

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный  
университет»

## **ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА**

НА ТЕМУ: ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОБИОТЫ ПАРОДОНТАЛЬНЫХ КАРМАНОВ У  
ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ПАРОДОНТИТОМ.

Выполнила студентка

Блинникова Полина Алексеевна

524 группы

Научный руководитель

к.б.н. Королева Ирина Владимировна

Санкт-Петербург

2017

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Перечень условных обозначений.....	4
------------------------------------	---

### Введение

Актуальность.....	
5 Цель и задачи исследования.....	
6	
Научная новизна работы.....	7
Практическая значимость работы.....	7

### Глава 1. Литературный обзор

1. Хронический генерализованный пародонтит.....	8
2. Этиология и патогенез воспалительных заболеваний пародонта.....	8
3. Микробиота полости рта и воспалительные заболевания пародонта.....	17
3.1. Нормальная микробиота полости рта.....	17
3.2. Микробиота пародонтального кармана при хроническом генерализованном пародонтите.....	18
3.3. Факторы вирулентности пародонтопатогенов.....	19

### Глава 2. Материалы и методы исследования

4. Клиническая характеристика пациентов.....	30
5. Клинико-рентгенологическое обследование пациентов.....	31
6. Микробиологические методы исследования	
6.1. Забор материала.....	37

6.2. Конструирование олигонуклеотидных праймеров.....	37
6.3. Выделение тотальной ДНК из исходного биологического материала.....	39
6.4. Полимеразная цепная реакция.....	39
6.5. Электрофорез фрагментов ДНК.....	40
6.6. Компьютерный анализ.....	40
<b>Глава 3. Результаты исследований</b>	
7. Результаты клинических исследований.....	41
8. Результаты рентгенологического исследования.....	48
9. Результаты микробиологического исследования.....	49
<b>Заключение и выводы</b>	
Заключение.....	55
Выводы.....	58
Практические рекомендации.....	59
<b>Список литературы.....</b>	<b>60</b>
<b>Приложения.....</b>	<b>64</b>

## **ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

ВЗП – воспалительные заболевания пародонта

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ЛПС - липополисахарид

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ХГП – хронический генерализованный пародонтит

CPITN – Community Periodontal Index of Treatment Needs

OHI-S – Oral Hygiene Indices–Simplified

PMA – папиллярно–маргинально–альвеолярный индекс

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность:**

В настоящее время среди стоматологических заболеваний одно из ведущих мест занимают воспалительные заболевания пародонта (ВЗП).

Обращаемость населения с заболеваниями пародонта существенно возросла за последнее десятилетие и достигла 64% от общего амбулаторного приема [Курякина Н. В., 2007; Янушевич О. О., 2009; Леонова Л. Е., 2008]. По данным ВОЗ, заболевания пародонта тяжелой степени выявляются у 5-25% взрослого населения, средней степени — у 30-45% и только 2-8% людей имеют здоровые ткани пародонта в возрасте 35-45 лет. Показатели заболеваемости пародонтитом, одной из широко распространенных стоматологических патологий, на сегодняшний день имеют тенденцию к увеличению. [Меньшикова Ю. В., 2011; Грудянов А. И., 2006; Воронина А. И., 2010]

В последние годы сложилось представление о том, что бактериальный состав микробиоты является одним из ведущих пусковых факторов развития и прогрессирования ВЗП. Многими авторами показана полиэтиологическая природа заболеваний пародонта, причем большая роль в их развитии принадлежит воспалительным реакциям, спровоцированным микробиотой полости рта [Грудянов А. И., Овчинникова В. В., 2007; Пузин М. Н. и др., 2008; Прикулс В. Ф. и др., 2008; Цепов Л. М., и др., 2010; Леонтьев А. А., 2010]. В связи с этим исследование микробиологических факторов патогенеза ВЗП следует признать одной из актуальных проблем современной стоматологии.

Согласно данным ВОЗ (1998), среди анаэробных микроорганизмов ротовой полости выделяют некоторые, которые в отношении пародонта обладают высокими адгезивными, инвазивными и токсическими

свойствами, их относят к группе пародонтопатогенных микроорганизмов. К ним относят: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* и др. [Царев В.Н., 2004; Грудянов А. И. и др., 2004]

Таким образом, выявление пародонтопатогенов является необходимым диагностическим мероприятием для осуществления планирования комплексного лечения ВЗП, проведения антибактериальной терапии, прогнозирования течения заболевания.

Широкая распространенность ВЗП, неуклонно прогрессирующее течение воспалительного процесса в тканях пародонта, приводящее к утрате зубов, недостаточная эффективность лечения и профилактики обуславливают важность и значимость изучения качественного состава микробиоты пародонтальных карманов. [Грудянов А. И., Овчинникова В. В., 2007; Пузин М. Н. и др., 2008; Прикулс В. Ф. и др., 2008; Цепов Л. М., и др., 2010; Леонтьев А. А., 2010]

#### **Цель исследования:**

Оценка качественного состава микробиоты пародонтальных карманов у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП) легкой, средней и тяжелой степени тяжести.

#### **Задачи исследования:**

1. Изучить особенности стоматологической заболеваемости пациентов с ХГП легкой, средней и тяжелой степени тяжести.
2. Изучить качественный состав микробиоты пародонтальных карманов у пациентов с ХГП легкой, средней и тяжелой степени тяжести.

3. На основе оценки клинического и микробиологического статуса выявить возможную взаимосвязь воспалительных изменений в тканях пародонта и изменения микробиоты пародонтальных карманов у пациентов с ХГП различной степени тяжести.

**Научная новизна работы:**

Проведена оценка микробиоты пародонтальных карманов пациентов с ХГП различной степени тяжести и пациентов без патологии пародонта. Проведен ПЦР – скрининг на пародонтопатогены и определены *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* и *Prevotella intermedia*.

**Практическая значимость исследования:**

Проведенное исследование позволило оценить различия в микробиологическом статусе пациентов с ХГП различной степени тяжести и пациентов без патологии пародонта, рекомендовать идентификацию пародонтопатогенных микроорганизмов для планирования лечения ХГП различной степени тяжести. Оценка микробиоты пародонтальных карманов позволит увеличить эффективность патогенетической терапии ХГП.



## ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

### 1. Хронический генерализованный пародонтит

Пародонтит и гингивит являются самостоятельными нозологическими формами заболеваний пародонта, однако их можно рассматривать как стадии развития воспаления в тканях пародонта. Воспалительные процессы развиваются в случае, когда раздражающий агент оказывает химическое или химико-инфекционное повреждающее воздействие на здоровые ткани. Этому способствуют продукты жизнедеятельности микроорганизмов: ферменты, которые разрушают соединительную ткань пародонта, микробные эндотоксины, приводящие к выраженным морфологическим изменениям, токсины. Влияние микробиоты ротовой полости на ткани пародонта находится в зависимости от иммунных и неспецифических факторов защиты, питания и соблюдения индивидуальной гигиены полости рта. [ Барер Г.М., 2013 ]

По мнению Л.М. Цепова (2008 г.) ХГП можно охарактеризовать как «заболевание возникающее под влиянием неблагоприятного воздействия внешних и внутренних, общих и местных факторов, инфекционно-индуцирующих иммунным повреждением пародонтальный комплекс с большой вероятностью генетической предрасположенности, т.е. являющееся результатом нарушения равновесия между факторами агрессии (пародонтопатогенами) и факторами защиты макроорганизма, полости рта и пародонтального комплекса, протекающего с инициальным поражением десны (гингивит) и последующим вовлечением в патологический процесс всех структур пародонта (пародонтит), характеризующегося прогрессирующим течением с исходом в резорбцию костной ткани, альвеолярного отростка, разрушением удерживающего аппарата зуба, появлением подвижности последнего, образованием пародонтального кармана и заканчивается выпадением или удалением зуба

и несомненным нарушением функции зубочелюстной системы и организма в целом».

Заболевания пародонта вместе с кариесом зубов и его осложнениями являются самыми распространенными стоматологическими заболеваниями среди населения России.

Доля ВЗП в стоматологической заболеваемости неуклонно растет. Начальные признаки воспаления пародонта могут отмечаться уже у детей младшего возраста. С возрастом распространенность и интенсивность болезней пародонта увеличивается. Воспалительные заболевания пародонта являются наиболее частой причиной потери зубов. [ Барер Г.М., 2013]

Согласно данным ВОЗ, основанным на последних результатах эпидемиологических исследований, здоровый пародонт встречается лишь в 2-10% наблюдений, ВЗП выявляются у 90-95% взрослого населения [ВОЗ, 1990; Губин М. А. и др., 2006; Грудянов А. И., Овчинникова В. В., 2007] и могут приводить к морфофункциональным изменениям в жевательном аппарате, связанным с потерей зубов, в 5 раз чаще, чем при осложнениях кариеса. [Лукиных Л. М. и др., 2005]

Распространенность заболеваний пародонта увеличивается и, согласно данным некоторых авторов, достигает 98%. [Дмитриева Л. А., 2001; Курякина Н. В., 2000]

Для развития пародонтита необходимо сочетание местных и общих факторов, воздействующих на альвеолярную кость и связочный аппарат зубов. Выделяют генерализованный или локализованный пародонтит с различными степенями тяжести. Степень тяжести определяется по клинико-рентгенологической ситуации в ротовой полости, но основной критерий – уровень деструкции костной ткани альвеолярного отростка, который обуславливает наличие и глубину пародонтального кармана.

[Николаев А.И., Цепов Л.М., 2008]

Клиническая картина развития пародонтита достаточно разнообразна и зависит от многих факторов. В основе развития симптомов пародонтита лежит деструкция костной ткани альвеолярного отростка и интенсивность воспаления. Жалобами пациентов с ХГП могут быть: кровоточивость десен при чистке зубов, приеме твердой пищи и при других воздействиях на маргинальный край десны, галитоз (неприятный запах из полости рта), патологическая подвижность зубов и нарушение их функций.

Диагностика ХГП подразумевает клинический осмотр полости рта и проведение дополнительных методов исследования. Для постановки предварительного диагноза достаточно осмотра и зондирования пародонтальных карманов, но для постановки окончательного диагноза и определения плана лечения проводят параклинические (инструментальные и лабораторные) методы обследования. Данные рентгеновского исследования позволяют оценить степень деструкции костной ткани и разрушение компактной пластинки альвеолярного отростка, наличие патологических очагов воспаления в периапикальной области и других изменений. Также проводят оценку гигиенического состояния полости рта с помощью индексов гигиены и пародонтальных индексов.

Исследование содержимого пародонтального кармана проводят для увеличения эффективности лечения. Исследуют биохимический и микробиологический состав пародонтальной жидкости.

С помощью клинических, рентгенологических и лабораторных признаков можно описать активность течения ХГП и степень его тяжести.

Определить степень тяжести — это достаточно непростая задача, так как пародонтит на различных участках зубного ряда прогрессирует неравномерно. Американская академия педиатров (AAP, 1996) для определения степени тяжести ХГП предлагает использовать не только глубину пародонтального кармана, но и воспаление десны, утрату костной ткани, клиническую потерю прикрепления, поражение фуркации и

патологическую подвижность зуба. (Таблица 1.1)

**Таблица 1.1**

Критерии оценки степени тяжести ХГП

Степень тяжести пародонтита	Воспаление десны, кровоточивость (ВОР)	Глубина зондирования карманов, мм	Клиническая потеря прикрепления, мм	Утрата костной ткани	Поражение фуркации	Подвижность зуба
Легкая	От + до ++ +	<4	1-2	+	-	-
Средняя	От + до ++ +	4-6	3-4	Горизонтальная ++, иногда вертикальная +	F1	+
Тяжелая	От + до ++ +	>6	≥5	Вертикальная ++	F2, F3	++

## 2. Этиология и патогенез воспалительных заболеваний пародонта

На развитие заболеваний пародонта могут влиять местные факторы, такие как функциональная травма, микроорганизмы зубных отложений, а также сочетанное воздействие местных и общих факторов на фоне измененной реактивности организма. Микробная бляшка (зубной налет) является первопричиной хронических воспалительных процессов в пародонте. [Барер Г.М., 2013]

Местные факторы, способствующие развитию воспалительных заболеваний пародонта:

- состав и свойства слюны;
- травматическая окклюзия;
- отсутствие контактов между зубами;
- зубной камень;
- аномалии положения отдельных зубов и патология прикуса;
- поверхности некачественных пломб, коронок и протезов;
- особенности строения мягких тканей (прикрепление уздечек губ и мышечных тяжей).

Системные факторы в патогенезе пародонтита:

- эндокринные нарушения;
- гипо- и авитаминозы;
- атеросклеротическое поражение сосудов;
- иммунологические нарушения;
- генетическая предрасположенность;

- хронические заболевания печени, толстой кишки, желудка;
- патология почек;
- стресс;
- курение табака;
- болезни крови и гемопоэтической системы.

Все вышеизложенные факторы влияют на защитную систему пародонта и создают условия для патогенного действия микробиоты на ткани пародонта и прежде всего на зубодесневое прикрепление, воспаление и деструкция которого приводят к формированию пародонтального кармана и развитию пародонтита. [Орехова Л. Ю., 2004, Мюллер Х. П., 2004]

Действие патогенных факторов возможно только в том случае, если превышают защитные силы пародонта и при снижении реактивности организма. [Данилевский Н.Ф., Борисенко А.В., 2000]

Основной концепцией развития пародонтита в XX веке служила «неспецифическая бляшечная» теория, предложенная Walter Loesche в 1976 году. Согласно этой теории, все бактерии бляшки в равной степени могут быть возбудителями заболевания при условии достижения количества микроорганизмов в бляшке определенного уровня, и организм уже не может противостоять патологическим процессам, провоцируемых воздействием токсических продуктов бактерий. Но данная точка зрения имеет несколько неразрешенных, например, что обилие мягкого зубного налета приводит к развитию гингивита, но далеко не у всех людей данное состояние перерастает в пародонтит, а если и прогрессирует, то непораженные участки пародонта соседствуют с пораженными несмотря на одинаковый патогенный потенциал зубной бляшки.

В середине 70-х годов прошлого века была сформулирована иная

гипотеза, согласно которой не все бактерии способствуют деструкции тканей пародонта, а только те, которые обладают специфическим патогенным потенциалом для возникновения заболевания. Данная теория была названа «специфической бляшечной». Сторонники данной теории занимались вычислением этих особенных микроорганизмов и выясняли причины их колонизации. В ходе нескольких экспериментов было определено, что к возбудителям пародонтита относятся преимущественно грамотрицательные и анаэробные виды микроорганизмов.

Возбудители, способствующие возникновению пародонтита:

- ✓ Грамотрицательные анаэробы – *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Compylobacter rectus*, *Prevotella intermedia* и другие спирохеты полости рта;
- ✓ Грамотрицательные факультативные анаэробы – *Eikenella corrodens*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*;
- ✓ Грамположительные анаэробы – *Peptostreptococcus micros*, *Eubacterium nodatum*, *Streptococcus intermedius*.

Редко и в небольшом количестве они также могут обнаруживаться и у здоровых лиц.

В настоящее время в качестве альтернативы «специфической» теории была выдвинута «экологическая» теория, которая рассматривает влияние внешних факторов на экологию биопленки. То есть внешние факторы инициируют изменение состава нормальной микробиоты биопленки и это, в конечном счете, приводит к преобладанию патогенных видов микроорганизмов. Сторонниками этой теории акцентируется внимание на том, что отдельные микроорганизмы вряд ли сами по себе могут самостоятельно спровоцировать патологический воспалительный процесс, ведущий к деструкции пародонта. [Ричард Дж.Ламонт, Мэрилин С.Лантц, 2010]

Было выявлено пять бактериальных пародонтопатогенных комплексов, бактерии которых связаны друг с другом в биопленке: «красный», «зеленый», «желтый», «пурпурный» и «оранжевый». (Socransky S.S., Haffajee A.A., 2000; Люговская А.В., Юдина Н.А., 2009)

- «Красный комплекс», обладающий наивысшим патогенным потенциалом, обладают агрессивным воздействием на ткани пародонта, как результат сильная кровоточивость десен и быстрое течение деструктивных процессов в пародонте. В него входят – *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*;
- «Оранжевый комплекс» – *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium polymorphum*, *Peptostreptococcus micros*, *Compylobacter rectus*, и другие. Обнаруживается при быстро прогрессирующими формами болезней пародонта;
- «Желтый комплекс» – *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*. Могут играть защитную роль, вступая в антагонистические взаимодействия с периодонтальными патогенами, но роль этих комплексов до конца не изучена.
- «Зеленый комплекс» является причиной как заболеваний пародонта, так и иных поражений слизистой оболочки рта и твердых тканей зубов. В него входят – *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga ochracea*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Capnocytophaga sputigena*;
- «Пурпурный комплекс» - *Veillonella parvula*, *Actinomyces odontolyticus*.

Именно эти микроорганизмы чаще всего определяются при ВЗП, поэтому их и назвали пародонтопатогенными. [Socransky S.S., Haffajee A.A., 2000; Грудянов А. И., Овчинникова В. В., 2007]



Среди перечисленных микроорганизмов основную пародонтопатогенную роль играют анаэробные микроорганизмы: *Porphyromonas Gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia* и др. Доказано преобладание анаэробной микробиоты в пародонтальных карманах при обострении ХГП средней и тяжелой степеней. [Ximenez-Fyvie L.A. [et al.], 2000; Bodet C. [et al.], 2006; Дрижал И., 2001] Особенностью воздействия этих анаэробов является то, что они выделяют эндотоксины, повреждающие клетки и межклеточные структуры пародонта. Эти микроорганизмы обитают в местах, лишенных доступа кислорода: в обильных скоплениях зубного налета, зубного камня. Поэтому они идентифицируются в глубоких пародонтальных карманах при пародонтите средней и тяжелой степеней. Особенностью влияния пародонтопатогенов является выделение чрезвычайно активных эндотоксинов, повреждающие все ткани пародонта, включая кость; в начале развития заболевания процесс деструкции происходит медленно, а затем резко усиливается. [Грудянов А. И., Овчинникова В. В., 2007]

### **1.3 Микробиота полости рта и воспалительные заболевания пародонта**

Полость рта представляет собой экологическую нишу организма, которая обладает наилучшими условиями для локализации и роста большинства микроорганизмов. В ротовой полости микробная флора является или основной причиной развития патологического процесса, или соучастником. [Царев В. И., Давыдова М.М., 2008]

"Ротовую полость человека населяет более 700 видов бактерий. Большинство из них являются безвредными и выполняют полезные функции поддержания здоровой микрофлоры в ротовой полости человека. Однако некоторые виды бактерий являются «пародонтопатогенными бактериями» или маркерными микроорганизмами. Целенаправленная борьба с этими бактериями имеет ключевое значение для достижения долгосрочного положительного эффекта терапии" [Ричард Дж. Ламонт, Мэрилин С. Лантц, 2010].

#### **2.1. Микробиота здорового пародонта**

Ткани здорового пародонта обладают довольно ограниченной микробиотой, расположенной под десной на поверхности зуба. Микроорганизмы пародонта составляют слой от 1 до 20 клеток. Электронно-микроскопическое исследование в области десневого желобка выявило слой, в котором можно обнаруживаются грамположительные кокки, которые составляют 75% бактериальной популяции, а вместе с палочками – до 90%. Отношение подвижных форм микроорганизмов к неподвижным составляет 1:49. В десневом желобке преобладают нитевидные и извитые облигатно-анаэробные виды бактерий: лептотрихии, актиномицеты, спираиллы, фузобактерии, анаэробовибрио, кампилобактер и спирохеты. Могут также обнаруживаться простейшие, дрожжеподобные грибы, микоплазмы.

При исследовании содержимого пародонтального кармана выявлено, что у людей без патологии пародонта концентрация бактерий в десневой жидкости не заходит за границу в 100 тысяч клеток в мл. Однако, при заболеваниях пародонта концентрация вышеперечисленных микроорганизмов возрастает в несколько раз. [Царев В.И., 2008].

## **2.2. Микробиота пародонтального кармана при хроническом генерализованном пародонтите**

На основе микробиологических исследований при ХГП были выявлены преимущественные микробные представители: преобладали грамотрицательные анаэробные палочки *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter sputorum* и др. У некоторых пациентов превалировали актиномицеты. [Грудянов А. И., 2007; Ричард Дж. Ламонт, Мэрилин С. Лантц, 2010]

Согласно данным ВОЗ, к основным пародонтопатогенным видам в настоящее время относят *Porphyromonas gingivalis* и *Prevotella intermedia*. К пародонтопатогенам второго порядка относят: *Prevotella intermedia*; *Tannerella forsythia*; *Actinobacillus actinomycetemcomitans*; *Treponema denticola*; *Fusobacterium spp.*; *Peptostreptococcus micros*; *Streptococcus intermedius*; *Wolinella recta*. Пародонтопатогенные микроорганизмы редко встречаются у пациентов со здоровым пародонтом, за исключением единичных случаев.

Также десневой желобок населяет стабилизирующая микробиота, которая в здоровых тканях пародонта представлена в значительном количестве. При изменении внешних условий стабилизирующие микроорганизмы начинают проявлять свои патогенные свойства. К таким микроорганизмам принято относить: *Veillonella spp.*; *Streptococcus sanguis*; *Enterobacterium spp.*; *Streptococcus salivarius*; *Peptostreptococcus spp.*; *Streptococcus mutans*; *Streptococcus milleri*; *Corinebacteriura spp.*;

*Propionibacterium spp.*; *Lactobacillus spp.*; *Haemophilus spp.*; *Enterococcus spp.* [Царев В.И., 2008]

### 2.3. Вирулентные свойства пародонтопатогенов

Для данного исследования наибольшее значение имеют 4 микроорганизма: *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* и *Prevotella intermedia*, так как именно эти бактерии посредством своих факторов вирулентности участвуют в развитии пародонтита. Согласно последним исследованиям эти пародонтопатогенные микроорганизмы наиболее часто встречаются у пациентов с ХГП. [Царев В.И., 2008]

➤ *Porphyromonas gingivalis* – это неподвижная грамотрицательная анаэробная палочка. Из предполагаемых возбудителей она наиболее тесно связана с ХГП. Обнаружение *P. gingivalis* в полости рта может указывать на повышенный риск развития пародонтита, а при правильно подобранной терапии происходит снижение числа этих микроорганизмов в тканях.

- Молекулы и структуры:

#### а) Протеазы

Основная функция протеаз – обеспечение растущих клеток пептидами. Но так как они разрушают фибриноген и белки внеклеточного матрикса макроорганизма, то могут ослаблять его защитные механизмы. Поэтому этим молекулам в настоящее время приписывается роль основных факторов вирулентности при развитии пародонтита.

На данный момент известны генетические последовательности, обеспечивающие синтез данных ферментов.

Лучше всего охарактеризованы аргинин- и лизинспецифические цистеиновые протеиназы - гингипаин R и гингипаин K, синтез которых

кодируют три гена: *rgpA*, *rgpB*, *kgp*. Данные ферменты обладают адгезивной и гемагглютинирующей активностью.

У *P. gingivalis* существует другая группа цистеиновых протеиназ – стрептопаин-подобная протеаза, пародонтаин, являющиеся продуктами гена *prtT*, которые расщепляют и инактивируют ингибитор  $\alpha 1$ -протеиназы. Эти протеиназы обладают гемагглютинирующей способностью.

Другой ген (*trg*) кодирует синтез Pz-пептидазы, располагающийся на поверхности бактериальной клетки. Данный фермент не действует на нативный коллаген, расщепляет желатин и Pz-пептид, что приводит к разрушению коллагена зубодесневого прикрепления в пародонте.

Другие протеиназы включают аминопептидазы, эндотелин-превращающий фермент, подобный эндопептидазе, и пролилдипептидилпептидазу IV.

Протеиназы участвуют в нарушении целостности тканей, поскольку разрушают белки внеклеточного матрикса - фибронектина и ламитина, гидролизизируют коллагены, разрушают фибриноген и активируют калликреин-кининовую систему; повреждают защитные механизмы макроорганизма, разрушая иммуноглобулины, уничтожают цитокины и поверхностные рецепторы лейкоцитов, инактивируют систему комплемента. При этом микроорганизм получает гемины и ионы железа от макроорганизма.

#### б) Гемагглютинины

Прикрепление бактерий к рецепторами клеток макроорганизма и последующая их колонизацию связана с гемагглютининами. Гемагглютинирующая способность микроорганизма связана с фимбриями, липополисахаридом (ЛПС) и липидом на поверхности клетки, соответствующими доменами протеаз и такими белками, как *HagA*, *HagB* и

НаgС. Последние представляют собой адгезины, и с их помощью бактерии крепятся к клеткам макроорганизма, например, эпителиальным клеткам или эритроцитам.

#### с) Липополисахариды (ЛПС)

В ЛПС *P. gingivalis*, в отличие от ЛПС энтеробактерий, не содержится гептоза, либо содержится в очень небольших количествах; кроме того, жирные кислоты бактерии несколько длиннее и более разветвленные. У *P. gingivalis* довольно слабая эндотоксичность в отличие от ЛПС других бактерий, что является следствием несходства их химической структуры.

#### д) Фимбрии

На поверхности бактерий имеются перитрихальные фимбрии. Выделяют 2 типа фимбрий. Длинные фимбрии проявляют гомологию с субъединицами фимбрий бактерий других видов. Короткие фимбрии встречаются реже. В опытах *in vitro* показана потенциальная роль фимбрий в прикреплении, колонизации и разрушении тканей пародонта. Фимбрии играют важную роль в развитии инфекционного процесса.

#### е) Пузырьки наружной мембраны

Пузырьки возникают путем выпячивания наружной мембраны и вследствие этого в них содержатся ее структуры, а также компоненты периплазмы. Пузырьки участвуют в связывании микроорганизма с эритроцитами, другими бактериями и поверхностью гидроксиапатита. Кроме того, они обладают способностью агрегировать тромбоциты. Предполагают, что адгезивные микропузырьки могут быть средством доставки факторов вирулентности, поскольку благодаря их малому размеру они могут проникать в недоступные для клеток места.

#### ф) Полисахаридная капсула

У *P. gingivalis* выделяют шесть различных серотипов капсул. Поскольку инкапсулированные штаммы плохо фагоцитируются, капсулу считают важным фактором вирулентности. Полисахаридная капсула может маскировать ЛПС, что приводит к изменению его активности.

- Механизмы вирулентности:

*P. gingivalis* подобно другим микробам полости рта должна прикрепиться к субстрату, что происходит благодаря фимбриям. Они связываются с различными субстратами: эпителиальные клетки, компоненты матрикса, компоненты слюны, гидроксиапатит, что способствует дальнейшей колонизации. После этого микроорганизм проходит эпителиальный барьер, повреждает сигнальную систему клетки, инактивирует транскрипцию и секрецию нейтрофилами IL-8, разрушает компоненты плотного межклеточного контакта, что приводит к проникновению в более глубокие слои. Протеолитические ферменты разрушают белки макроорганизма и нарушают его функции. Это приводит к развитию воспалительной реакции, но может происходить супрессия реакции из-за компонентов клетки бактерии.

*P. gingivalis* стимулирует разрушение костной ткани, подавляет ее восстановление из-за нарушения взаимодействия между остеобластами и остеокластами, ЛПС приводит к выбросу из фибробластов, макрофагов и моноцитов молекул костной резорбции, таких, как IL-1, PGE<sub>2</sub>, TNF- $\alpha$ . Эти медиаторы способствуют синтезу ферментов-протеаз макроорганизма для разрушения костной ткани. [Ричард Дж. Ламонт, Мэрилин С. Лантц, 2010]

➤ *Treponema denticola* – грамотрицательная облигатно-анаэробная бактерия из семейства спирохет.

- Молекулы:

а) Главный белок наружной мембран

Этот адгезин массой 53 кДа (Msp) обладает порообразующей способностью и опосредует связывание с различными поверхностными структурами и матриксными молекулами (фибронектином, ламинином, фибриногеном). Он также цитотоксичен в отношении эпителиальных клеток и эритроцитов (скорее всего, за счет порообразующей активности).

#### б) Протеиназы

С белком Msp тесно связан дентилизин, подобный химотрипсину протеиназный комплекс наружной мембраны с молекулярной массой 95 кДа (CTLP), а также комплекс PrtP, состоящий из белков с молекулярной массой 72, 40 и 30 кДа. Этот специфичный к пропилфенилаланину протеиназный комплекс обладает широким спектром активности. Продукт гена *prcA* – PrcA массой 70 кДа расщепляется белком PrtP на белки массой 40 и 30 кДа (PrcA1 и PrcA2 соответственно). Возможно, расщепление необходимо для формирования комплекса, либо его стабилизации. Он участвует в прикреплении микробных клеток, инвазии в ткани организма с их деструкцией. У *T. denticola* обнаружен ряд других протеолитических ферментов, которые способны разрушать структурные компоненты пародонта и биологически-активные молекулы организма-хозяина.

#### с) Гемин- и лактоферринсвязывающие белки

У *T. denticola* выявлено не менее 2 механизмов связывания гемина, в одном из которых участвует фосфолипаза С. Геминсвязывающие белки считают компонентом особого пути захвата железа. У *T. denticola* идентифицированы также белки, связывающие лактоферрин. Используя рецепторы своей наружной мембраны (массой 17 и 43 кДа), бактерии могут утилизировать лактоферрин слюны.

- Механизмы вирулентности:

#### а) Подвижность и хемотаксис



Подвижность считается основным фактором вирулентности спирохет, так как неподвижные мутанты неспособны инфицировать ткани организма-хозяина. Подобно другим спирохетам, у *T. denticola* подвижность зависит от вязкости среды. В десневой борозде она высока, поэтому подвижность может обеспечивать проникновение бактерии в ткани. В пенетрации и инфильтрации тканей, вероятно, принимает участие и хемотаксис.

#### в) Гемагглютинация и гемолиз

*T. denticola* могут агглютинировать и лизировать эритроциты. Гемагглютинирующая активность зависит от фазы роста и наличия гемолизина (белка массой 45 кДа). Он гомологичен аминотрансферазам и связывается с D-глюкозаминподобными компонентами. Гемолиз может вызывать и дентилизин.

#### с) Адгезия

Фибробласты. *T. denticola* прикрепляются к десневым фибробластам человека в аэробных и анаэробных условиях, скорее всего, за счет взаимодействия лектина бактерий с галактозо-маннозосодержащим рецептором фибробласта.

Внеклеточный матрикс. Большинство штаммов *T. denticola* связываются с внеклеточными белками, например с фибронектином, ламинином, коллагенами типов I и IV в базальной мембране, а также фибриногеном и желатином (наиболее прочно – с ламинином). В специфической связи с каждым белком участвует его сульфгидрильные и карбоксильные группы. Ламинин, фибронектин и фибриноген связываются с главным белком (53 кДа) *T. denticola*.

Очищенный мембранный комплекс CTLP (дентилизин) может расщеплять IgA, IgG, фибриноген, альфа-1-антитрипсин, желатин,

ланимин, сывороточный альбумин и трансферрин. Он также связывается с гиалоурананом — полисахаридом многослойного плоского эпителия полости рта.

Эпителиальные клетки. *T. denticola* может связываться с эпителиальными клетками, вызывая цитопатическое действие. Предполагают, что в адгезии участвует дентилизин, который при этом взаимодействует с главным белком наружной мембраны (Msp) этих бактерий. Считается, что Msp встраивается в плазматическую мембрану клетки организма-хозяина и опосредует перенос в нее поверхностных компонентов бактерий. Обладая цитотоксичностью, дентилизин вызывает также вспенивание мембраны эпителиальной клетки, подавляет адгезию и подвижность мигрирующих клеток.

Эндотелиальные клетки. *T. denticola* может прикрепляться к эндотелию, связываясь с клетками на всем их протяжении и часто используя для этого микроворсинки клеток организма-хозяина.

Коагрегация. *T.denticola* образуют агрегаты с *P. gingivalis* и *Fusobacterium spp.*, что может иметь значение для формирования зубной бляшки, а также для питания бактерий.

#### d) Инвазия

Проникновение в ткани. На модели абсцесса на фоне нарушенной и нормальной функции нейтрофилов *T. denticola* вызывают стойкие глубокие очаги поражения. Другие трепонемы полости рта давали сходные повреждения, но они не были связаны с активностью протеаз, подобных химотрипсину.

Проникновение в клетки. Хотя для *T. denticola* нехарактерно проникновение в клетки, эти бактерии могут внедряться в прочные монослой эпителиальной и эндотелиальной ткани.

#### е) Протеолитическая активность

Дентилизин может нарушать межклеточные связи, ослабляя барьерную функцию эпителия. В опытах на мышах установлено, что дефицитные по протеазной активности мутантные бактерии, в отличие от исходного штамма, не разрушали соединения между эпителиальными клетками.

#### ф) Иммуносупрессия

Установлено, что лизаты *T. denticola* подавляют пролиферативный ответ человеческих лимфоцитов на антигены и мутагены. Это действие бактерий зависит от моноцитов и не приводит к нарушению жизнеспособности лимфоцитов. Кроме того, липопротеиновая фракция бактерий может оказывать влияние на зависимые и независимые от кислорода защитные функции нейтрофилов.

➤ *Tanerella forsythia* – грамотрицательная анаэробная бактерия из семейства Bacteroides.

- Молекулы:

##### а) Гидролазы

*T.forsythia* синтезирует трипсиноподобные протеазы – аргининспецифичную цистиновую протеазу и сиалидазу. Цистиновая протеаза обладает также гемолитической активностью; она обнаруживается в мембранных фракциях бактерий, что может указывать на ее участие в приобретении железа из эритроцитов.

- Механизмы вирулентности:

##### а) Коагрегация

*T. forsythia* коагрегирует с *P. gingivalis* при участии различного рода белково-белковых взаимодействий, причем данный процесс может подавляться сывороткой крови. Возможна коагрегация и со *S. cristatus*.

#### б) Адгезия

В связывании *T. forsythia* с фибронектином и фибриногеном участвует BspA – поверхностный антиген с богатыми лейцином повторами. *T. Forsythia* может прикрепляться также к эритроцитам, фибробластам и лейкоцитам. [Чухловин А.Б., Соловьева А.М., 2007; Ричард Дж.Ламонт, Мэрилин С.Лантц, 2010]

➤ *Prevotella intermedia* - грамотрицательная облигатно – анаэробная бактерия.

- Молекулы и структуры:

#### а) Фимбрии

У данного микроорганизма выделяют четыре вида фимбрий (в основе классификации лежит их диаметр). Тип фимбрий и характер их расположения зависит от штамма: некоторые не образуют фимбрии, другие – только один тип, третьи – несколько типов.

#### б) Гидролазы

Для *P. intermedia* характерны гидролитические, в том числе протеолитические (например, образуются протеазы IgG, IgA1), нуклеолитические, липолитические и сахаролитические свойства. Выраженность этих свойств зависит от штамма.

#### с) Гемолизин и гемагглютинин

Связанные с поверхностью *P. intermedia* пузырькам наружной мембраны присуща гемолитическая активность. По-видимому, она обусловлена многокомпонентным гемолизином, существующим в двух

функциональных формах. Бактерия может приводить к термолабильной агглютинации эритроцитов, обусловленной главными фимбриями, а к термостабильной агглютинации за счет ЛПС – подобных структур.

- Механизмы вирулентности:

- а) Коагрегация

Коагрегация *P. intermedia* представлена высокоспецифичным процессом. Некоторые штаммы коагрегируют только с отдельными видами *Actinomyces*. В коагрегации участвуют поверхностный белок или гликопротеин *P. intermedia*.

- б) Адгезия

*P. intermedia* может прилипать к буккальным эпителиальным клеткам, а также связываться белками макроорганизма: с коллагеном типа I, фибриногеном, ламинином органической матрицы организма-хозяина, разрушает лактоферрин клеток, что способствует колонизации ткани.

- в) Инвазия в эпителиальные клетки

Проникновение *P. intermedia* в эпителиальные клетки связано с присутствием фимбрий типа С.

- д) Индукция выработки воспалительных цитокинов

ЛПС и поверхностные компоненты *P. intermedia* способствуют индукции экспрессирования провоспалительных цитокинов. IL-1 активирует резорбцию костной ткани, IL-8 является хемокином для нейтрофильных лейкоцитов, IL-6 приводит к активации пролиферации Т- и В- лимфоцитов. [Чухловин А.Б., Соловьева А.М., 2007; Ричард Дж.Ламонт, Мэрилин С.Лантц, 2010]

Таким образом, патогенная микробиота пародонтальных карманов играет важную роль в развитии и течении ХГП. Поэтому терапия ХГП, прежде всего, должна быть своевременна и направлена на снижение или полное исключение воздействия пародонтопатогенных микроорганизмов.

Исследование микробиоты пародонтальных карманов у пациентов с ХГП различной степени тяжести необходимо для своевременного назначения этиотропного и патогенетического лечения, что позволит приостановить течение ХГП.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Клиническая характеристика пациентов

Было проведено обследование 34 пациентов (18 женщин и 16 мужчин) в возрасте от 31 до 60 лет (средний возраст составил 49,1 лет) с ХГП различной степени тяжести без тяжелой сопутствующей патологии, а также пациентов без патологии пародонта, которые находились на амбулаторном лечении в СПб ГБУЗ «Городская стоматологическая поликлиника № 33».

В соответствии с поставленными задачами было сформировано 2 группы:

- Основная группа – 27 пациентов с ХГП различной степени тяжести без тяжелой сопутствующей патологии:
  - 1-ая подгруппа – 8 пациентов с ХГП легкой степени тяжести;
  - 2-ая подгруппа – 9 пациентов с ХГП средней степени тяжести;
  - 3-ья подгруппа – 10 пациентов с ХГП тяжелой степени тяжести;
- Контрольная группа – 7 пациентов без патологии пародонта.

Критерии включения пациентов в исследование: достоверный диагноз ХГП; информированное согласие больного.

Критерии исключения пациентов из исследования: курильщики; наличие ортодонтических аппаратов; тяжелая сопутствующая патология внутренних органов с функциональной недостаточностью, сахарный диабет, опухоли любой локализации; ВИЧ-инфекция, активный туберкулез; отказ больного от обследования.

Всем пациентам было проведено обследование, предусматривающее оценку стоматологического статуса, полученные данные занесены в карту обследования стоматологического пациента (Приложение 1).

## **2.2 Клинико-рентгенологическое обследование пациентов**

Клиническое обследование пациентов было проведено по общепринятой схеме, которая включала сбор сведений из жизни пациента, внешний осмотр и осмотр полости рта. Также была проведена оценка интенсивности кариеса постоянных зубов, определен уровень гигиены ротовой полости, состояние тканей пародонта у обследуемого. Использован комплекс основных и дополнительных методов исследования.

### **■ Программа обследования пациента:**

- сбор анамнеза жизни и заболевания;
- клинический осмотр (зубная формула, цвет слизистой оболочки десны, определение прикуса, состояние уздечек верхней и нижней губ, тяжей слизистой оболочки рта);
- интенсивность кариозного процесса выявляли согласно методике, рекомендованной ВОЗ, путём подсчёта индекса КПУ зубов (Klein, 1938). Для расчета индекса складывается количество кариозных (К), пломбированных (П) и удаленных (У) зубов;
- наличие мягкого зубного налета, наддесневых и поддесневых зубных отложений;
- наличие экссудата из пародонтального кармана;
- оценку рецессии десны по шкале Miller (1985):

1 класс. Рецессия в пределах свободной десны. Утрата десны и/или кости в межзубных промежутках отсутствует



2 класс. Рецессия в пределах прикрепленной десны. Утрата десны и/или кости в межзубных промежутках не отсутствует

3 класс. К рецессии 2-го класса добавляется поражение аппроксимальной поверхности

4класс. Наблюдается циркулярная потеря десны и кости в межзубных промежутках

- оценка подвижности зубов по степени их смещения по шкале Miller в модификации Fleszar (1980):

1. зуб устойчив, подвижность находится в пределах физиологической;

1-я степень - зуб смещается относительно оси, но смещение не превышает 1мм;

2-я степень - зуб смещается на 1-2мм в вестибуло-оральном направлении, при этом функция зуба не нарушается;

3-я степень - подвижность резко выражена, зуб подвижен не только в вестибуло-оральном направлении, но и вертикально, нарушается функция зуба;

- определение клинической потери прикрепления (КПП) - расстояния между границей эмаль/цемент и клинически зондируемым дном пародонтального кармана.

Следует уточнить, что реальное дно кармана или борозды невозможно определить с помощью зонда, потому как при воспаленной десне зондом затрагивается соединительный эпителий; при давлении 2 МПа зонд уже достигает соединительной ткани.

При легкой степени тяжести ХГП клиническая потеря прикрепления составляет 1-2мм, при средней – 3-4мм, при тяжелой – 5мм и более;

- определение стоматологических индексов:

1. Индекс зубного налета Silness-Loe (Silness, Loe, 1964)

Используется для определения толщины зубного налета в пришеечной области исследуемых зубов. Исследование проводят на всех зубах или на отдельной группе зубов (1.6, 3.6, 1.1, 3.1, 2.4, 4.4). Определение проводится с помощью зеркала, зонда и воздуха для высушивания (пистолет вода-воздух), окрашивание не применяется. Ортопедические конструкции и композитные реставрации не обследуют. В каждом зубе определяют 4 поверхности: вестибулярную, язычную, дистальную и медиальную.

После полного высушивания поверхности зуба воздухом налет определяют, проводя кончиком зонда в придесневой области.

Для оценки используют следующие цифровые критерии:

0 — зубной налет в пришеечной области отсутствует;

1 — слой зубного налета на свободном десневом крае или в пришеечной области зуба определяется только при движении зонда по поверхности;

2 — зубной налет в десневом кармане, на поверхности десны и/или зуба, визуализируется без помощи зонда;

3 — зубной налет находится в избытке в области зубодесневого кармана и/или десневого края, а также прилегающей поверхности зуба.

Индекс определяется как частное от деления суммы показателей на общее число обследованных зубов.

2. Индекс гигиены полости рта Greene-Vermillion (Грина-Вермиллиона, ОНІ-S, 1964)

Индекс ОНІ-S представляет собой двойной индекс, так как состоит из двух частей: первая составляющая – это индекс зубного налета – DI-S; и вторая составляющая – это индекс зубного камня – CI-S. Исследование проводят на вестибулярной поверхности 3.1, 1.1, 1.6, 2.6 зубов и язычной поверхности 3.6, 4.6 зубов.

Индекс зубного налета DI-S оценивается следующим образом:

0 — зубной налет отсутствует;

1 — зубной налет покрывает не более 1/3 коронковой части зуба;

2 — зубной налет покрывает от 1/3 до 2/3 коронковой части зуба;

3 — зубного налет покрывает более 2/3 коронковой части зуба.

Расчет производится по формуле:  $DI - S = \frac{\sum C}{n}$ ,

где С – оценка зубного налета; n - количество оценок.

Индекс зубного камня CI-S определяют аналогично индексу DI-S, с учетом следующих оценок:

0 — зубной камень отсутствует;

1 — наддесневой камень покрывает менее 1/3 коронковой части зуба;

2 — наддесневой камень покрывает от 1/3 до 2/3 коронковой части зуба или имеются отдельные частицы поддесневого камня;

3 - наддесневой камень покрывает более 2/3 коронковой части зуба.

Наличие поддесневого зубного камня оценивают баллами 2 и 3. Индекс

зубного камня CI-S вычисляется по формуле:  $CI - S = \frac{\sum C}{n}$ ,

где С - оценка зубного камня; n - количество оценок.

Гигиенический индекс ОHI-S рассчитывается по формуле:

$$OHI-S = (DI-S) + (CI-S).$$

Интерпретация результатов:

0-1,2 — индекс гигиены низкий, гигиена полости рта хорошая;

1,3-3,0 — индекс гигиены средний, гигиена удовлетворительная;

3,1-6,0 балла — индекс гигиены высокий, гигиена неудовлетворительная;

6,0 баллов и более — индекс гигиены очень высокий, гигиена плохая.

3. РМА — папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (Parma S., 1960)

Оценивание индекса РМА проводится согласно следующим критериям:

0 — воспаление десны отсутствует;

1 — воспален десневой сосочек (Р);

2 — воспалена маргинальная десна (М);

3 — воспалена альвеолярная десна (А).

Индекс РМА рассчитывают по формуле:

$$PMA = \frac{\text{Сумма баллов}}{3 * \text{число зубов}} \times 100\%$$

Интерпретация результатов:

30% и менее — гингивит легкой степени тяжести;

31—60 % — гингивит средней степени тяжести;

61% и выше — гингивит тяжелой степени тяжести.

#### 4. Индекс нуждаемости в пародонтологическом лечении CPITN (ВОЗ, 1978, Ainamoetal., 1982)

Это комплексный пародонтальный индекс нуждаемости в лечении. Применяется для оценки состояния тканей пародонта у взрослых, для планирования профилактических и лечебных мероприятий, определения потребности в стоматологическом персонале, анализа и совершенствования лечебно-профилактических программ. С целью определения показателя используется специальный пародонтальный зонд с шариком диаметром 0,5мм на конце зонда и черной полоской на расстоянии 3,5мм от кончика зонда. У пациентов исследуют ткани пародонта в области шести групп зубов (1.7/1.6, 1.1, 2.6/2.7, 3.7/3.6, 3.1, 4.6/4.7) на верхней и нижней челюсти. При отсутствии зубов, поддающихся оценке, в том же секстанте оцениваются все сохранившиеся зубы.

Критерии оценки:

0 — здоровые ткани пародонта, признаки воспаления отсутствуют;

1 — после зондирования выявляется кровоточивость десны;

2 — зондом определяется поддесневой зубной камень (черная полоска зонда не погружается в десневой карман);

3 — определяется карман 4-5мм;

4 — определяется карман более 6мм.

Также проводилась оценка ортопантомограмм и результатов компьютерной томографии по следующим критериям:

- наличие периапикальных изменений;
- наличие костных карманов;
- деструкция костной ткани альвеолярного отростка:
  - 1) до 1/3 длины корня;
  - 2) на 1/3-1/2 длины корня;
  - 3) более 1/2 длины корня;
- состояние компактной пластинки костной ткани (четкая, разрушенная).

## **2.3 Микробиологические методы исследования**

### **2.3.1 Забор материала**

Забор материала из пародонтальных карманов у пациентов основной и контрольной групп для микробиологических исследований проводили с помощью стерильных бумажных эндодонтических абсорберов AbsorbentPaperPoints, фирмы Euronda (размер №25), которые вводили в пародонтальные карманы пациента на 10 секунд. После забора материала забора материала эндодонтические абсорберы помещались в стерильные пробирки типа Eppendorf и хранились при -20°C.

До взятия материала пациенты не применяли никаких полосканий с лекарственными средствами и не проводили чистку зубов.

### **2.3.2 Конструирование олигонуклеотидных праймеров**

Конструирование, анализ олигонуклеотидных праймеров и определение температуры плавления праймеров осуществляли с помощью компьютерных программ Primer 3 и OLIGO 4.0 (Таблица 2.3.2).

**Таблица 2.3.2**

Олигонуклеотидные праймеры

	Название	5'→3'	T <sup>0</sup> <sub>отж.</sub>	Р а з м е р фрагмента, п.н.
	<i>Porphyromonas gingivalis</i>			
1	Gin1	GTATATGCTCGACGAGGTGGAA	57,0	334
2	Gin2	ATTGTCCAGGGTAACTTCTTCG		
	<i>Tannerella forsythia</i>			
3	For1	CGAGGGTTCAATACGCTGTT	54,0	572
4	For2	ATAAAAATCGCATCGCAAGG		
	<i>Prevotella intermedia</i>			
5	Int1	AATACAGCCTTCGAGGGTTT	55,0	335
6	Int2	TTCGGTCAAGACAGTAGGGA		
	<i>Treponema denticola</i>			
7	Den1	TAATACCGAATGTGCTCATTTACAT	60,0	311
8	Den2	TCAAAGAAGCATTCCTCTTCTTCTT A		

**2.3.3 Выделение тотальной ДНК из исходного биологического материала**

Для выделения ДНК из биологического материала использовали тест-систему «ДНК-экспресс» (Литех, Россия). В пробирки типа Eppendorf с эндодонтическими абсорберами добавляли по 120 мкл реагента, после чего содержимое пробирок тщательно перемешивали на вортексе (Vortex, Biosan) в течение 10 секунд. Абсорберы извлекали из пробирок, затем пробирки помещали в твердотельный термостат и инкубировали при  $t = 98^{\circ}\text{C}$  в течение 20 минут. После инкубации пробирки центрифугировали при скорости 13000 об/мин в течение 15 секунд. Полученный супернатант использовали в дальнейшем при постановке полимеразной цепной реакции.

#### **2.3.4 Полимеразная цепная реакция (ПЦР)**

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – это метод ферментативного получения амплификаций (большого количества копий) исследуемых фрагментов ДНК путем повторных циклов репликации и денатурации (разделения цепи ДНК на отдельные нити). При этом происходит копирование только исследуемого участка ДНК, поскольку только этот участок соответствует заданным условиям и только в том случае, если он присутствует в исследуемом образце ([http://doctorspb.ru/articles.php?article\\_id=1049](http://doctorspb.ru/articles.php?article_id=1049)).

К 0,25 мкг геномной ДНК добавляли 10 мкмоль каждого из специфических праймеров, фланкирующих исследуемую последовательность, буфер с магнием для полимеразы, по 0,2 мМ каждого из 4 дезоксирибонуклеотидтрифосфатов, объем доводили водой до 25 мкл. Добавляли 0,4 мкл термостабильной ДНК полимеразы. На поверхность жидкости наслаивали 40 мкл минерального масла. Пробирки помещали в амплификатор (Терцик, Россия). Смесь инкубировали при  $t = 94^{\circ}\text{C}$  в течение 3 минут. Прибор программировали по активному регулированию температуры в растворе: цикл денатурации  $t = 94^{\circ}\text{C}$  на 15 секунд, цикл отжига праймеров на 15 секунд, цикл синтеза ДНК  $t = 72^{\circ}\text{C}$  на 20 секунд.



Последовательность таких циклов повторялась 35 раз. После чего смесь инкубировали при  $t = 72^{\circ}\text{C}$  в течение 5 минут. Олигонуклеотидные праймеры, использованные в работе, приведены в таблице 2.3.2.

### **2.3.5 Электрофорез фрагментов ДНК**

Электрофорез ДНК проводили в 1,0% агарозном геле в горизонтальном аппарате «WideMini-SubCell GT Cell- 170-4468» (BioRad, США) с использованием TAE буфера (Thermo Scientific, Германия). Время электрофореза – 40 мин, напряжение устанавливали 120 В при площади геля 150 см<sup>2</sup>. Для визуализации ДНК в ультрафиолетовых лучах в гель добавляли раствор бромистого этидия (0,5 мкг/мл). Визуализацию результатов электрофореза проводили в ультрафиолетовом свете с использованием системы видеозахвата «VersaDoc MP 4000» (BioRad, США) и системы видеозахвата, использующей цифровой фотоаппарат (Olimpus, Япония) и компьютерную программу «QuantityOne» (США).

Для расчета молекулярных масс исследуемых фрагментов ДНК использовали ДНК-маркер «100 bpPlus DNA ladder».

## **2.4 Компьютерный анализ**

Статистическая обработка включала вычисление параметров средних величин и их отклонений в программе Microsoft Excel. Для визуализации результатов исследования были построены диаграммы.

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1 Результаты клинических исследований

Анализ результатов полученных в ходе клинического исследования показал, что все обследованные пациенты с ХГП предъявляли жалобы на кровоточивость при чистке зубов (100%), а также на отек и воспаление десен (100%). Неприятный запах из полости рта стал одной из жалоб у половины пациентов (50%). Некоторые пациенты жаловались на попадание пищи между зубами, зуд и жжение в деснах, подвижность зубов. Данные результаты представлены в таблице 3.1.1.

**Таблица 3.1.1**

Жалобы обследованных пациентов с ХГП

Жалоба	Число Пациентов	%
Кровоточивость при чистке зубов	27	100
Зуд и жжение в деснах	7	27
Неприятный запах из полости рта	13	50
Подвижность зубов	11	41
Смещение зубов	8	30
Попадание пищи между зубами	10	39
Отек и воспаление десен	27	100
Ухудшение общего состояния организма	0	100

Анализ жалоб по подгруппам пациентов с ХГП различной степени тяжести представлен в таблице 3.1.2.

Таблица 3.1.2

Жалобы обследованных пациентов с ХГП различной степени тяжести

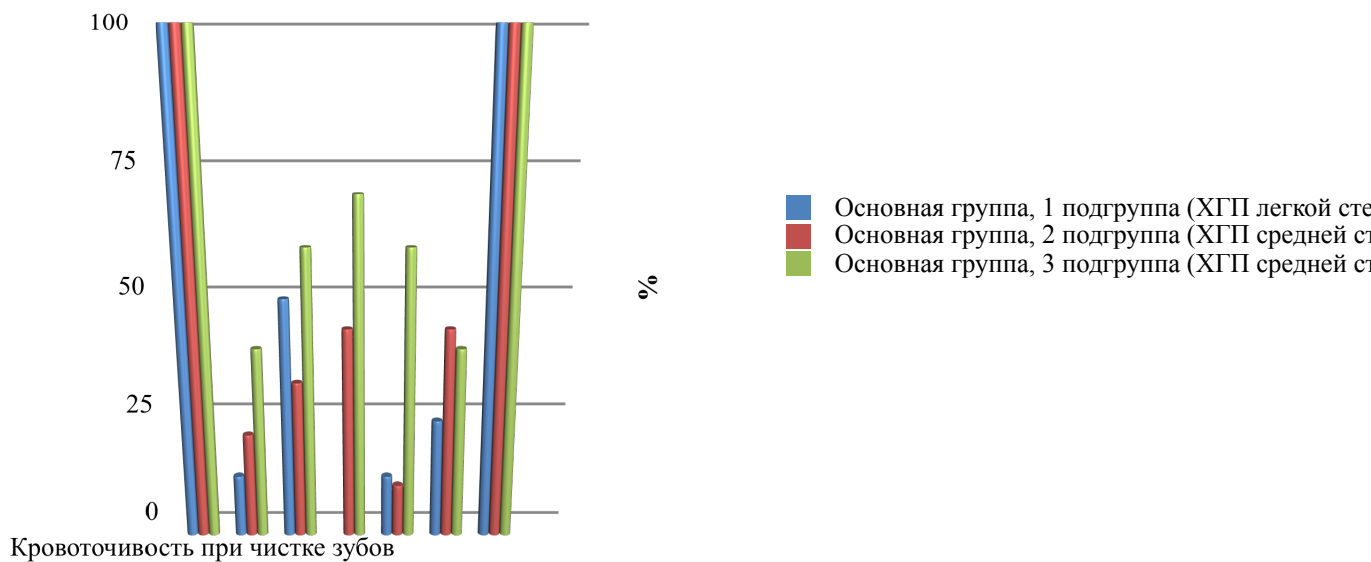
Жалоба	Основная группа, 1 подгруппа (ХГП легкой степени) (n=8)		Основная группа, 2 подгруппа (ХГП средней степени) (n=9)		Основная группа, 3 подгруппа (ХГП тяжелой степени) (n=10)	
	Число пациентов	%	Число пациентов	%	Число пациентов	%
Кровоточивость при чистке зубов	8	100	9	100	10	100
Зуд и жжение в деснах	1	13	2	22	4	40
Неприятный запах из полости рта	4	50	3	33	6	60
Подвижность зубов	0	0	4	44	7	70
Смещение зубов	1	13	1	11	6	60
Попадание пищи между зубами	2	25	4	44	4	40

*Продолжение таблицы 3.1.2*

Отек и воспаление десен	8	100	9	100	10	100
Ухудшение общего состояния организма	0		0	0	0	0

При анализе жалоб пациентов с ХГП различной степени тяжести выяснено, что процент предъявленных жалоб увеличивался с развитием заболевания (рис.3.1.1).

### Жалобы пациентов с ХГП различной степени тяжести



**Рис. 3.1.1** Жалобы пациентов с ХГП различной степени тяжести

При сборе анамнеза было установлено, что в основной группе причину развития ХГП 13 пациентов связывают с наследственностью, а 14 – не знают о причинах развития ХГП.

Наличие вредных привычек все обследованные пациенты отрицали (100%).

При оценке полученных данных по гигиеническим навыкам пациентов (таблица 3.1.3), было выяснено, что большинство из них (96%) чистит зубы 1 раз в день ручной зубной щеткой и пастой, и только 1 пациент чистит зубы 2 раза в день зубной щеткой и пастой.

**Таблица 3.1.3**

Навыки индивидуальной гигиены полости рта обследованных пациентов

Регулярность чистки зубов	Ч и с л о пациентов	%
2 раза в день утром и вечером после еды	1	4
1 раз в день	26	96
1 раз в несколько дней	0	0

При осмотре полости рта кариес зубов и его осложнения были выявлены у всех пациентов с ХГП. Показатель КПУ составил  $18,3 \pm 2,0$ , что говорит о очень высоком уровне интенсивности кариеса. Значения индекса КПУ для каждой из основных подгрупп представлены в таблице 3.1.4.

Таблица 3.1.4

Значения индекса КПУ у пациентов с ХГП различной степени тяжести

Подгруппа	Значение показателя КПУ	Интерпретация результатов
Пациенты с ХГП легкой степени	19,0±2,2	Уровень интенсивности кариеса постоянных зубов очень высокий
Пациенты с ХГП средней степени	15,7±2,1	Уровень интенсивности кариеса постоянных зубов очень высокий
Пациенты с ХГП тяжелой степени	20,1±1,7	Уровень интенсивности кариеса постоянных зубов очень высокий

При обследовании пациентов оценивали показатель клинической потери пародонтального прикрепления, который у подгруппы пациентов с ХГП легкой степени тяжести составил  $1,4 \pm 0,4$  мм, средней степени –  $3,2 \pm 0,5$  мм и  $5,3 \pm 0,8$  мм – у пациентов с ХГП тяжелой степени.

При анализе экссудации из пародонтальных карманов у пациентов с ХГП различной степени было обнаружено, что при легкой степени ХГП экссудация была выявлена в  $14,3 \pm 2,7$  пародонтальных карманах, при средней степени – в  $16,8 \pm 1,5$  пародонтальных карманах, при тяжелой степени – в  $19,0 \pm 1,7$  пародонтальных карманах пациентов с ХГП.

Анализируя подвижность зубов по степени их смещения, мы обнаружили, что при легкой степени тяжести ХГП подвижность зубов отсутствовала, при средней степени тяжести – у 44% пациентов имелась подвижность 1 степени в среднем  $5,3 \pm 0,4$  зубов, а при тяжелой степени

ХГП – у всех пациентов наблюдалась подвижность зубов 1-3 степени (средняя подвижность зубов у пациента составила  $1,6 \pm 0,1$ ) в среднем  $10,4 \pm 2,2$  зубов.

Рецессия десны 4 класса по Миллеру была выявлена у всех пациентов с ХГП.

При проведении индексной оценки установлено, что индекс ОНI-S у обследованных пациентов с ХГП составил  $4,2 \pm 1,2$ , Silness-Loe –  $2,2 \pm 0,6$ , РМА –  $54,8 \pm 16,5$  (%) , СРITN –  $2,8 \pm 0,6$  (таблица 3.1.5).

**Таблица 3.1.5**

Значения индексов гигиены и состояния тканей пародонта у пациентов с ХГП

Индексы	Значение	Интерпретация результатов
Индекс гигиены Силнес-Лоу (Silness, Loe, 1964)	$2,2 \pm 0,6$	Гигиена неудовлетворительная
Упрощенный индекс гигиены полости рта (ОНI-S, Green, Vermillion, 1964)	$4,2 \pm 1,2$	Гигиена неудовлетворительная
Папиллярно-маргинально-альвеолярный индекс (РМА)	$54,8 \pm 16,5$ (%)	Средняя степень тяжести гингивита
Индекс нуждаемости в пародонтологическом лечении СРITN (ВОЗ, 1978)	$2,8 \pm 0,6$	Профессиональная гигиена полости рта и обучение ИГПР

Наблюдалась возрастающая динамика значений индексов гигиены у обследованных пациентов с ХГП в зависимости от степени тяжести заболевания, что продемонстрировано в таблице 3.1.6.

**Таблица 3.1.6**

Значения индексов гигиены у пациентов с ХГП различной степени тяжести

Индексы	Группа		
	Пациенты с ХГП легкой степени	Пациенты с ХГП средней степени	Пациенты с ХГП тяжелой степени
Green-Vermillion (ОHI-S)	3,8±0,4	3,9±0,6	4,8±0,3
Silness-Loe	1,7±0,2	2,2±0,2	2,6±0,1
РМА, %	49,9±6,0	57,3±6,8	60,4±4,7
СРITN	2,1±0,2	2,8±0,1	3,2±0,2

Следовательно, развитие ХГП тесно связано с уровнем гигиены полости рта пациента, который у всех обследованных пациентов с ХГП является неудовлетворительным.



### 3.2 Результаты рентгенологического исследования

При оценке ортопантомограмм (Приложение 3, 4, 5) и результатов компьютерной томографии у пациентов с ХГП было выявлено разрушение компактной пластинки альвеолярного гребня на всем протяжении зубного ряда. Также отмечалась различная степень деструкции кости, что соответствовало тяжести ХГП обследованного пациента.

Резорбция костной ткани вызывала образование внутрикостных пародонтальных карманов, которые обнаружены у всех пациентов с ХГП. Среднее количество костных карманов, а также среднее количество периапикальных изменений на 1 пациента были выражены в равной степени у всех пациентов основной группы, что представлено в таблице 3.2.1.

**Таблица 3.2.1**

Распределение пациентов по среднему количеству внутрикостных карманов и периапикальных изменений на 1 пациента ( $M \pm m$ )

Основная группа	Среднее количество костных карманов на 1 пациента	Среднее количество периапикальных изменений на 1 пациента
подгруппа 1	11,5±2,3	3,3±0,3
подгруппа 2	10,6±2,4	3,3±1,2
подгруппа 3	15,0±1,7	2,4±1,7

Согласно результатам, полученным при анализе деструкции костной ткани, компактной пластинки альвеолярного гребня, количества костных карманов и периапикальных изменений, обнаруженных при оценке данных

рентгенологического исследования, следует, что изменения костной ткани у обследованных пациентов с ХГП соответствуют тяжести заболевания.

### 3.3 Результаты микробиологического исследования

С помощью метода ПЦР–скрининга были проведены исследования на наличие в пародонтальных карманах пациентов основной и контрольной групп четырех пародонтопатогенов, ассоциированных с агрессивным развитием пародонтита.

В таблице 9 представлены результаты ПЦР – скрининга на пародонтопатогены у пациентов с ХГП.

**Таблица 3.3.1**

Выявленные пародонтопатогены у пациентов с ХГП различной степени тяжести методом ПЦР-диагностики

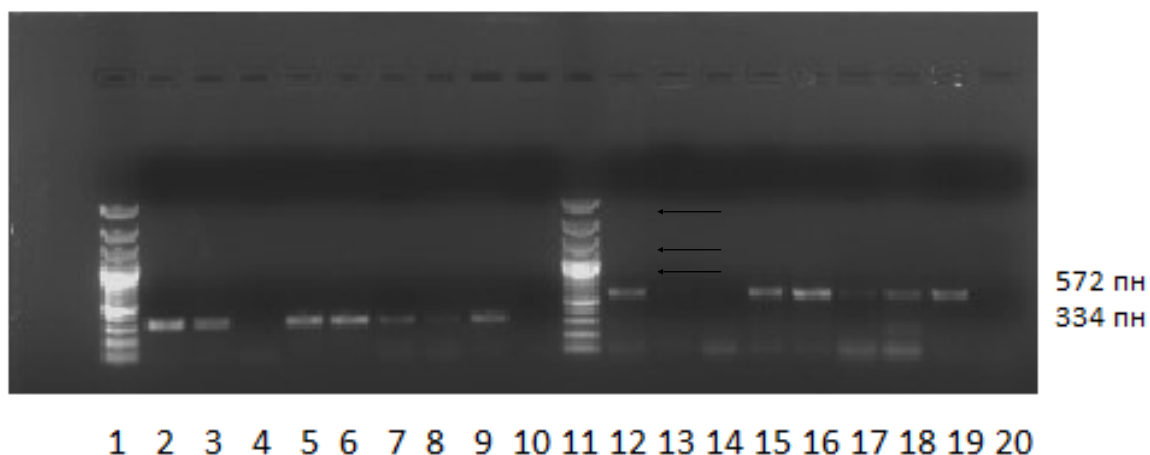
Номер образца	Степень тяжести ХГП	<i>P. gingivalis</i>	<i>T. forsythia</i>	<i>T. denticola</i>	<i>P. intermedia</i>
1	Средняя	+	+	-	+
2	Средняя	+	-	+	+
3	Средняя	-	-	-	-
4	Тяжелая	+	+	+	-
5	Тяжелая	+	+	+	-
6	Тяжелая	+	-	-	-
7	Тяжелая	-	+	-	-

*Продолжение таблицы 3.3.1*

8	Средняя	+	+	-	-
9	Легкая	-	+	+	+
10	Легкая	+	+	+	-

11	Легкая	+	+	+	-
12	Легкая	+	-	-	-
13	Тяжелая	+	-	-	-
14	Тяжелая	+	-	+	+
15	Тяжелая	+	+	+	+
16	Средняя	-	-	-	-
17	Средняя	-	-	+	-
18	Легкая	-	-	-	+
19	Тяжелая	-	-	+	-
20	Средняя	-	-	-	-
21	Легкая	-	-	+	-
22	Легкая	-	-	-	-
23	Легкая	+	-	-	-
24	Контроль	-	-	-	-
25	Контроль	-	-	-	-
26	Тяжелая	+	-	+	-
27	Средняя	+	-	-	-
28	Средняя	+	-	-	-
29	Тяжелая	+	+	-	-
30	Контроль	-	-	-	-
31	Контроль	-	-	-	-
32	Контроль	-	-	-	-
33	Контроль	-	-	-	-
34	Контроль	-	-	-	-

На рисунке 3.3.1 представлено определение *Porphyromonas gingivalis* и *Tannerella forsythia* методом ПЦР в образцах 1-8, полученных из пародонтальных карманов пациентов с ХГП.



**Рис. 3.3.1** ДНК-фрагменты после ПЦР и разделения в 1% агарозном геле

Обозначения:

1, 11 – ДНК-маркер (100 – 1500 пн);

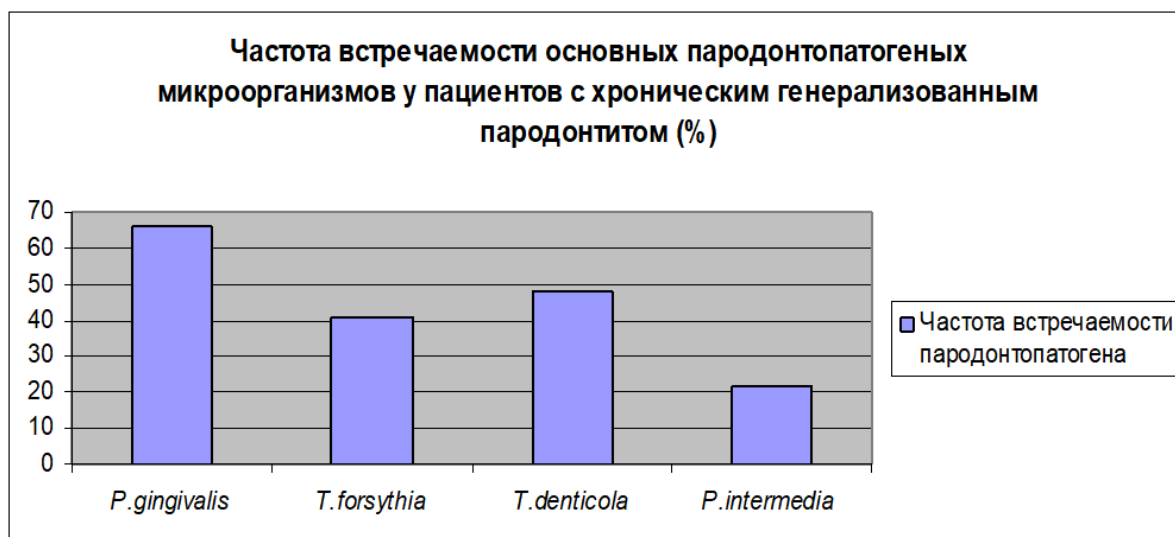
2-9 - *P.gingivalis* в образцах 1-8;

10 – отрицательный контроль на *P. gingivalis*;

12-19 - *T. forsythia* в образцах 1, 4, 5, 7, 8;

19 – отрицательный контроль на *T. forsythia*

Пародонтопатогены красного (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*) и оранжевого (*Prevotella intermedia*) комплексов были обнаружены в пародонтальных карманах у 96% пациентов с ХГП различной степени тяжести. В контрольной группе пациентов пародонтопатогены не были выявлены. Анализ результатов ПЦР показал следующее распределение по частоте встречаемости основных пародонтопатогенных микроорганизмов у пациентов ХГП: *P. gingivalis* (67%, 18 пациентов), *T. forsythia* (41%, 11 пациентов), *T. denticola* (48%, 13 пациентов), *P. intermedia* (22%, 6 пациентов), что отражено на рисунке 3.3.2.

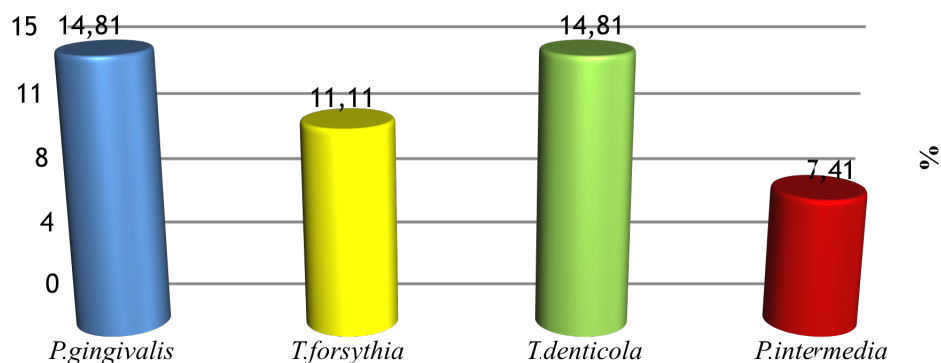


**Рис. 3.3.2** Частота встречаемости основных пародонтопатогенных микроорганизмов у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом (%)

Основные пародонтопатогены в пародонтальных карманах у пациентов с ХГП различной степени тяжести были представлены неоднородно. При всех степенях тяжести ХГП наблюдалось преобладание микроорганизма *Porphyromonas gingivalis*.

У пациентов с ХГП легкой степени тяжести микроорганизмы *P. gingivalis* и *T. denticola* преобладали и были выявлены в 15% случаев, *T. forsythia* был выявлен в 11% случаев и *P. Intermedia* – в 7% случаев, что представлено на рисунке 3.3.3.

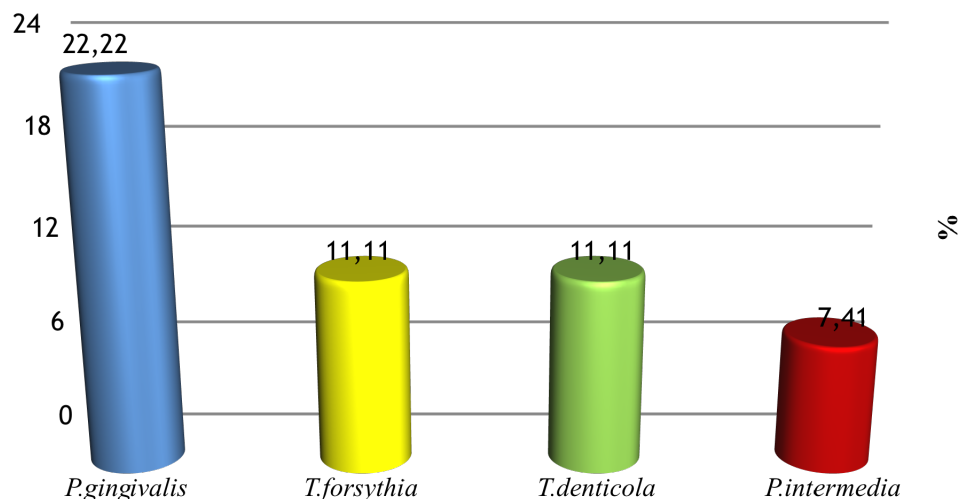
**Частота обнаружения основных пародонтопатогенов у  
обследованных пациентов с ХГП легкой степени  
тяжести, %**



**Рис. 3.3.3** Частота обнаружения основных пародонтопатогенов у обследованных пациентов с ХГП легкой степени тяжести, %

У пациентов с ХГП средней степени тяжести микроорганизм *P. gingivalis* также преобладал и был выявлен в 22% случаев. *T. denticola* и *T. forsythia* были выявлены в 11% случаев, а обнаружение *P. Intermedia* наблюдалось в 7% случаев (рис. 3.3.4) .

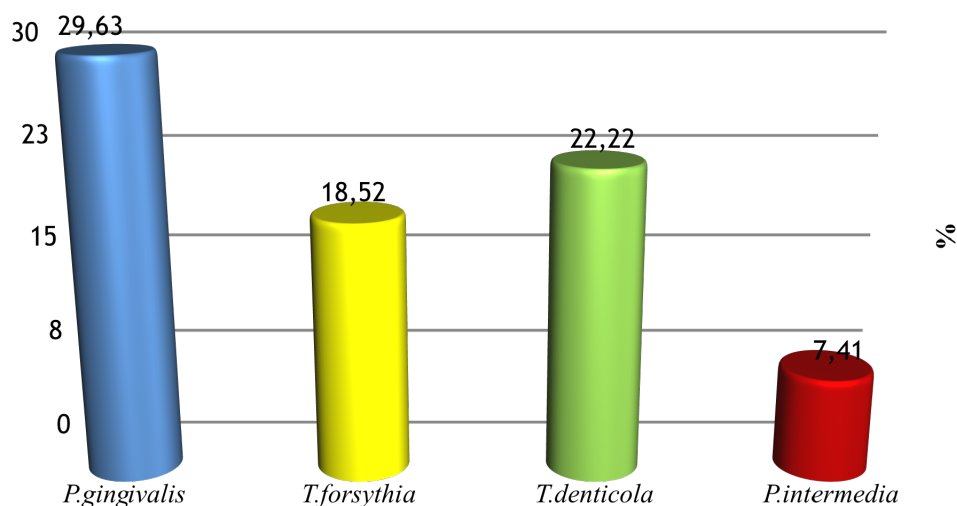
**Частота обнаружения основных пародонтопатогенов у  
обследованных пациентов с ХГП средней степени  
тяжести, %**



**Рис. 3.3.4** Частота обнаружения основных пародонтопатогенов у обследованных пациентов с ХГП средней степени тяжести, %

У пациентов с ХГП тяжелой степени частота обнаружения микроорганизма *P. gingivalis* составила 30% случаев. *T. denticola* была выявлена в 22% случаев, *T. forsythia* – в 19% случаев и *P. Intermedia* – в 7% случаев. Все данные изображены на рисунке 3.3.5.

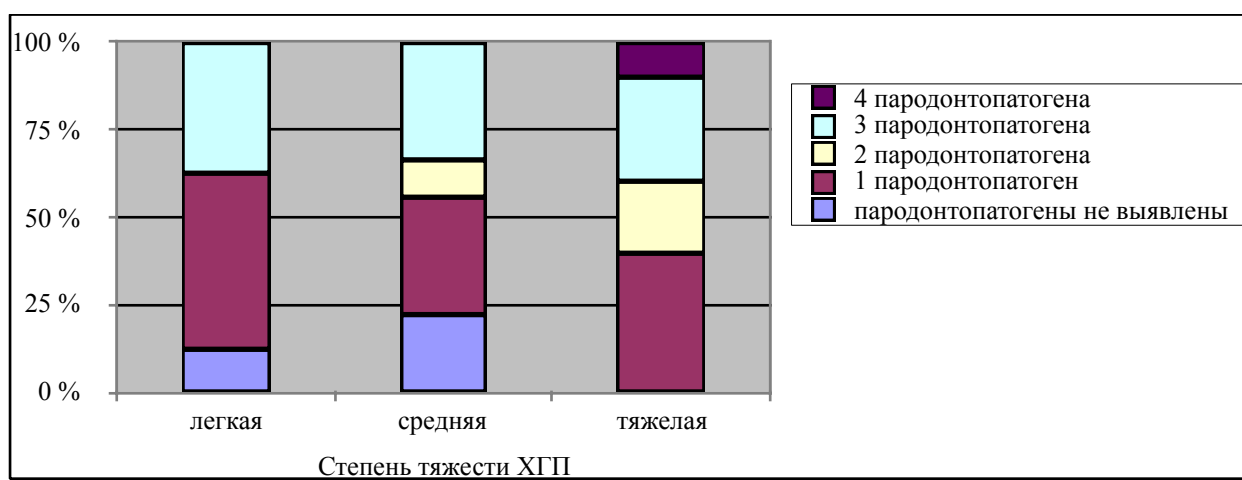
**Частота обнаружения основных пародонтопатогенов у обследованных пациентов с ХГП тяжелой степени тяжести, %**



**Рис. 3.3.5** Частота обнаружения основных пародонтопатогенов у обследованных пациентов с ХГП тяжелой степени тяжести, %

У пациентов с ХГП легкой степени тяжести были обнаружены одиночные пародонтопатогены в 50% случаев, в 38% случаев – комплекс из трех пародонтопатогенов, и в 12% случаев не было выявлено ни одного пародонтопатогена. У пациентов со средней степенью тяжести ХГП одиночные пародонтопатогены выявляли в 34% случаев, комплекс из двух пародонтопатогенов – в 11% случаев, комплекс из трех пародонтопатогенов

– в 33% случаев, и в 22% случаев не было выявлено ни одного пародонтопатогена. Исследуемые пародонтопатогены обнаружены у всех 10 пациентов с ХГП тяжелой степени тяжести, причем комплекс из всех четырех пародонтопатогенов был выявлен в 10% случаев, комплекс из трех пародонтопатогенов – в 30% случаев, комплекс из двух пародонтопатогенов – в 20% случаев и одиночные пародонтопатогены – в 40% случаев. Все данные представлены на рисунке 3.3.6.



**Рис. 3.3.6** Зависимость степени тяжести ХГП и количества пародонтопатогенов в пародонтальных карманах.

Таким образом, с развитием ХГП очевидна возрастающая динамика обнаружения пародонтопатогенов красного комплекса, которая сопровождается более интенсивным образованием комплексов пародонтопатогенов.



## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ**

### **Заключение**

Целью настоящего исследования являлась оценка качественного состава микробиоты пародонтальных карманов у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП) легкой, средней и тяжелой степени тяжести.

В ходе исследования были изучены особенности стоматологической заболеваемости пациентов с ХГП легкой, средней и тяжелой степени тяжести, особенности качественного состава микробиоты пародонтальных карманов у пациентов с ХГП различной степени тяжести и оценена роль пародонтопатогенов в развитии ХГП.

В исследовании приняли участие 34 пациента в возрасте от 31 до 60 лет с ХГП различной степени тяжести без тяжелой сопутствующей патологии, а также пациенты без патологии пародонта. Были собраны жалобы пациентов и анамнез; использованы клинические, рентгенологические и микробиологические исследования.

При анализе клинических данных было обнаружено, что все обследованные пациенты с ХГП предъявляли жалобы на кровоточивость при чистке зубов (100%) и на отек и воспаление десен (100%), и процент предъявленных жалоб увеличивался с тяжестью заболевания. При анализе индексов гигиены полости рта и состояния тканей пародонта было выявлено, что развитие ХГП тесно связано с неудовлетворительным уровнем гигиены полости рта с возрастающей динамикой значений индексов гигиены у обследованных пациентов с ХГП в зависимости от степени тяжести заболевания. Наличие зубного налета и зубного камня без сомнения является ведущим фактором в развитии ВЗП.

Согласно результатам, полученным при анализе деструкции костной ткани, компактной пластинки альвеолярного гребня, количества костных

карманов и периапикальных изменений, обнаруженных при оценке данных рентгенологического исследования, следует, что изменения костной ткани у обследованных пациентов с ХГП соответствуют тяжести заболевания.

Проведенное ПЦР – исследование на пародонтопатогены выявило наличие пародонтопатогенов красного (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*) и оранжевого (*Prevotella intermedia*) комплексов, которые обладают агрессивным действием на пародонт, вызывая сильную кровоточивость десен и быстрое течение деструктивных процессов в пародонте, в пародонтальных карманах у 96% пациентов с ХГП различной степени тяжести. В контрольной же группе пациентов исследуемые пародонтопатогены не были выявлены.

Основные пародонтопатогены в пародонтальных карманах у пациентов с ХГП различной степени тяжести были представлены неоднородно. При всех степенях тяжести ХГП наблюдалось преобладание микроорганизма *Porphyromonas gingivalis*.

С развитием ХГП очевидна возрастающая динамика обнаружения пародонтопатогенов, которая сопровождается более интенсивным образованием комплексов пародонтопатогенов.

Полученные в ходе исследования данные еще раз убедительно демонстрируют агрессивное действие *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola* и *P. intermedia* в процессах разрушения тканей пародонта.

Эти данные согласуются с данными проведенных исследований по данной теме: «Результаты микробиологического обследования больных с хроническим генерализованным пародонтитом» (Гайдарова Т.А., Попова Н.В., 2011); «Колонизация условно-патогенными микроорганизмами слизистой оболочки полости рта при хроническом пародонтите» (Матисова Е.В., 2010); «Исследование пародонтопатогенной микрофлоры

пародонтальных карманов при пародонтите молекулярно-генетическим методом» (Баяхметова А.А., Екешева А.А., 2016).

Все поставленные задачи исследования были выполнены и сделаны соответствующие выводы.

### **Выводы:**

1. Особенности клинической и рентгенологической картины пациентов с ХГП легкой, средней и тяжелой степени тяжести соответствовали общепринятым критериям: были выявлены пародонтальные карманы, наблюдалась клиническая потеря прикрепления, деструкция костной ткани соответственно степени тяжести ХГП; все пациенты с ХГП жаловались на кровоточивость, отек и воспаление десен. Значения всех индексов гигиены у пациентов с ХГП свидетельствуют о связи ХГП легкой, средней и тяжелой степени тяжести с неудовлетворительным уровнем гигиены полости рта.

2. ПЦР-исследование продемонстрировало обнаружение *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola* и *P. intermedia* в пародонтальных карманах у 96% пациентов с ХГП легкой, средней и тяжелой степенью тяжести при полном отсутствии перечисленных пародонтопатогенов у пациентов без воспалительных заболеваний пародонта. *P. gingivalis* оказался на первом месте по частоте встречаемости среди исследованных пародонтопатогенов у пациентов с ХГП средней и тяжелой степенью тяжести.

3. Воспалительные изменения в тканях пародонта в процессе развития ХГП из легкой в тяжелую степень сопровождаются снижением обнаружения одиночных пародонтопатогенов одновременно с возрастающей тенденцией образования их в различные комплексы. Исключительно у пациентов с тяжелой степенью ХГП выявляли комплекс из всех четырех вышеупомянутых пародонтопатогенов.

### **Практические рекомендации:**

При планировании лечения ХГП различной степени тяжести следует учитывать особенности стоматологического статуса пациента и особенности микробиоты пародонтальных карманов у пациента.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

### Книги:

1. Арттюшевич А.С., Трофимова Е.К., Латышева С.В. Клиническая периодонтология: Практ.пособие. - Москва, 2002. - 303с.
2. Барер Г.М. Терапевтическая стоматология, часть 2. Заболевания пародонта. - Москва, 2013. – 224 с.
3. Боровский Е. В., Леонтьев В. К. Биология полости рта. – Москва,2001. – 303с.
4. Боровский Е. В. Терапевтическая стоматология: Учебник для студентов медицинских вузов. – Москва, 2003. – 840с.
5. Герберт Ф. Вольф, Эдит М. Ратейцхак, Клаус Ратейцхак. Пародонтология. По ред. проф. Г.М. Барера. – Казань,2007. – 548с.
6. Грудянов А.И., Овчинникова В.В. Профилактика воспалительных заболеваний пародонта. – Москва, 2007. – 80 с.
7. Григорьян А. С., Грудянов А. И., Рабухина Н. А. Болезни пародонта: Патогенез, диагностика, лечение. – Москва, 2004. – 320 с.
8. Григорьян А. С., Рахметова С. Ю., Зырянова Н. В. Микроорганизмы в заболеваниях пародонта: экология, патогенез, диагностика. – Москва, 2007. – 56 с.
9. Данилевский Н. Ф., Борисенко А. В. Заболевания пародонта. - Киев, 2000. – 464 с.
10. Дмитриева Л. А. Пародонтит. – Москва, 2007.– 504 с.
11. Дмитриева Л. А. Пародонтология. Национальное руководство.- Москва, 2013. – 712 с.

12. Зеленова Е. Г., Заславская М. И., Салина Е. В. Микрофлора полости рта: норма и патология. Учебное пособие. Нижний Новгород, 2004. – 158 с.
13. Иванов В. С. Заболевания пародонта, 3 - е изд. – Москва, 1998. – 296 с.
14. Лабинская А. С., Костюкова Н. Н. Руководство по медицинской микробиологии. Оппортунистические инфекции: возбудители и этиологическая диагностика. - Москва, 2008. – 441с.
15. Лукиных Л.М. Болезни пародонта (клиника, диагностика, лечение и профилактика) : руководство / Л.М. Лукиных, Е.Н. Жулев, И.Н. Чупрунова. – Нижний Новгород: НГМА, 2005. - 322 с.
16. Максимовский Ю. М., Дмитриева Л. А. Терапевтическая стоматология. Национальное руководство. – Москва, 2009. 912 с.
17. Мюллер Х. П. Пародонтология. Науч. ред. изд. на русск. яз. проф. А. М. Политун, пер. с нем. – Львов, 2004. – 256 с.
18. Орехова Л. Ю. Заболевания пародонта. – Москва, 2004. – 432с.
19. Пашкова Г. С., Вавилова Т. П., К.А. Пашков К. А. О взаимосвязи соматической патологии с заболеваниями пародонта у жителей г. Москвы. - 2007.
20. Ричард Дж. Ламонт, Роберт А. Берне, Мэрилин С. Лантц. Микробиология и иммунология для стоматологов. Под ред. проф. В.К. Леонтьева. – Москва, 2010. – 502 с.
21. Тумшевиц О. Н. Современная клиническая медицина: изучение этиологии и патогенеза заболеваний, разработка методов их профилактики, диагностики и лечения. Сборник материалов международной научной конференции, Москва, 2013. - Киров, 2013. – 367 с.

- 22.Царев В. И., Давыдова М.М. Микробиология полости рта. – Москва, 2008. – 50 с.
- 23.Цепов Л. М., Николаев А. И., Михеева Е. А. Диагностика, лечение и профилактика заболеваний пародонта, 3-е изд. - Москва, 2008. – 272с.
- 24.Юдина Н.А., Люговская А.В., Курочкина А.Ю. Антимикробная терапия при лечении болезней периодонта: Учебно – методическое пособие. – Минск, 2009. – 44 с.

**Статьи из журналов:**

- 25.Albander J.M., De Nardin E. Serum Ig G level to P. Gingivalis in healthy and early-onset periodontitis individuals. J. Dent. Res. 1999. Vol.78: 250-255.
- 26.Haffajee A.D., Socransky S.S. Microbiological etiological agents of destructive periodontal diseases. Periodontology. 2000. 1994. Vol.5 (1): 78-111.
- 27.Haffajee A.D., Socransky S.S. Periodontal microbial ecology. Periodontology 2000. 2005. Vol.38: 135-87.
- 28.Волошина А. А. Значение микробного фактора в развитии и течении воспалительных заболеваний пародонта. – Москва, журнал «Молодой ученый» №1, 2011. – 248 - 251 с.
- 29.Гажва С.И., Гулуев Р.С. Распространенность и интенсивность воспалительных заболеваний пародонта (обзор литературы) // Обозрение. – 2012. – 1(75). – С. 13–14.
- 30.Маркина Т. В., Майборода Ю. Н., Урясьева Э. В. Бактериальный спектр слизистой оболочки органов рта и пародонтальных карманов у пациентов с пародонтитом.– Медицинский вестник Северного Кавказа, Т.8, №1– 2013. – 45 – 47 с.

31. Матисова, Е. В. Колонизация условно-патогенными микроорганизмами слизистой оболочки полости рта при хроническом пародонтите: автореф. канд. мед. наук / Е. В. Матисова. – Волгоград, 2010. – 21 с.
32. Тамарова Э. Р., Масагутова Н. Р. Молекулярно – генетическая характеристика микрофлоры полости рта при пародонтите.– Вестник Челябинского государственного университета, № 7 (298), выпуск 2. -70 – 71 с. - 2013.
33. Чухловин А. Б. , Соловьева А. М., Матело С.К. Микробные маркеры заболеваний пародонта и их практическая значимость в стоматологии. - Бюллетень экспериментальной биологии и медицины , 2007. - 5с.

**Электронные ресурсы:**

34. Медицинский портал для врачей и студентов URL:[http://doctorspb.ru/articles.php?article\\_id=1049](http://doctorspb.ru/articles.php?article_id=1049)



# ПРИЛОЖЕНИЯ

## Приложение 1

### Карта обследования стоматологического пациента (Страница 1)

ФИО	Возраст	Дата																																																																																															
кровотоочивость при чистке зубов, во время приема пищи, самопроизвольная зуд и жжение в деснах неприятный запах из полости рта подвижность зубов  смещение зубов  попадание пищи между зубами  отек, воспаление десен  ухудшение общего состояния организма	Гипертрофия десны, мм Экссудация Подвижность зубов 1,2,3,4 Поражения фуркации (Ф1-Ф3) Величина рецессии, мм Ширина прикрепленной десны, мм		<table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td></td> <td>3</td><td>3</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>4</td><td>4</td><td>4</td><td>3</td><td>3</td><td>2</td> </tr> <tr> <td>В</td> <td colspan="11"> </td> </tr> <tr> <td>О</td> <td>8</td><td>7</td><td>6</td><td>5</td><td>4</td><td>3</td><td>2</td><td>1</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td><td>7</td><td>8</td> </tr> <tr> <td>О</td> <td>8</td><td>7</td><td>6</td><td>5</td><td>4</td><td>3</td><td>2</td><td>1</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td><td>7</td><td>8</td> </tr> <tr> <td>В</td> <td colspan="11"> </td> </tr> <tr> <td></td> <td colspan="11"></td> </tr> <tr> <td></td> <td colspan="11"></td> </tr> </table>		3	3	2	3	4	4	4	4	3	3	2	В												О	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8	О	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8	В																																			
		3	3	2	3	4	4	4	4	3	3	2																																																																																					
	В																																																																																																
	О	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8																																																																																
	О	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8																																																																																
	В																																																																																																
<b>Анамнез заболевания, жизни</b> возникновения  давность возникновения  эффективность проводимого ранее лечения  вредные привычки  гигиенические навыки пациента		Гипертрофия десны, мм Экссудация Подвижность зубов 1,2,3,4 Поражения фуркации 1,2,3,4 Величина рецессии, мм Ширина прикрепленной десны, мм  Цвет десен:  Консистенция десен:  Контур десны:  Состояние межзубных сосочков:  Биотип тканей пародонта (толстый/тонкий)																																																																																															
<b>Перенесенные и сопутствующие заболевания</b>																																																																																																	
Заболевания ССС  Заболевания ОД  Заболевания ЖКТ  Заболевания ЭС  Аллергия  Гепатит ( ), Туберкулез ( ), Вензаболевание ( ) Беременность ( )  Прочие заболевания  Применяемые на данный момент мед. препараты		Уровень прикрепления уздечки губы  Уровень прикрепления тяжа слизистой оболочки  Глубина преддверия полости рта  <b>Диагно:</b> Гингивит (хронический катаральный, хронический гипертрофический - отечная/фиброзная форма)  Хронический локализованный/генерализованный пародонтит (легкой, средней, тяжелой степени тяжести)  Пародонтоз легкой, средней, тяжелой степени тяжести  Рецессия десны (класс по Миллеру)																																																																																															

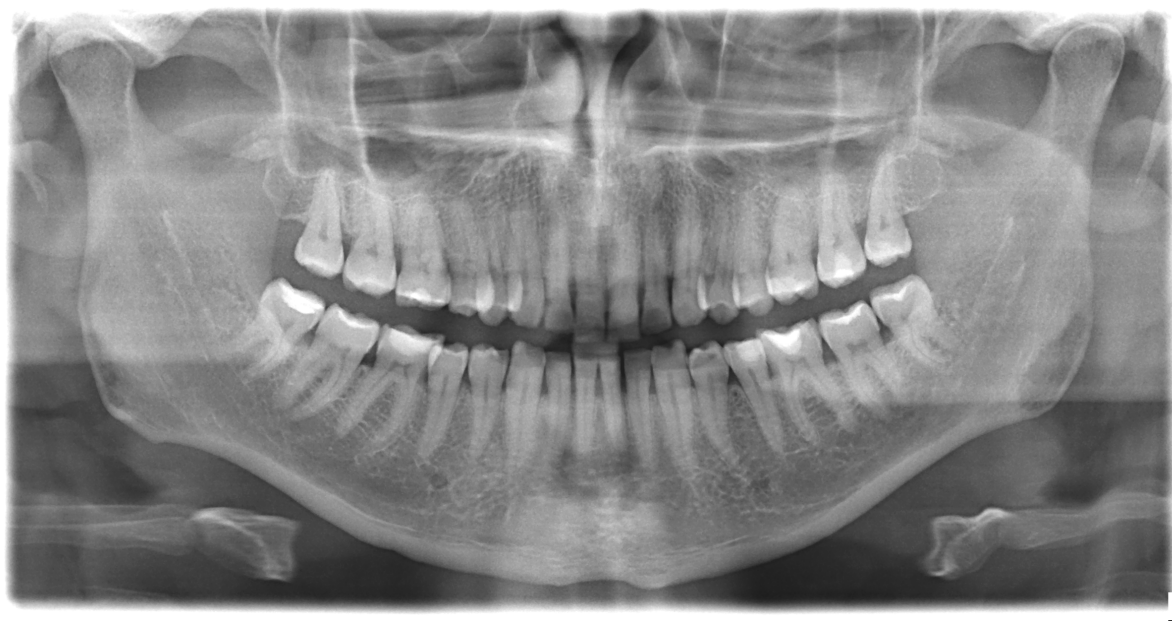
Карта обследования стоматологического пациента (Страница 2)

<p>Green-</p> <p>ЭН</p> <table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr><td>3</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>2</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>1</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>0</td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td>16</td><td>11 26</td></tr> <tr><td></td><td>46</td><td>31 36</td></tr> <tr><td>0</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>1</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>2</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>3</td><td></td><td></td></tr> </table> <p>ЭК</p> <table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr><td>3</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>2</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>1</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>0</td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td>16</td><td>11 26</td></tr> <tr><td></td><td>46</td><td>31 36</td></tr> <tr><td>0</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>1</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>2</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>3</td><td></td><td></td></tr> </table>	3			2			1			0				16	11 26		46	31 36	0			1			2			3			3			2			1			0				16	11 26		46	31 36	0			1			2			3			<p>Silness-Loe</p> <table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr><td>3</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>2</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>1</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>0</td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td>16</td><td>11 24</td></tr> <tr><td></td><td>44</td><td>31 36</td></tr> <tr><td>0</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>1</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>2</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>3</td><td></td><td></td></tr> </table> <p>СППТН</p> <table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr><td>4</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>3</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>2</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>1</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>0</td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td>17/16</td><td>11 27/27</td></tr> <tr><td></td><td>47/46</td><td>31 36/37</td></tr> <tr><td>0</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>1</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>2</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>3</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>4</td><td></td><td></td></tr> </table>	3			2			1			0				16	11 24		44	31 36	0			1			2			3			4			3			2			1			0				17/16	11 27/27		47/46	31 36/37	0			1			2			3			4			<p>ДО</p> <table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr><td>3</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>2</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>1</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>0</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td>16</td><td>11 24</td></tr> <tr><td></td><td>44</td><td>31 36</td></tr> <tr><td>0</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>1</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>2</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>3</td><td></td><td></td><td></td></tr> </table>	3				2				1				0					16	11 24		44	31 36	0				1				2				3				
3																																																																																																																																																																							
2																																																																																																																																																																							
1																																																																																																																																																																							
0																																																																																																																																																																							
	16	11 26																																																																																																																																																																					
	46	31 36																																																																																																																																																																					
0																																																																																																																																																																							
1																																																																																																																																																																							
2																																																																																																																																																																							
3																																																																																																																																																																							
3																																																																																																																																																																							
2																																																																																																																																																																							
1																																																																																																																																																																							
0																																																																																																																																																																							
	16	11 26																																																																																																																																																																					
	46	31 36																																																																																																																																																																					
0																																																																																																																																																																							
1																																																																																																																																																																							
2																																																																																																																																																																							
3																																																																																																																																																																							
3																																																																																																																																																																							
2																																																																																																																																																																							
1																																																																																																																																																																							
0																																																																																																																																																																							
	16	11 24																																																																																																																																																																					
	44	31 36																																																																																																																																																																					
0																																																																																																																																																																							
1																																																																																																																																																																							
2																																																																																																																																																																							
3																																																																																																																																																																							
4																																																																																																																																																																							
3																																																																																																																																																																							
2																																																																																																																																																																							
1																																																																																																																																																																							
0																																																																																																																																																																							
	17/16	11 27/27																																																																																																																																																																					
	47/46	31 36/37																																																																																																																																																																					
0																																																																																																																																																																							
1																																																																																																																																																																							
2																																																																																																																																																																							
3																																																																																																																																																																							
4																																																																																																																																																																							
3																																																																																																																																																																							
2																																																																																																																																																																							
1																																																																																																																																																																							
0																																																																																																																																																																							
	16	11 24																																																																																																																																																																					
	44	31 36																																																																																																																																																																					
0																																																																																																																																																																							
1																																																																																																																																																																							
2																																																																																																																																																																							
3																																																																																																																																																																							
<p>РМА</p> <table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr><td>3</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>2</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>1</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>0</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td></td><td>8</td><td>7</td><td>6</td><td>5</td><td>4</td><td>3</td><td>2</td><td>1</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td><td>7</td></tr> <tr><td></td><td>8</td><td>7</td><td>6</td><td>5</td><td>4</td><td>3</td><td>2</td><td>1</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td><td>7</td></tr> <tr><td>0</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>1</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>2</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>3</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> </table>				3																2																1																0																	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7		8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	0																1																2																3																			
3																																																																																																																																																																							
2																																																																																																																																																																							
1																																																																																																																																																																							
0																																																																																																																																																																							
	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7																																																																																																																																																								
	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7																																																																																																																																																								
0																																																																																																																																																																							
1																																																																																																																																																																							
2																																																																																																																																																																							
3																																																																																																																																																																							

Карта обследования стоматологического пациента (Страница 3)

ФИО	Дата															
периапикальные изменения																
костные карманы																
деструкция костной ткани альвеолярного отростка до 1/3, на 1/3-1/2 и более 1/2 длины корня																
компактная пластинка костной ткани(четкая, разрушенная)																
	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
	8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8
периапикальные изменения																
костные карманы																
деструкция костной ткани альвеолярного отростка до 1/3, на 1/3-1/2 и более 1/2 длины корня																
компактная пластинка костной ткани(четкая, разрушенная)																

Ортопантомограмма пациента с ХГП легкой степени тяжести



Ортопантограмма пациента с ХГП средней степени тяжести



Ортопантомограмма пациента с ХГП тяжелой степени

