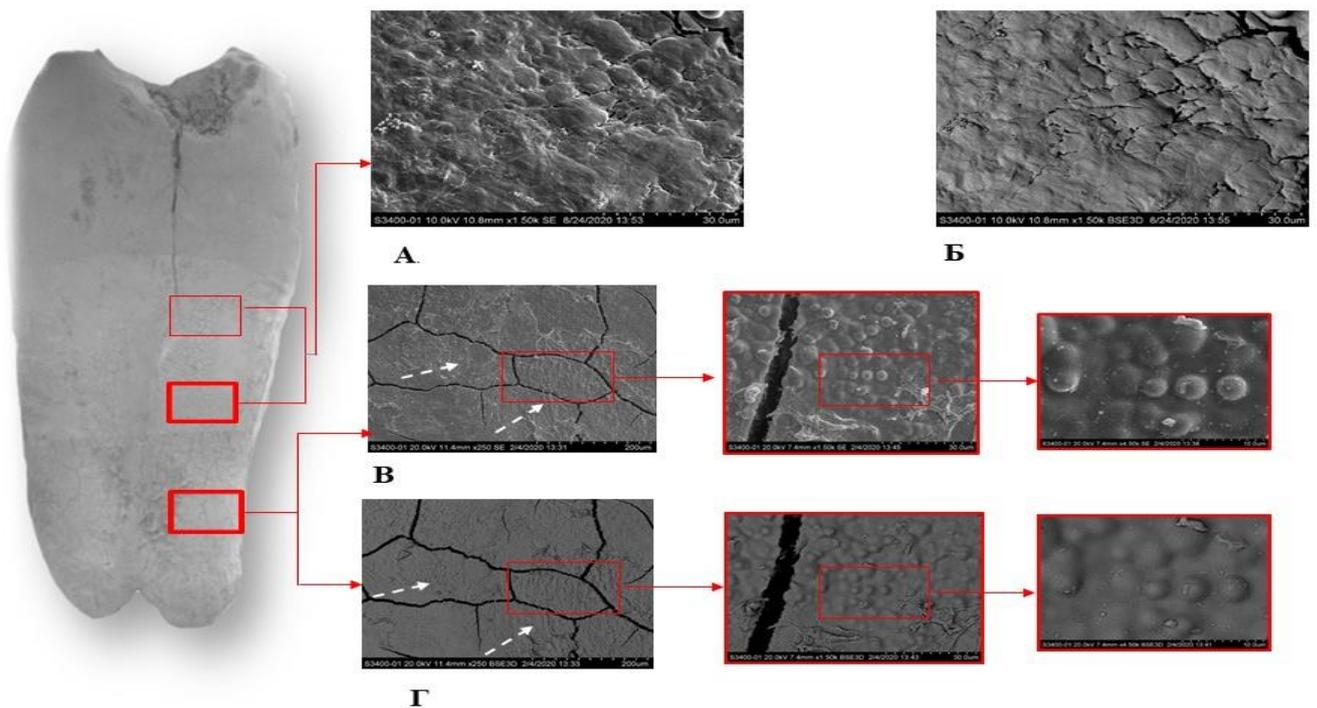


Рисунок 4 – Микрофотографии поверхности цемента корня зуба в норме

**А** - Поверхность цемента корня в норме в верхней и средней трети корня (ув. 1500). **Б** - поверхность цемента в верхней и средней трети корня с 3D визуализацией (ув. 1500). **В** - поверхность цемента в апикальной трети корня. **Г** - поверхность цемента в апикальной трети корня с 3D визуализацией(ув.1500). Стрелками отмечены обрывки волокон периодонта.

На поперечном срезе цемента зуба с интактным пародонтом было установлено, что в нем различаются внешний и внутренний слой. Образования, имеющие вид купола, образованы хаотичными скоплениями коллагеновых волокон, продолжающимися от внешних слоев цемента во внутренние и

вдающиеся вглубь дентина. По всей видимости в эти куполообразные возвышения на поверхности цемента переплетаются с волокнами периодонта (рисунок 5).

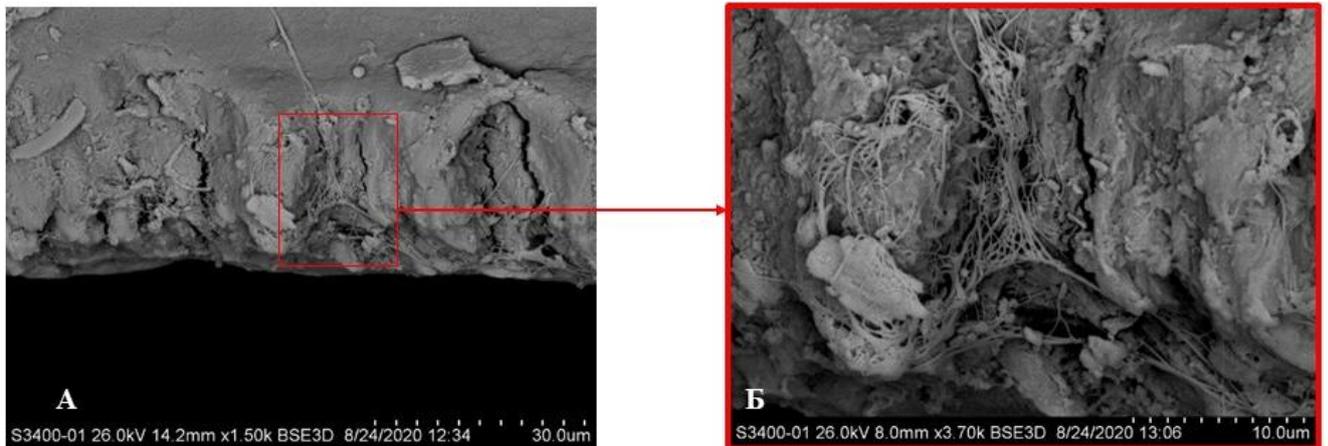


Рисунок 5 – Микрофотография поперечного среза цемента корня зуба в норме. А - Увеличение 1500, 3D визуализация Б – Увеличение 3700, 3D визуализация Плотно упакованные пучки волокон, распространяющихся в дентин

Поверхность цемента корней зубов, пораженных хроническим генерализованным пародонтитом тяжелой степени (Группа ХГП), демонстрировала большее разнообразие исследуемых характеристик. На поверхности корня обнаруживались большие скопления поддесневой бактериальной биопленки (рисунок 6А). Поверхность цемента у зубов, пораженных ХГП, часто утрачивала свое холмистое строение и выглядела неоднородной и шероховатой периодонтальные волокна часто полностью отсутствовали (рисунок 6Б), были обнаружены участки корня с деминерализацией цемента, наличием кратеров и зон глубокой резорбции (рисунок 6Г), с выраженной деструкцией поверхности цемента, обнажением внутренних волокнистых слоев или подстилающего дентина и отверстий дентинных канальцев (рисунок 6Д). В тоже время в области дна пародонтального кармана могли встречаться участки цемента сохранением его нормальной структуры (рисунок 6Е). В апикальной трети корня нам удалось обнаружить микроорганизмы, фиксированные на волокнах сохраненной периодонтальной связки (рисунок 6В).

Поперечный срез цемента у пациентов с ХГП тяжелой степени демонстрировал отсутствие характерной структуры цемента, выражающейся в наличии слоев, возможно, вследствие деминерализации либо демонстрировал полное отсутствие цемента (рисунок 7).

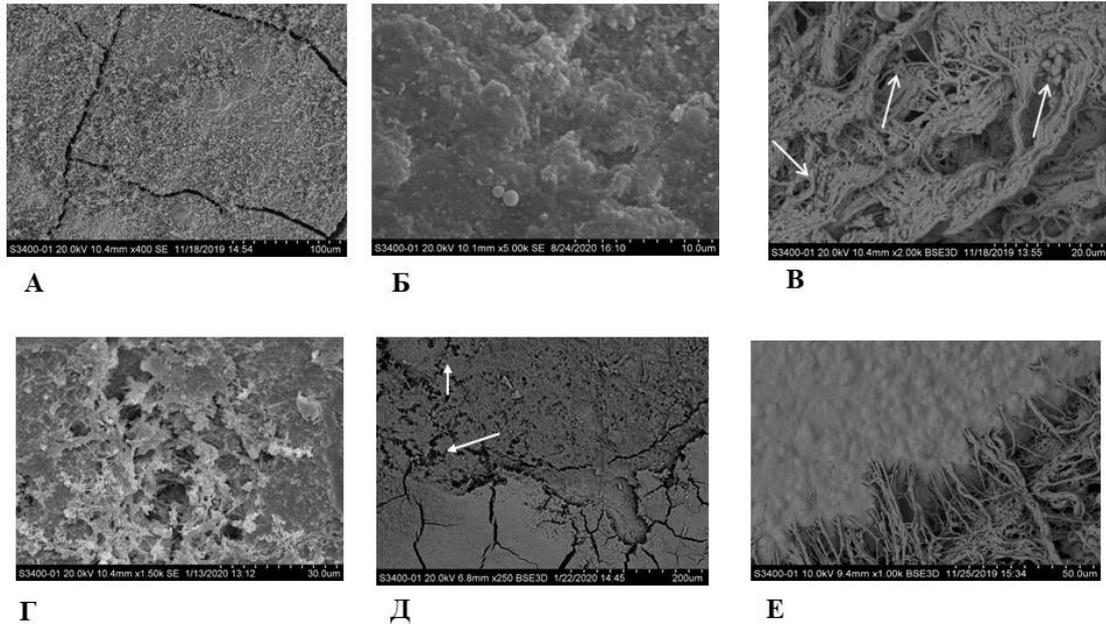


Рисунок 6 – Микрофотографии поверхности цемента корней зубов, пораженных ХГП тяжелой степени. Описание в тексте.

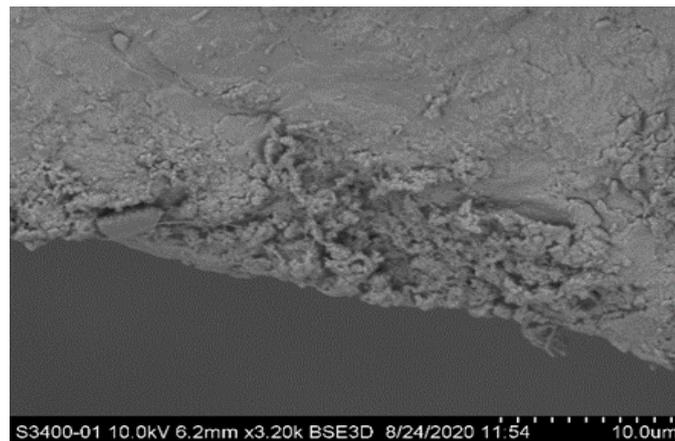


Рисунок 7 – Микрофотография поперечного среза цемента корня зуба у пациента с ХГП тяжелой степени. (ув.3200, 3D визуализация)

При сравнении воздействия исследуемых методов удаления микробной биопленки на ультраструктуру цемента корня зуба были получены следующие результаты.

Поверхность цемента после удаления поддесневой микробной биопленки и обработки ручными зоноспецифическими кюретами выглядела достаточно однородной и гладкой. В тоже время отмечались достаточно глубокие параллельные борозды, указывающие на направление движения инструмента и свидетельствующие о частичном удалении поверхности цемента корня. Отдельные незначительные бактериальные скопления сохранялись на поверхности цемента (Рисунок 8).

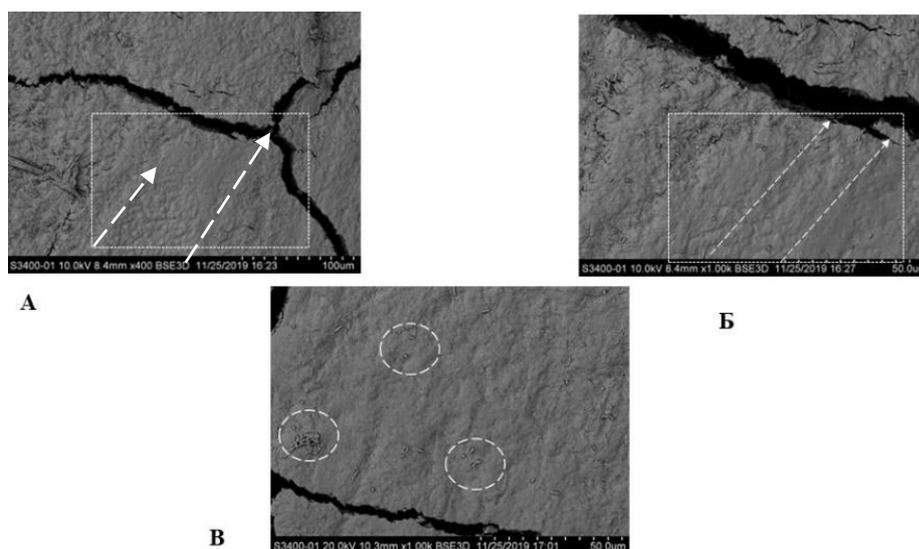


Рисунок 8 - Микрофотографии поверхности цемента корня зуба, обработанной ручными зоноспецифическими кюретами Грейси. **А** - Стрелками указано предполагаемое направление движения кюреты и борозды, образовавшиеся на поверхности цемента (ув.400, 3D визуализация). **Б** - Стрелками указано предполагаемое направление движения кюреты и борозды, образовавшиеся на поверхности цемента (ув.1000, 3D визуализация). **В** - Прерывистым кругом выделены отдельные скопления бактерий после обработки (ув.3500, 3D визуализация)

Поверхность цемента после удаления поддесневой микробной биопленки и обработки с помощью ультразвуковой системы с полировочной суспензией 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 устройством УЗСВ не приводила к дополнительным его повреждениям. Отмечалось наличие остаточных минерализованных отложений и бактериальных скоплений (рисунок 9). Микрофотографии поверхности цемента после удаления поддесневой микробной биопленки и обработки с помощью комбинации зоноспецифических кюрет и ультразвуковой системы с полировочной суспензией (Группа Кюреты+УЗСВ) демонстрировали однородную, как будто заполированную, поверхность без наличия глубоких борозд. Отдельные незначительные фрагменты бактериальной биопленки обнаруживались на поверхности цемента (рисунок 10).

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 выбрать оптимальные

методы поддесневой обработки поверхности корня, эффективные с точки зрения удаления биопленки и щадящие по отношению к цементу корня зуба.

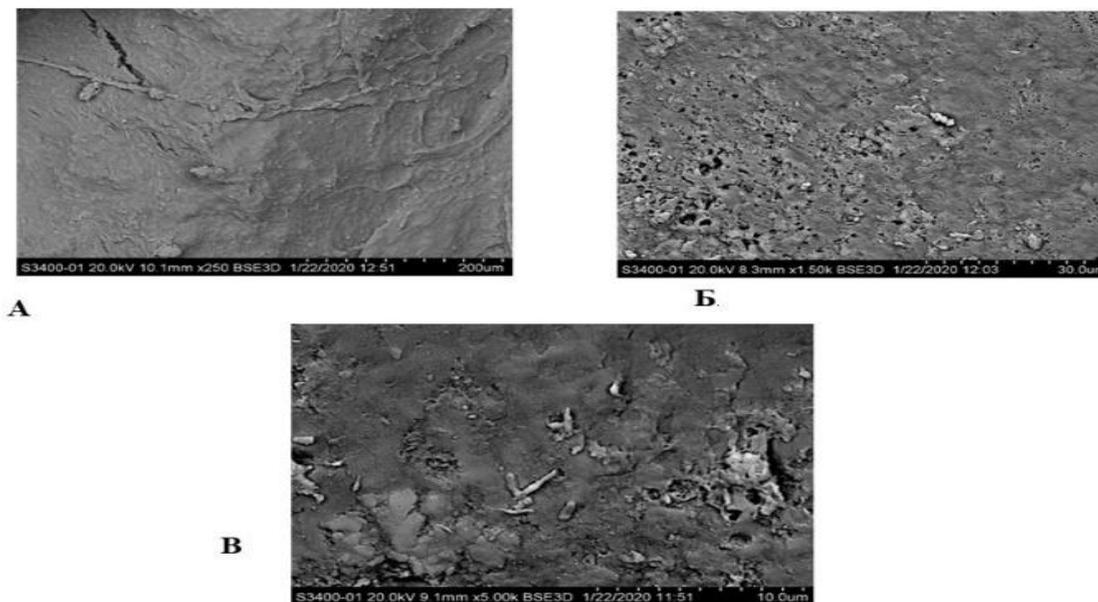


Рисунок 9 - Микрофотографии поверхности цемента корня зуба, обработанной ультразвуковой системой с полировочной суспензией. **А** - Сохраненная поверхность цемента и наличие остатков периодонтальных волокон (ув.250, 3D визуализация). **Б** - Отсутствие дополнительных повреждений цемента после обработки поверхности корня УЗСВ. (ув.1500, 3D визуализация). **В**-Наличие остаточных минерализованных зубных отложений и бактериальных скоплений на поверхности цемента (ув.5000, 3D визуализация)

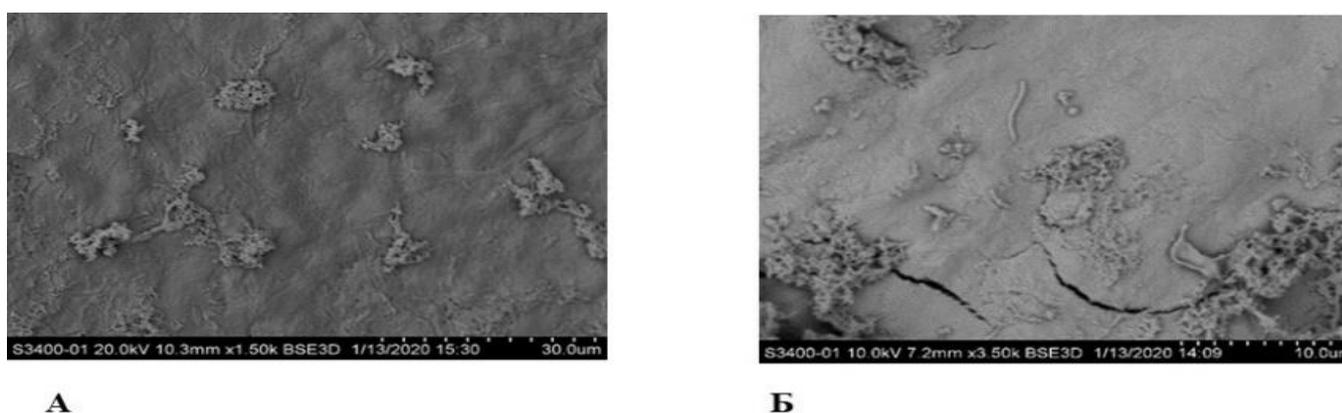


Рисунок 10 - Микрофотографии поверхности цемента корня зуба, обработанной комбинированной методикой с использованием зоноспецифических кюрет и ультразвуковой системы с полировочной суспензией. **А** - Гладкая поверхность после обработки (Ув.250, 3D визуализация). **Б**- Гладкая поверхность после обработки, борозды отсутствуют, направление инструментации сложно определить (Ув. 3500, 3D визуализация).

## 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 3 (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 недостаточно эффективной при больших количествах поддесневых зубных отложений.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. У пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом средней и тяжелой степени, впервые обратившихся 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

### В изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации:

1. 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.
2. 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. 544-547.
3. Root cementum ultrastructure in healthy and periodontally diseased teeth / **E. S. Slazhneva**, E. A. Tikhomirova, L. A. Elizova [и др.] // Пародонтология. – 2020. – Т. 25. – № 4. – С. 317-321.
4. **Слажнева, Е. С.** Пародонтопатогены: новый взгляд. Систематический обзор. Часть 1 / Е. С. Слажнева, Е. А. Тихомирова, В. Г. Атрушкевич // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2020. – Т. 20. - №1. – С.70-76.
5. **Слажнева, Е. С.** Пародонтопатогены: новый взгляд. Систематический обзор. Часть 2 / Е. С. Слажнева, Е. А. Тихомирова, В. Г. Атрушкевич // Стоматология детского возраста и профилактика. – 2020. – Т. 20. – № 2. – С. 160-167.
6. Тихомирова, Е. А. В-дефензины и воспалительные заболевания пародонта: систематический обзор / Е. А. Тихомирова, **Е. С. Слажнева**, В. Г. Атрушкевич // Пародонтология. – 2020. – Т. 25. – № 4. – С. 276-286.

### Тезисы в сборниках и материалах научных конференций:

7. **Слажнева, Е.С.** 3D визуализация поддесневой микробной биопленки / Е.С. Слажнева, В.Г. Атрушкевич // Сборник материалов XXVII Российского национального конгресса «Человек и лекарство»: Тезисы докладов. - Москва: Видокс, 2020. – С.77.
8. **Слажнева, Е.С.** Клинический и микробиологический контроль эффективности удаления поддесневой микробной биопленки в лечении хронического генерализованного пародонтита / Е.С. Слажнева // Всероссийская межвузовская научно-практическая конференция молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы стоматологии»: Тезисы докладов. –Москва: ЦГМА. – 2021. – С.66-67.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ГПК – Глубина пародонтального кармана, ОБМ – Общая бактериальная масса, СЭМ - Сканирующая электронная микроскопия, УЗСВ - Ультразвуковая система с полировочной суспензией Вектор, ХГП – Хронический генерализованный пародонтит, ВОР – Bleeding on probing (Индекс кровоточивости при зондировании), CAL – Clinical attachment loss (Клиническая потеря пародонтального прикрепления)

Подписано в печать 25.04.2022 г.  
Формат А5  
Бумага офсетная. Печать цифровая.  
Тираж 100 экз.  
Отпечатано в РИО МГМСУ  
г. Москва, ул. Делегатская, д.20, стр. 1