

Особенности микробиоценоза зубного налета у пациентов с агрессивным и хроническим генерализованным пародонтитом

В.Г. Атрушкевич¹, Е.А. Тихомирова¹, И.В. Зудина²

¹ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова», Москва,

²ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского», Саратов

Peculiarities of dental plaque microbiocenosis in patients with aggressive and chronic generalized periodontitis

V.G. Atrushkevich¹, E.A. Tikhomirova¹, I.V. Zudina²

¹Department of Periodontology, Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Yevdokimov, Moscow, Russia,

²The laboratory of molecular biology and cytogenetics of the Biological Department of the Saratov State National Research University named after N.G. Chernyshevsky, Saratov, Russia

Аннотация

Актуальность. Роль отдельных пародонтопатогенов и их ассоциаций в развитии и течении пародонтальных заболеваний, их взаимодействие между собой все еще вызывают много вопросов. В частности, противоречивые данные получены в отношении того, как пародонтопатогены взаимосвязаны с клиническими параметрами заболеваний. **Цель исследования:** повышение качества диагностики агрессивного и хронического пародонтита путем определения особенностей состава пародонтопатогенной флоры.

Материалы и методы. В данном исследовании приняли участие 41 пациент с агрессивным пародонтитом (АП), 32 пациента с хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП) и 18 пациентов без воспалительных заболеваний пародонта (Контроль 1 и Контроль 2). С помощью метода End Point PCR и набора реагентов «Мультидент 5» идентифицировали ДНК пяти пародонтопатогенов содержимого пародонтальных карманов или зубодесневой борозды.

Результаты исследования. В ходе исследования проведен анализ частоты встречаемости как отдельных пародонтопатогенов, так и их комплексов в четырех группах пациентов и выявлены микроорганизмы, специфичные для АП, ХГП и контрольных групп. Также была обнаружена ассоциация идентифицированных микроорганизмов с клиническими признаками заболеваний пародонта и взаимосвязь между пародонтопатогенами в биопленке.

Ключевые слова: пародонтопатогены, биопленка, пародонтит, диагностика пародонтита.

Abstract

Materials and methods: 41 patients with aggressive periodontitis (AP), 32 patients with chronic generalized (CGP) and 18 patients without inflammatory periodontal diseases (Control 1 and Control 2) participated in this study. Using the End Point PCR method and the Multident 5 reagent kit, the DNA of five periodontopathogens was identified in the contents of periodontal pockets or the dentogingival sulcus.

Results of the study: in the course of the study, we analyzed the frequency of occurrence of individual parodontopathogens and their complexes in four groups of patients, and microorganisms specific for AP, CGP, and control groups. We also discovered an association of identified microorganisms with clinical signs of periodontal disease and the relationship between parodontopathogens in biofilms.

Key words: parodontopathogens, biofilm, periodontitis, diagnostics of periodontitis.

В настоящее время большинством отечественных и зарубежных ученых доказано, что заболевания пародонта являются многофакторными, вызываемыми комплексом разных видов бактерий, которые взаимодействуют с тканями и клетками хозяина, вызывая высвобождение широкого спектра воспалительных цитокинов, что приводит к разрушению структур пародонта, в том числе альвеолярной кости и периодонтальной связки [1–4]. Согласно современным представлениям, пародонтопатогены образуют биопленки — симбионтные сообщества микроб-

ных видов, формирующиеся в условиях текучих жидких сред. Существование микроорганизмов в виде биопленки существенно меняет их свойства, повышая степень вирулентности и резистентности. Бактерии биопленок имеют качественные и количественные преимущества, проявляя при этом комплексные и новые неожиданные свойства [4–6].

Антибиотикорезистентность является одним из самых важных свойств бактерий, входящих в состав биопленки [5]. Формирование резистентности микроорганизмов в составе биопленки происходит бла-

годаря включению механизмов, которые препятствуют проникновению антибиотиков в глубокие слои биопленки и нарушают непосредственный контакт с бактериальными клетками [7]. В связи с этим лечение заболеваний пародонта представляет собой серьезную проблему, поскольку основными лекарственными средствами являются антибактериальные препараты. Так, для достижения эффективности антибактериального препарата в биопленке может потребоваться увеличение концентрации препарата в 1500 раз, что значительно повышает риск развития побочных действий антибиотикотерапии [1, 5]. Широкая распространенность воспалительных заболеваний пародонта, неуклонно прогрессирующее течение процесса, приводящее к потере зубов, недостаточная эффективность терапии и профилактики обуславливают важность и значимость изучения этиопатогенеза патологии пародонта, а также поиска эффективных методов и средств профилактики, диагностики и лечения.

В качестве основных пародонтопатогенов, обладающих высокими инвазивными и токсическими свойствами в отношении тканей пародонта, были выделены 3 микроорганизма: *Porphyromonas gingivalis* (P.g.), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a.) и *Tannerella forsythia* (T.f.) [8]. *Prevotella intermedia* (P.i.) и *Treponema denticola* (T.d.) также выделяют в качестве предполагаемых маркеров пародонтита. В последние десятилетия наблюдается стремительный рост в определении возможной роли отдельных видов бактерий в прогрессировании пародонтита [9, 10]. Клинические исследования показали, что наличие и количество видов пародонтопатогенов или их комбинации связаны с параметрами заболевания, в том числе глубиной зондирования, кровотечением при зондировании, потерей клинического прикрепления десны и потерей костной ткани [3, 10–13].

Цель исследования: повышение качества диагностики агрессивного и хронического пародонтита путем определения особенностей состава пародонтопатогенной флоры в зависимости от формы заболевания пародонта.

Материалы и методы

В нашем исследовании приняли участие 73 пациента, находившихся на лечении в отделении пародонтологии №2 КДЦ МГМСУ, в возрасте от 25 до 70 лет (средний возраст $44,2 \pm 1,3$ года). Все пациенты прошли базовое стоматологическое, в том числе пародонтологическое, обследование, которое включало определение индекса КПУ; гигиенический индекс - индекса налета Silness, Loe, 1967; индекса кровоточивости десневых сосочков Muhlemann, 1975 (PBI); глубины пародонтальных карманов, мм; величины рецессий десны, мм; потери прикрепления зубодес-

невого соединения (CAL): суммы значений глубины пародонтального кармана и рецессии десны, мм; подвижности зубов по шкале Lindhe, а также рентгенологического индекса Фукса. Диагностика хронического генерализованного пародонтита и агрессивного пародонтита проводилась на основании критериев классификации, принятой Американской академией пародонтологии в 1999 г. [2, 13].

По итогам обследования и в соответствии с критериями включения, невключения и исключения пациенты были разделены на две группы: пациенты с агрессивным пародонтитом (АП) и хроническим генерализованным пародонтитом тяжелой степени (ХГП).

Критерии включения пациентов в группу АП:

- 1) наличие пародонтальных карманов более 5 мм;
- 2) неравномерная резорбция костной ткани, как правило, вертикальная и блюдцеобразная, преимущественно у резцов и первых моляров;
- 3) быстрое прогрессирование заболевания;
- 4) отсутствие самопроизвольной ремиссии;
- 5) ранний возраст начала заболевания (до 35 лет).

Критерии включения пациентов в группу ХГП:

- 1) наличие пародонтальных карманов более 5 мм;
- 2) наличие относительно равномерной резорбции костной ткани в области, по крайней мере, четырех участков;
- 3) медленный или умеренный темп прогрессирования заболевания с самопроизвольной ремиссией;
- 4) возраст пациентов старше 35 лет.

Критерии невключения для пациентов с АП или ХГП:

- 1) наличие беременности;
- 2) сопутствующая общесоматическая патология в стадии декомпенсации;
- 3) длительный прием лекарственных препаратов, вызывающих гипертрофические изменения в десне;
- 4) прием антибактериальных препаратов в последние 3 мес;
- 5) локализованный пародонтит.

Критерии исключения для пациентов с АП или ХГП:

- 1) отказ пациента от участия в клиническом исследовании;
- 2) обнаружение у пациентов в процессе исследования тяжелой общесоматической патологии.

Первую группу составил 41 человек с диагнозом агрессивный пародонтит (АП) в возрасте от 25 до 45 лет (женщины – 19, мужчины – 22 человека), средний возраст $36,2 \pm 1,1$ года. Вторую группу составили 32 пациента с диагнозом хронический генерализованный пародонтит тяжелой степени (ХГП) в возрасте от 41 года до 70 лет (женщины – 18, мужчины – 14 человек), средний возраст $53,7 \pm 1,5$ года.

Группа пациентов без воспалительных заболеваний пародонта (контроль) состояла из 18 человек

без клинических проявлений заболеваний пародон- та. Из них 5 мужчин и 13 женщин в возрасте от 22 до 64 лет (средний возраст $38,3 \pm 2,4$ года). Группа здоро- вых пациентов была разделена на 2 подгруппы: до 35 лет и старше 35 лет, в соответствии с возрастом па- циентов в группах АП и ХГП. В группу Контроль 1 вошли 12 пациентов (женщины- 8, мужчины- 4 че- ловека), средний возраст которых составил $29,9 \pm 1,5$ года. В группу Контроль 2 вошли 6 пациентов (жен- щины- 4, мужчины- 2 человека), средний возраст ко- торых составил $55 \pm 3,2$ года.

При проведении опроса пациенты, участвующие в исследовании, отмечали наличие общесоматиче- ской патологии (см. таблицу). Среди пациенток мо- лодого возраста с АП часто наблюдаются гормональ- ные нарушения в гинекологической сфере (37%), которые могут отражаться на состоянии тканей па- родонта [14]. Гипертоническая болезнь чаще встре- чается у пациентов в группе ХГП — в 25% случаев, а у пациентов с АП — в 15%. Заболевания желудочно- кишечного тракта и сахарный диабет в стадии ком- пенсации в группах АП и ХГП распространены при- мерно одинаково (6-7 и 2-3% соответственно). У па- циенток из группы ХГП в 2% случаев встречается остеопороз. Также мы выяснили, что в группе па- циентов с АП в 34% случаев наблюдается патология прикуса, а у пациентов с ХГП — в 16% случаев. 76% опрошенных с АП отмечали периодические обостре- ния заболевания, сопровождающиеся гноетечени- ем. Частота рецидивов пародонтита в группе паци- ентов с ХГП составляет 47%. 49% опрошенных с АП

ранее проходили пародонтологическое лечение в виде проведения профессиональной гигиены поло- сти рта, из них 17% подвергались хирургическому ле- чению. Среди пациентов с ХГП консервативное ле- чение проводилось 59% опрошенных, а хирургиче- ское — только 9%. О наличии заболеваний пародонта у ближайших родственников знают 17% пациентов с АП и только 6% пациентов с ХГП.

В группе Контроль 1 анкетированные чаще всего отмечали наличие заболеваний щитовидной железы (17%) либо гипертонической болезни (8%), а в груп- пе Контроль 2 — заболеваний желудочно-кишечного тракта (17%) и остеопороза (17%) (особенно часто у женщин в период менопаузы). Патология прикуса у пациентов группы Контроль 1 имела у 17%, 25% пациентов ранее прошли ортодонтическое лечение, а в группе Контроль 2 патология прикуса обнаружена у 33% пациентов. 42 и 33% пациентов из групп Кон- троль 1 и Контроль 2 соответственно регулярно по- сещают стоматолога для проведения профессиональ- ной гигиены полости рта. Никто из опрошенных из групп контроля не знает о наличии проблем с десна- ми у родственников.

Как известно, отягощающим фактором тече- ния заболеваний пародонта является курение [15]. Результаты опроса пациентов относительно рас- пространенности курения представлены на рис. 1. Как видно из графика, доля курящих в обеих груп- пах одинакова, а процент бросивших курить и не- курящих в группе пациентов с ХГП выше. Различия между показателями статистически недостоверны. У

Таблица

Данные анамнеза пациентов, принимавших участие в исследовании

Общесоматическое заболевание	Исследуемая группа			
	АП	Контроль 1	ХГП	Контроль 2
<i>Распространенность общесоматической патологии</i>				
Гинекологические заболевания	37%	-	-	-
Гипертоническая болезнь	15%	8%	25%	-
Заболевания желудочно-кишечного тракта	7%	-	6%	17%
Сахарный диабет в стадии компенсации	2%	-	3%	-
Заболевания щитовидной железы	-	17%	3%	-
Остеопороз	-	-	2%	17%
<i>Данные стоматологического анамнеза</i>				
Патология прикуса	34%	17%	16%	33%
Частота возникновения рецидивов заболевания в анамнезе	76%	-	47%	-
Наличие в анамнезе консервативного пародонтологического лечения	49%	42%	59%	33%
Наличие в анамнезе хирургического пародонтологического лечения	17%	-	9%	-
Наличие заболеваний пародонта у ближайших родственников	17%	-	6%	-

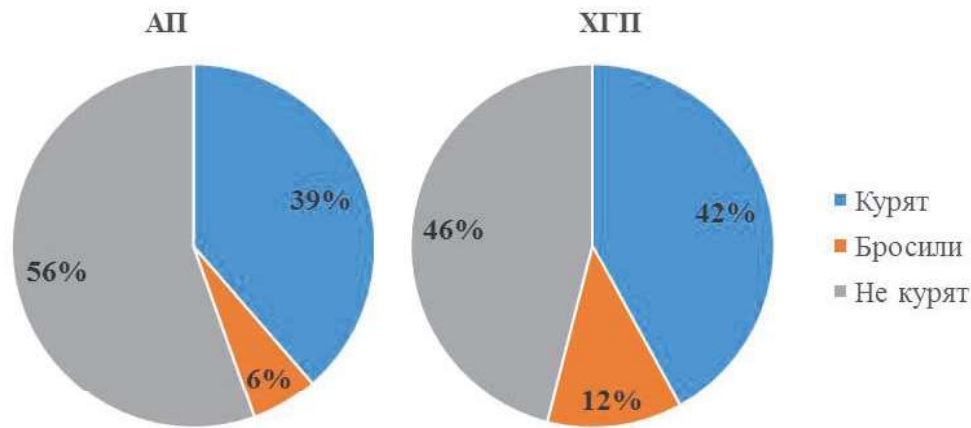


Рис. 1. Распространенность курения в исследуемых группах.

пациентов-курильщиков заметно снижена кровоточивость десны и имеется плотный пигментированный налет на зубах. В группах контроля курящих пациентов не было.

Забор материала и лабораторное исследование.

Для определения микробного состава содержимого пародонтальных карманов использовали метод полимеразной цепной реакции End Point PCR (ПЦР). Для этого в процессе проведения базовой терапии у пациентов с помощью стерильных кюрет Грейси собирали образцы зубного налета и наносили на стерильные пины №30, которые помещали в эппендорфы с лизирующим буфером. Собранные образцы хранились в морозильной камере при температуре -18°С без размораживания. Затем образцы направляли в лабораторию молекулярной биологии, где их размораживали и с помощью набора реагентов Diatom™ DNA Prep100 выделяли ДНК пародонтопатогенов.

С использованием набора реагентов «Мультиидент 5» идентифицировали ДНК пяти пародонтопатогенов: P.g., T.f., T.d., A.a. и P.i. (рис. 2).

Статистический анализ

Статистическая обработка данных выполнена с помощью программы Statistica 10.0. Была проведена проверка переменных на нормальность распределения, построены диаграммы размаха для удаления выбросов. Так как переменные распределены нормально, но объем выборки мал (меньше 100 пациентов), то для анализа полученных данных задействованы как параметрические, так и непараметрические методы. Были использованы основные статистические описательные величины (средняя и ошибка средней). Для определения корреляции между обнаруженными пародонтопатогенами и клиническими признаками заболеваний пользовались коэффициентом ранговой корреляции Спирмена. Значения

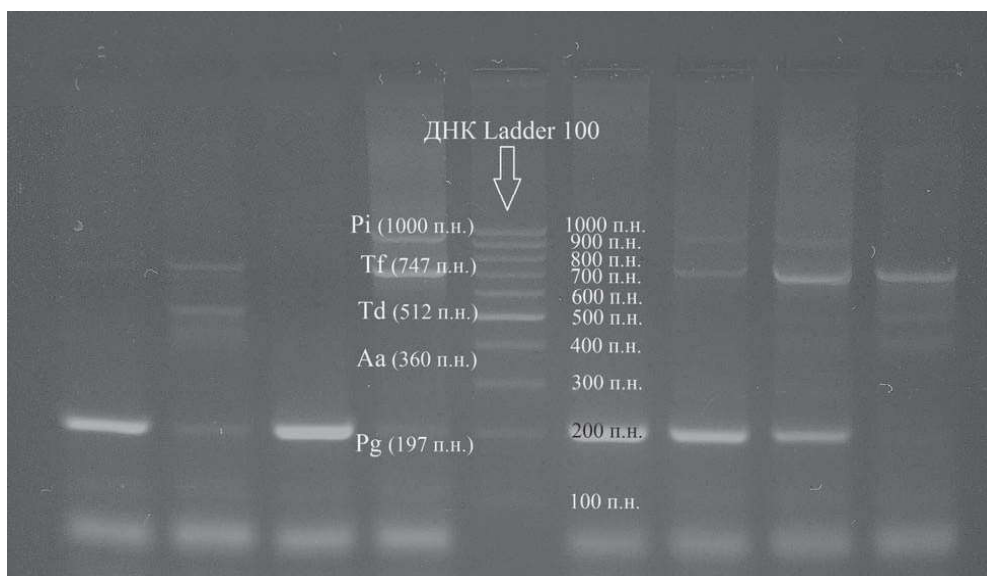


Рис. 2. Учет результатов проведенного электрофореза. Светящиеся полосы на уровне известных размеров ПЦР-продуктов исследуемых пародонтопатогенов свидетельствуют о наличии в пробе данных возбудителей.

коэффициентов корреляции (r) до 0,3 отражают слабую связь между переменными, значения от 0,4 до 0,7 – умеренную связь, а значения от 0,7 – сильную связь. Для определения статистической значимости различий средних величин использовали U -критерий Манна–Уитни. Статистически значимым являлось значение $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

При оценке стоматологического статуса пациентов, участвующих в исследовании, было выявлено, что интенсивность кариозного процесса по показателю кариозных зубов (К) во всех четырех группах примерно одинакова (рис. 3). Число запломбированных зубов (П) больше у пациентов в группе Контроль 2 ($10,5 \pm 1,06$), меньше всего этот показатель у пациентов с АП ($6,5 \pm 0,78$). Однако статистически досто-

верных различий между этими показателями не выявлено ($p > 0,05$). Таким образом, интенсивность кариозного процесса (К+П) наиболее высокая в группе Контроль 2 ($12,3 \pm 1,2$), а у пациентов группы ХГП этот показатель несколько ниже ($8,9 \pm 0,9$) и практически равен интенсивности кариозного процесса в группе Контроль 1 ($9,0 \pm 1,0$). У пациентов группы АП наблюдается самая низкая интенсивность кариозного процесса ($8,2 \pm 0,8$). Показатель удаленных зубов (У) наиболее высокий у пациентов с ХГП ($4,34 \pm 0,87$), так как в эту группу входят пациенты более старшего возраста с более длительным течением пародонтита, а наиболее низкий у лиц молодого возраста группы Контроль 1 ($0,17 \pm 0,11$).

Гигиена полости рта хуже у пациентов с АП и ХГП по сравнению с контрольными группами (рис. 4). У данных пациентов также наблюдается выражен-

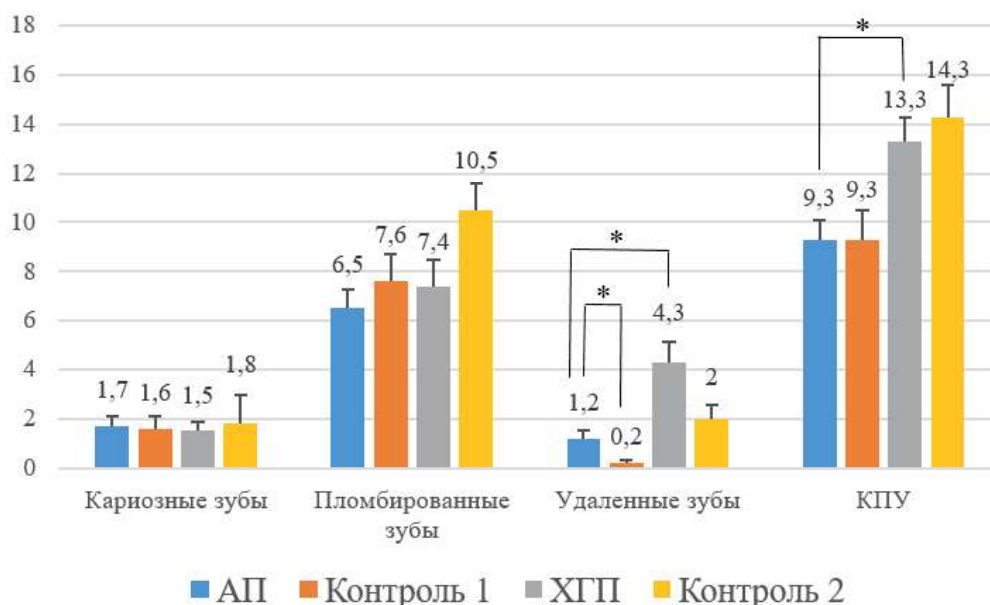


Рис. 3. Состояние твердых тканей зубов у обследованных пациентов. * - $p \leq 0,05$.

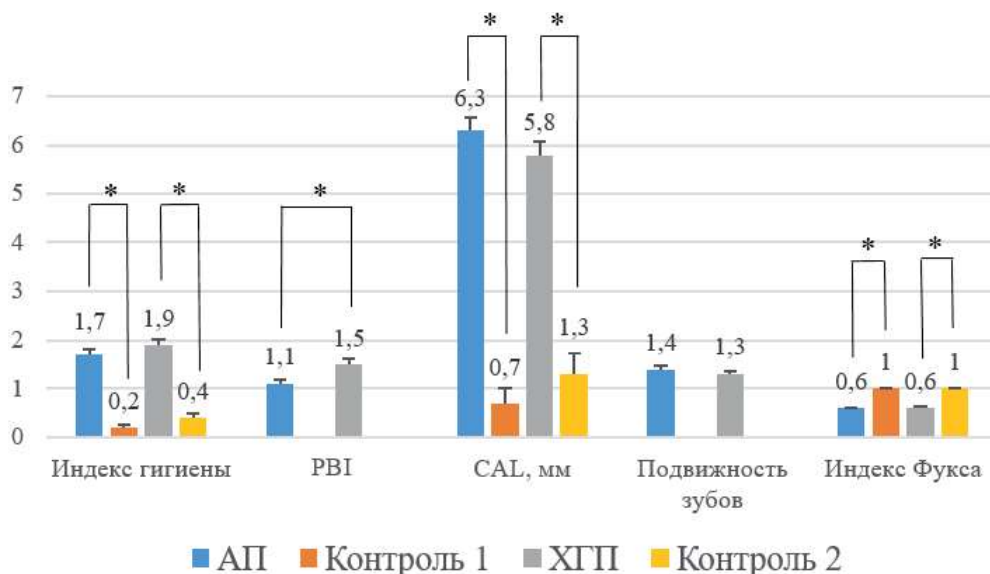


Рис. 4. Состояние тканей пародонта у обследованных пациентов. * - $p \leq 0,05$.

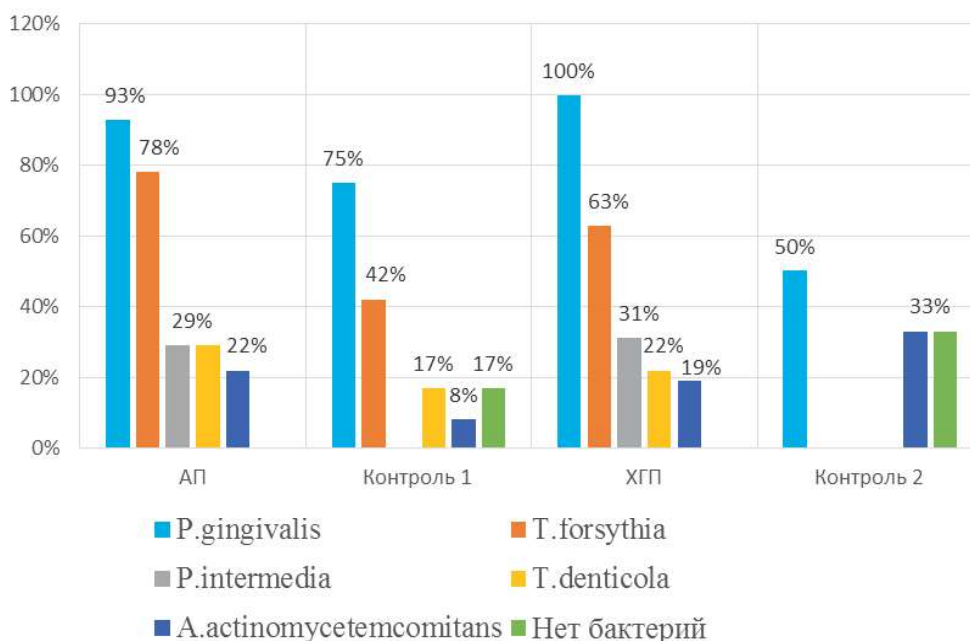


Рис. 5. Распределение отдельных пародонтопатогенов в группах обследования.

ная кровоточивость десны. При исследовании уровня гигиены полости рта статистически значимых различий между АП и ХГП не выявлено ($U=560$ при $p=0,29$). В обеих контрольных группах состояние гигиены полости рта было значимо лучше (АП и Контроль 1 $U=12$ при $p=0,000001$; ХГП и Контроль 2 $U=7$ при $p=0,0004$). При этом выраженность кровоточивости десен при осмотре у пациентов с ХГП значимо отличается от аналогичного показателя у пациентов с АП ($PVI_{ХГП}=1,49\pm 0,13$, $PVI_{АП}=1,13\pm 0,09$; $U=466$ при $p=0,0035$), т.е. у пациентов с ХГП при сравнимом состоянии гигиены полости рта отмечается более высокая кровоточивость десен.

В группах АП и ХГП наблюдались высокие показатели потери клинического прикрепления десны ($CAL_{АП}=6,32\pm 0,26$ мм; $CAL_{ХГП}=5,83\pm 0,27$ мм), а также подвижности зубов (при АП $1,35\pm 0,07$ мм; при ХГП $1,27\pm 0,06$ мм). Значения CAL и подвижности зубов были сравнимы и статистически незначимы (соответственно $U=541$ при $p=0,2$ и $U=601$ при $p=0,54$). Резорбция костной ткани примерно одинакова в обеих группах и статистически достоверных различий не имела ($U=559$ при $p=0,29$).

Распределение пародонтопатогенов в клинических группах.

Последние данные литературы показывают, что пародонтопатогенная флора усиливает свои вирулентные свойства в составе биопленки [6, 16]. Поэтому мы определяли микроорганизмы как самостоятельно, так и в составе ассоциаций. Видовой состав пародонтопатогенов, находящихся в составе биопленки с поверхности корня, представлен на рис. 5. Наиболее разнообразный состав пародонтопатогенов

наблюдался у пациентов групп АП и ХГП. Во всех группах пациентов наиболее часто встречалась бактерия *P.g.* (более 50%). Эта бактерия встречается как самостоятельно, так и в сочетании с другими пародонтопатогенами. В группе с АП чаще всего выявлялся *P.g.* (93%), но в качестве одиночного микроорганизма только у 15% (рис. 6). Вторым по частоте встречаемости был *T.f.*, который у пациентов с АП наблюдался в 78% случаев, и только у данной категории пациентов *T.f.* высевался как одиночный самостоятельный микроорганизм (5% случаев). *T.d.* и *P.i.* встречались в равном соотношении (по 29%), *A.a.* — в 22% случаев и только в сочетании с другими пародонтопатогенами.

В группе ХГП *P.g.* наблюдался в 100% случаев, при этом самостоятельно только у 25%. В отличие от АП, у пациентов с ХГП *T.f.* обнаружен только в сочетании с другими пародонтопатогенами в 63%. *P.i.* была идентифицирована в 31% случаев, тогда как *T.d.* и *A.a.* — в 22 и 19% соответственно и только в ассоциациях.

Только у 17 и 33% пациентов из групп Контроль 1 и Контроль 2 соответственно не обнаружен ни один из 5 пародонтопатогенов. В остальных случаях встречались пародонтопатогены как в ассоциациях, так и самостоятельно. Довольно часто в группах Контроль 1 и Контроль 2 выявляли *P.g.* (в 75 и 50% соответственно), причем чаще в качестве самостоятельного одиночного микроорганизма. *T.f.* и *T.d.* были идентифицированы у лиц молодого возраста с интактным пародонтом в группе Контроль 1 (42 и 17% соответственно), тогда как в группе Контроль 2 данные пародонтопатогены не встречались вовсе. Зато в группе Контроль 2 *P.i.* высевался чаще (33%), чем в группе Контроль 1 (8%). При этом раз-

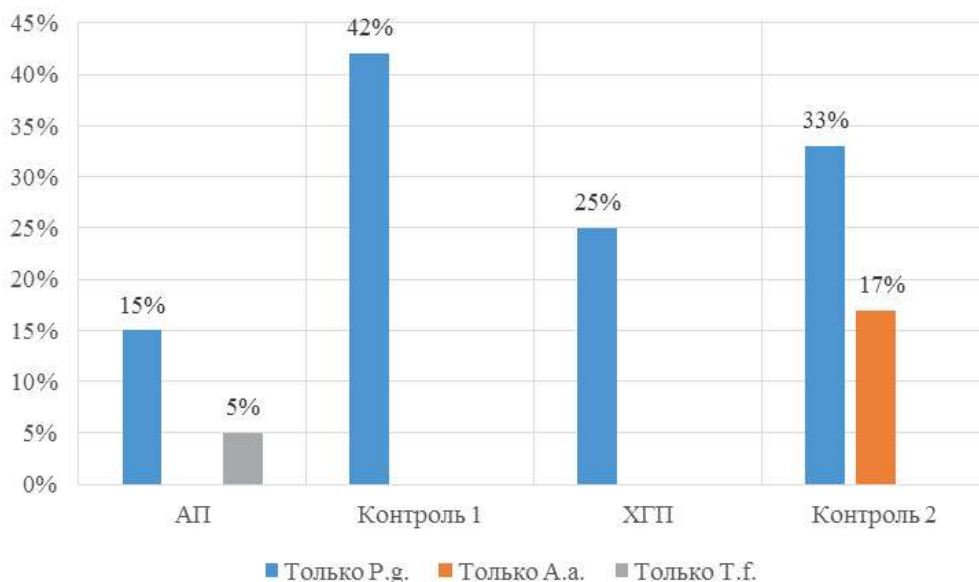


Рис. 6. Распределение микроорганизмов, встречающихся самостоятельно, т.е. вне ассоциаций с исследуемыми нами пародонтопатогенами.

личия между содержанием микроорганизмов в разных группах пациентов не являлись статистически значимыми ($p > 0,05$).

Только в группе Контроль 2 в качестве самостоятельного пародонтопатогена нами был обнаружен A.a. (17% случаев), а T.f. — в группе АП (5%) (рис. 6). P.g. же самостоятельно встречался во всех четырех группах, причем чаще у пациентов без воспалительных заболеваний пародонта (от 33 до 42%). У пациентов с ХГП P.g. может поддерживать заболевание у 25% обследуемых, а в группе АП — у 15%. Таким образом, мы обнаружили 3 пародонтопатогена, которые не участвовали в ассоциациях с изучаемыми

нами пародонтопатогенами, два из них идентифицированы у пациентов с патологией.

Распределение комплексов пародонтопатогенов в клинических группах.

Интересные данные были получены относительно сочетаний ведущих пародонтопатогенов P.g.+A.a., которые в 17% случаев были выявлены в группе Контроль 2 и только в 3% — в группе ХГП, а у пациентов с АП ни разу (рис. 7). Но как только к этому комплексу присоединяются такие пародонтопатогены, как T.f., P.i. или T.d., то частота их встречаемости у пациентов с пародонтитом

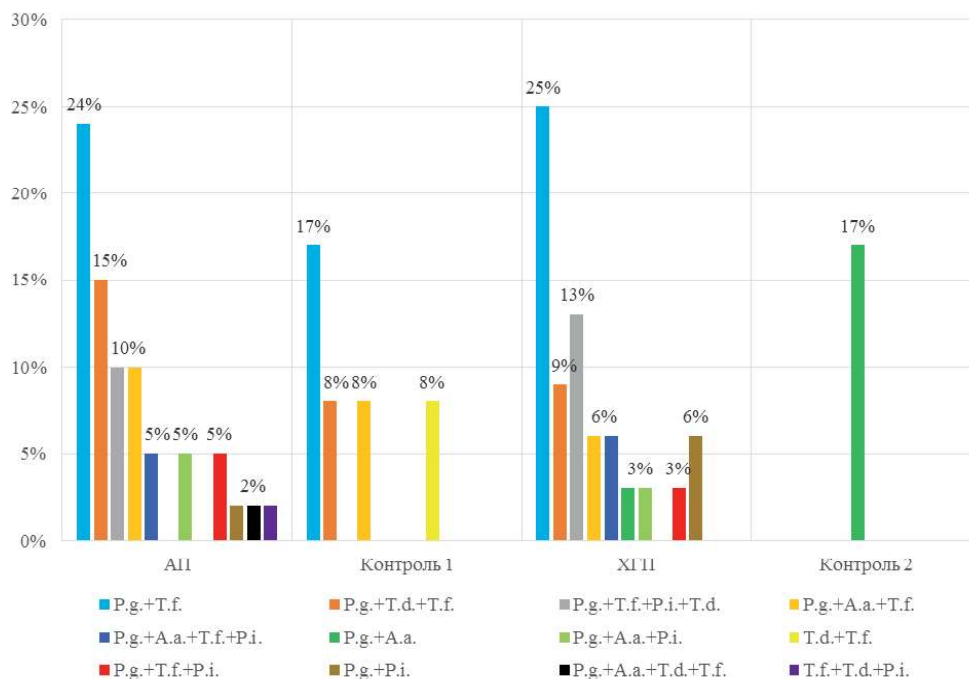


Рис. 7. Частота встречаемости комплексов пародонтопатогенов в четырех группах.

возрастает, а в контрольных группах они практически не выявляются. Частота обнаружения комплекса P.g.+A.a.+T.f.+P.i. составила 5% при АП и 6% при ХГП. В контрольных группах данное сочетание пародонтопатогенов не встречалось ни разу. Самая высокая частота встречаемости комплекса P.g.+A.a.+T.f. наблюдалась у пациентов с АП (10%), в 8% случаев этот комплекс встречался у пациентов группы Контроль 1 и в 6% случаев — в группе ХГП. Во второй контрольной группе он не был выявлен ни разу. Сочетание T.f.+T.d.+P.i. было обнаружено только в одной из групп сравнения — у пациентов с АП в 2% случаев. У пациентов с ХГП и в контрольных группах эти пародонтопатогены в комплексе не обнаружены ни разу.

Таким образом, комплекс P.g.+A.a. наиболее часто встречался в норме, однако при добавлении к данному комплексу какого-либо пародонтопатогена частота его встречаемости значительно повышалась при патологии.

Сочетание P.g.+T.f. одинаково часто обнаруживалось в группах пациентов с АП и ХГП (24-25% случаев) и в 17% случаев у пациентов первой контрольной группы. Среди пациентов второй контрольной группы ни одного случая идентификации этого комплекса не выявлено. Сочетание P.g.+T.f.+T.d. чаще наблюдалось у пациентов с агрессивным течением заболевания пародонта — в 15% случаев, а при ХГП и в группе контроля почти в 1,5 раза реже (9 и 8% соответственно). При присоединении к комплексу P.g.+T.f.+T.d. P.i. данное сочетание можно было встретить только у пациентов с пародонтитом, причем чаще у пациентов с хроническим течением, нежели с агрессивным: при ХГП в 13% случаев, при АП в 10%. Следует отметить, что все комплексы пародонтопатогенов, содержащие P.i., обнаружены только при патологии. При этом комплекс P.g.+P.i. встречался чаще у пациентов при ХГП (6% случаев), нежели при АП (2%), а комплекс P.g.+T.f.+P.i., наоборот, чаще при АП, нежели при ХГП (5 и 3% соответственно). Сочетание T.d.+T.f. идентифицировалось только у пациентов без воспалительных заболеваний пародонта группы Контроль 1 в 8% случаев.

Таким образом, P.i. обнаружены только в сочетании с другими пародонтопатогенами и только у пациентов с пародонтитом; комплекс T.d.+T.f. наблюдался только у пациентов с клинически здоровым пародонтом, а при присоединении других пародонтопатогенов комплексы с этими бактериями уже широко распространены у пациентов с патологией. Различия между частотой встречаемости комплексов микроорганизмов в разных группах пациентов статистически незначимы ($p > 0,05$).

Взаимосвязи между пародонтопатогенами.

Среди пациентов с АП и ХГП частота встречаемости T.f. положительно коррелирует с частотой встречаемости T.d. ($r_s = 0,4$). Та же корреляционная зависимость была выявлена и у пациентов первой контрольной группы (без клинических признаков пародонтита) ($r_s = 0,7$). Следовательно, несмотря на такую тесную связь T.f. и T.d., можно предположить отсутствие патогенного влияния этого комплекса на ткани пародонта. Однако, как только к этому комплексу присоединяется P.g. у пациентов с патологией пародонта, частота встречаемости T.f. и T.d. значимо снижается ($r_{s\ T.f.} = -0,7$; $r_{s\ T.d.} = -0,3$), а в контрольных группах снижается только частота встречаемости T.f. ($r_s = -0,7$), с T.d. такой корреляции не обнаружено. Вероятно, полученные нами данные подтверждают гипотезу группы авторов во главе с Z. Zainal-Abidin о том, что на первом этапе развития биопленки доминирующими видами являются T.f. и T.d., которые способны менять условия окружающей среды и делать их более благоприятными для роста и развития P.g., что позволяет ему со временем быстро размножиться и вытеснить T.f., подавляя ее рост. Стоит учесть, что P.g. и T.d. обнаруживаются в верхних слоях биопленки, тогда как T.f. — в промежуточном слое поддесневой бляшки [6]. Что касается контрольной группы, то P.g., T.f. и T.d. чаще всего находятся вместе в образцах зубного налета, прилегающего к эпителиальной выстилке десневой борозды. Однако для развития заболеваний пародонта одних пародонтопатогенов недостаточно, следует также учитывать факторы местного иммунитета.

Частота встречаемости A.a. снижается при наличии в составе биопленки P.g. ($r_s = -0,3$) и T.d. ($r_s = -0,2$). Частота встречаемости P.i. возрастает в присутствии T.d. ($r_s = 0,2$) и снижается в присутствии P.g. ($r_s = -0,3$). В контрольных группах подобной корреляции не выявлено.

Наиболее часто T.d. образует ассоциации с другими пародонтопатогенами и при АП и ХГП обнаруживается в числе таких комплексов, как P.g.+T.f.+T.d. ($r_s = 0,6$) или P.g.+T.f.+P.i.+T.d. ($r_s = 0,5$, $r_s = 0,7$). У пациентов без патологии пародонта (Контроль 1) была обнаружена зависимость частоты встречаемости T.d. от присутствия P.g. и T.f. ($r_s = 0,7$).

При АП и ХГП частота встречаемости A.a. повышается в составе комплексов с P.g.+T.f. ($r_s = 0,6$, $r_s = 0,5$); P.g.+T.f.+P.i. ($r_s = 0,4$, $r_s = 0,5$) и P.g.+P.i. ($r_s = 0,4$). При ХГП также увеличена частота встречаемости A.a. в составе комплекса с P.g. ($r_s = 0,4$).

Частота встречаемости у пациентов с АП и ХГП P.i. увеличивается в составе комплексов с P.g.+A.a.+T.f. ($r_s = 0,4$) и с P.g.+T.f.+T.d. ($r_s = 0,5$, $r_s = 0,4$). При АП также наблюдается умеренный рост частоты встречаемости P.i. в составе ассоциации с комплексами P.g.+A.a.

($r_s=0,4$) и P.g.+T.f. ($r_s=0,4$), а при ХГП в составе ассоциации с комплексом P.g.+P.i. ($r_s=0,4$). Среди пациентов с клинически интактным пародонтом подобной корреляции не выявлено.

Плохая гигиена полости рта, повышенная кровоточивость десны создают условия для прогрессирования пародонтита, увеличения потери прикрепления десны и усиления резорбции костной ткани. В нашей работе повышенная кровоточивость десны ассоциировалась с такими бактериями, как P.g. ($r_s=0,3$), T.d. ($r_s=0,2$) и P.i. ($r_s=0,2$). В свою очередь ухудшение гигиены полости рта у пациентов с патологией пародонта ассоциировалось с обнаружением таких пародонтопатогенов, как P.g. ($r_s=0,3$), T.f. ($r_s=0,3$), T.d. ($r_s=0,3$). T.d. имела более тесную ассоциацию с тяжелым течением агрессивного пародонтита ($r_s=0,4$). Потеря прикрепления, которая клинически коррелирует с глубиной пародонтального кармана, подвижностью зубов и резорбцией костной ткани, положительно коррелировала с идентификацией таких микроорганизмов, как P.g. ($r_s=0,2$), T.f. ($r_s=0,3$), T.d. ($r_s=0,3$). Нами было замечено, что у пациентов, находящихся на регулярной поддерживающей терапии, по окончании пародонтологического лечения имелся другой состав пародонтопатогенов, их сочетаний в комплексах. Однако, несмотря на клиническую ремиссию заболевания, во всех случаях выявлялся P.g., как самостоятельно, так и в составе комплексов.

При гноетечении из пародонтальных карманов чаще всего выделялась T.f. в качестве самостоятельного пародонтопатогена или в составе комплекса с P.g. (среди пациентов с АП T.f. встречалась в 78% случаев, а при ХГП — в 63%). Гноетечение сопровождается повышенной кровоточивостью десен и наблюдается чаще всего в глубоких пародонтальных карманах, возле подвижных зубов, где по рентгенограмме определяется значительная убыль костной ткани (индекс Фукса < 0,6).

У пациентов без патологии пародонта наблюдается прямая зависимость количества выявленных патогенов от возраста: с возрастом возрастает число пародонтопатогенов, особенно P.g., даже у лиц с клинически интактным пародонтом.

Выводы

1. Наиболее часто во всех группах пациентов встречалась бактерия P.g. (более 50%). При ХГП P.g. идентифицировалась в 100% случаев. Эта бактерия встречалась как самостоятельно, так и в сочетании с другими пародонтопатогенами. Сочетание P.g.+A.a. чаще выявлялось в группе Контроль 2, но при присоединении к нему таких пародонтопатогенов, как T.f., P.i. или T.d., частота их встречаемости у пациентов с пародонтитом возрастала, а в контрольных группах они практически не выявлялись. С присутстви-

ем P.g. связаны все клинические проявления заболеваний пародонта: повышенная кровоточивость десны, плохая гигиена полости рта, гноетечение, потеря прикрепления десны. Даже несмотря на клиническую ремиссию заболевания, во всех случаях выявлялся P.g.

2. T.d. и T.f. могут менять условия окружающей среды, делать их благоприятными для роста и развития P.g., что позволяет ему быстро размножиться и вытеснить T.d. и T.f.

3. Все комплексы пародонтопатогенов, содержащие P.i., обнаруживались только при патологии.

4. Комплекс T.d.+T.f. обнаруживался только у пациентов молодого возраста с клинически здоровым пародонтом, а при присоединении других пародонтопатогенов комплексы с этими бактериями уже было широко распространены у пациентов с патологией.

5. Среди пациентов групп Контроль 1 и Контроль 2 только в 17 и 33% случаев соответственно не обнаружен ни один из 5 пародонтопатогенов.

Таким образом, наше исследование отражает различия в микробном составе содержимого пародонтальных карманов у пациентов с АП и ХГП, а также зубодесневого соединения у пациентов без воспалительных заболеваний пародонта. Подобное описание пародонтопатогенов и их микробных комплексов в качестве причины прогрессирования заболеваний пародонта от состояния здоровья до деструкции тканей пародонта обеспечивает организованный подход к оценке роли большого количества бактериальных видов.

Литература

1. Цепов Л.М., Николаев А.И., Наконечный Д.А., Нестерова М.М. Микробные биопленки и хронические воспалительные заболевания пародонта (обзор литературы). *Пародонтология*. 2015; 20(3): 3-6 [Tceпов Л.М., Nikolaev A.I., Nakonechnyj D.A., Nesterova M.M. Microbial biofilms and chronic inflammatory periodontal diseases (literature review). *Parodontologija*. 2015; 20(3): 3-6. In Russia].
2. Nibali L. Aggressive Periodontitis: microbes and host response, who to blame? *Virulence*. 2015; 6(3): 223-225. doi: 10.4161/21505594.2014.986407.
3. Velichka T., Dosseva-Panova V.T., Popova C.L., Panov V.E. Subgingival microbial profile and production of proinflammatory cytokines in chronic periodontitis. *Folia Medica*. 2014; 56(3): 152-8. doi: 10.2478/folmed-2014-0022.
4. Zhu W, Lee S-W. Surface interactions between two of the main periodontal pathogens: *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythia*. *J. Periodontal. Implant. Sci*. 2016; 46(1): 2-7. doi: 10.5051/jpis.2016.46.1.2.
5. Feres M., Figueiredo L.C., Soares G.M.S. et al. Faveri M. Systemic antibiotics in the treatment of periodontitis. *Periodontology*. 2000. 2015; 67: 131-155. doi: 10.1111/prd.12075.

6. Hong Min N.g., Lin Xin Kin, Dashper S.G. et al. Bacterial interactions in pathogenic subgingival plaque. *Microbial Pathogenesis*. 2016; 94: 60-69. doi: 10.1016/j.micpath.2015.10.022.
7. Макеева И.М., Даурова Ф.Ю., Бякова С.Ф., Инполитов Е.В., Гостев М.С., Поликушина А.О. и др. Чувствительность микробных ассоциаций экссудата пародонтального кармана и одонтогенного очага к антибактериальным препаратам. *Стоматология*. 2016; 3: 26-30 [Makeeva I.M., Daurova F.Ju., Bjakova S.F., Ippolitov E.V., Gostev M.S., Polikushina A.O., Shubin E.A. The sensitivity of microbial associations in the exudate of periodontal pocket and odontogenic locus to antibacterial drugs. *Stomatologija*. 2016; 3: 26-30. In Russia].
8. Silva N., Abusleme L., Bravo D. et al. Host response mechanisms in periodontal diseases. *J. Appl. Oral. Sci.* 2015; 23(3): 329-355. doi: 10.1590/1678-775720140259.
9. Зорина О.А., Аймадинова Н.К., Басова А.А., Шибеева А.В., Ребриков Д.В. Гендерные различия в микробиоме пародонтального кармана у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом. *Стоматология*. 2016; 95(3): 10-16 [Zorina O.A., Ajmadinova N.K., Basova A.A., Shibaeva A.V., Rebrikov D.V. Gender differences in the microbioma of the periodontal pocket in patients with chronic generalized periodontitis. *Stomatologija*. 2016; 95(3): 10-16. In Russia].
10. Lanza E., Magan-Fernandez A., Bermejo B. et al. Complementary clinical effects of red complex bacteria on generalized periodontitis in a caucasian population. *Oral. Dis.* 2016; 22 (5): 430-437. doi: 10.1111/odi.12471.
11. Зорина О.А., Аймадинова Н.К., Басова А.А., Ребриков Д.В. Взаимосвязь молекулярно-генетических маркеров с клиническими признаками и факторами риска развития пародонтита. *Стоматология*. 2016; 95(5): 12-18 [Zorina O.A., Ajmadinova N.K., Basova A.A., Rebrikov D.V. The interrelation of molecular-genetic markers with clinical signs and risk factors for the development of the periodontitis. *Stomatologija*. 2016; 95(5): 12-18. In Russia].
12. Tsai C-Y., Tang C.Y., Tan T-S. et al. Subgingival microbiota in individuals with severe chronic periodontitis. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2016; 1-9. doi: 10.1016/j.jmii.2016.04.007.
13. Wiernicka-Menkiszak M., Dembowska E., Samulak-Zielińska R. Localized aggressive periodontitis — diagnostics, epidemiology, etiopathogenesis. *Dent. Med. Probl.* 2012; 49(4): 567-568.
14. Забалуева Э.Ю., Атрушкевич В.Г., Несяева Е.В., Палеева М.А., Зорян Е.В. Современный подход к лечению воспалительных заболеваний пародонта у женщин с гинекологической патологией. *Лечение и профилактика*. 2014; 10(2): 54-61 [Zabalueva Je.Ju., Atrushkevich V.G., Nesjaeva E.V., Paleeva M.A., Zorjan E.V. The modern approach to the treatment of the inflammatory periodontal diseases in women with gynecological pathology. *Lechenie i profilaktika*. 2014; 10(2): 54-61. In Russia].
15. Орехова Л.Ю., Осипова М.В., Белова Е.А., Жаворонкова М.Д. Влияние компонентов табачного дыма на развитие и течение заболеваний пародонта. *Пародонтология*. 2014; 19(3): 18-23 [Orehova L.Ju., Osipova M.V., Belova E.A., Zhavoronkova M.D. The influence of the components of tobacco smoke on the development and current of periodontal diseases. *Parodontologija*. 2014; 19(3): 18-23. In Russia].
16. Holt S.C., Ebersole J.L. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the «red complex», a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontology*. 2000. 2005; 38: 72-50. doi: 10.1111/j.1600-0757.2005.00113.

Для корреспонденции/Corresponding author

Тихомирова Екатерина Александровна /Tikhomirova Ekaterina
Lukaly1990@mail.ru