

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Институт развития образования
Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

На правах рукописи



Анисимова Полина Игоревна

ОКСИДАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ЗУБНЫХ КАМНЯХ ПРИ РАЗЛИЧНОМ
БАКТЕРИАЛЬНОМ СОСТАВЕ МИКРОБИОМА РОТОВОЙ ПОЛОСТИ

Научный руководитель:

кандидат биологических наук,
доцент кафедры фундаментальной
и прикладной микробиологии



К.С. Мочалов

Уфа – 2024

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1. Актуальность.....	7
1.2. Морфология, виды камня	8
1.3. Что влияет на возникновение заболеваний зубного камня	9
1.3.1. Заболевания, возникшие от зубного камня	12
1.4. Микроорганизмы, содержащиеся в полости рта и зубном камне.....	14
1.5. Колонизаторы в полости рта как источник микроорганизмов.....	16
1.5.1. Кворум сенсинг. Коммуникация микроорганизмов	17
1.6. Транспортные системы в ротовой полости	18
1.7. Удаление зубного камня, профилактика	19
1.8. Оксидативные процессы и окислительный стресс	22
1.9. Регистрация хемилюминесценции как метод исследования оксидативных процессов	24
1.9.1. Плюсы и минусы хемилюминесценций.....	27
1.10. Культивирование.....	28
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	31
2.1. Объекты исследования	31
2.2. Модельные системы для оценки антиоксидантной активности	32
2.3. Методы исследования.....	32
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	37
3.1 Оксидативные процессы в зубных камнях при наличии в бактериальном составе микробиома ротовой полости <i>Staphylococcus</i> и <i>Enterococcus</i>	37

3.2 Оксидативные процессы в зубных камнях при наличии в бактериальном составе микробиома ротовой полости <i>Streptococcus koreensis</i> и <i>Arthrobacter sulfonivorans</i>	39
3.3 Оксидативные процессы в зубных камнях при наличии в бактериальном составе микробиома ротовой полости <i>Lactobacillus fermentum</i>	40
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	43
ВЫВОДЫ	45
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	46

Список сокращений и условных обозначений

АФК – активные формы кислорода

ХЛ – хемилюминесценция

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

АТФ – аденозинтрифосфат

ФЭУ – фотоэлектронный умножитель

BER – репарация эксцезий оснований

ФДТ – фотодинамическая терапия

ФЛ – фотохемилюминесценция

ЭХЛ – электрохемилюминесценция

БЛ – биоллюминесценция

ДМСО – диметилсульфоксид апроторный растворитель

МПБ – мясо-пептонный бульон

АФК – активные формы кислорода

MnSOD – суперддисмутаза

HRP – пероксидаза хрена

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время зубной камень является достаточно распространенной проблемой, а здоровое состояние полости рта играет важную роль в благополучии и самочувствии человека. Зубной камень – это твердый налет, образующийся на поверхности зуба и состоящий из органических компонентов и неорганических солей. Основным элементом в составе зубного камня является фосфат кальция.

Проблема зубного камня актуальна в современном мире, так как требует серьезного внимания со стороны не только лечащего врача, но и пациента. Кроме косметического дефекта, когда создается неопрятный эстетический вид ротовой полости, возникновение зубного камня сопутствует различным заболеваниям, например, таким как пародонтит. На процесс образования зубного камня влияют экзогенные факторы, например, концентрация микроорганизмов в полости рта, гигиена и десневые повреждения. Кроме того, одним из условий образования зубного камня могут явиться патологические изменения оксидативных процессов, которые обуславливаются различным типом микробиома. Патологические изменения оксидативных процессов могут быть связаны как с усилением, так и снижением образования свободнорадикальных агентов, таких как активные формы кислорода и пероксиды липидов. Эти знания помогут уточнить механизмы образования зубного камня, опосредованные оксидативными процессами. Уточнение бактериального состава, лежащего в основе этих процессов, позволит в дальнейшем проводить мероприятия по профилактике образования зубного камня.

Цель дипломной работы: оценка оксидативных процессов зубного камня при различном составе микробиома ротовой полости

Объект исследования: зубной камень разных образцов

Предмет исследования: регистрация хемилюминесценции зубного камня

Задачи:

1. Исследовать бактериальный состав микробиома ротовой полости при формировании зубных камней.
2. Оценить оксидативные процессы в зубных камнях методом регистрации хемилюминесценции.
3. Сопоставить параметры оксидативных процессов разных образцов зубного камня с бактериальным составом микробиома ротовой полости.

Научная новизна: в работе показано, что разный тип микробима по-разному воздействует на оксидативные процессы, как усиливая, так и снижая их.

Теоретическая значимость: выявленные закономерности характеризуют разные механизмы формирования зубного камня, с участием оксидативных процессов.

Научно практическое значение: проведенные исследования создают предпосылки для практического применения используемых в данной работе методик, а именно разработки основанных на регистрации хемилюминесценции экспресс-методов определения оксидативных процессов в зубном камне.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Актуальность

В настоящее время проблема зубного камня только начинает исследоваться. Понемногу поступает информация в виде научных статей, которая интересовала многих врачей и научных сотрудников. Многие исследователи, такие как Мюллеман, предложили, что кальцинирование массы, как зубной, может быть защитным механизмом от экзогенных факторов, которые могут повлиять еще больше не только на сам зуб, но десны и ротовую полость [64]. Больше всего упоминаний о том, как зубной камень, образовавшийся из зубного налета, влияет на здоровую жизнь человека и является заболеванием периодонта и об этом свидетельствуют эпидемиологические исследования на 80-90% [22].

Зубной камень, по описанию многих источников, описывается как налет, который формируется на зубах, не способный растворяться в воде. Состав такого налета состоит на 70-90% нерастворимыми солями, в частности фосфатом кальция [7]. Благодаря, таим отложениям на зубах возникают многие заболевания: кариес, периодонт, с которым борются очень долго [52]. Распространение его достаточно огромное в мире. Так же нарушается микрофлора, которая является частью нашего организма. В зубном камне и микрофлоре ротовой полости находится огромное количество различных микроорганизмов. Многие из них населяют ротовую полость где, способствуют развитию многих инфекционных заболеваний, а также соматических заболеваний [67]. Происходит образование различных микроорганизмов в зубном камне, и они по-разному относятся к окислительным процессам при методике хемилюминесценции. За счет свечения в разных образцах должно быть относительно разные показатели, которые относятся к разным микроорганизмам. Стоит обратить внимание на роль дисбаланса свободных радикалов и оксидативных процессов в формировании зубного налета и камня. Эти процессы могут быть

самостоятельным механизмом развития заболевания и могут существенно отличаться при различных составах микробиома полости рта.

Эти процессы могут быть самостоятельным механизмом развития заболевания и могут существенно отличаться при различных составах микробиома полости рта.

1.2. Морфология, виды камня

Зубной камень представляет собой патогенным новообразованием, возникающим на зубах 75–80 % людей, являются – дентолиты [49]. Он почти незаметен и его легко обнаружить. Состав зубного состоит из минеральных составляющих и брусничом – $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, октакальция фосфатом – $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, гидроксиапатитом – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6 \cdot (\text{OH})_2$, в некоторых случаях идентифицированы витлокит – $(\text{Ca},\text{Mg})_3(\text{PO}_4)_2$, кальцит – CaCO_3 , монетит – CaHPO_4 [19]. Зубной камень имеет несколько оттенков, благодаря чему можно сразу его отличить от налета. Образуется он в нескольких этапах начиная от скопления налета, при котором гибнут аэробные микроорганизмы и приходят анаэробные. В результате под действием фермента гликозидаз высвобождаются углеводы полисахаридов, которые обеспечивают склеивание зубного налета и микроорганизмов к эмали [7]. Образуются минерализация бактериальной биопленки, накапливающаяся на зубах. В наше время процесс минерализации изучен недостаточно и появляется много источников.

Размер их варьируется от небольшого до размера финиковой косточки, такие случаи бывают у людей пожилого возраста не следящих за здоровьем зубов [32].

Зубной камень может быть нескольких видов и классифицируется по локализации в полости рта:

1. Наддесневой;
2. Поддесневой.

Наддесневой зубной камень очень легко заметить, он имеет белый или желтоватый оттенок. По консистенции похож наиболее на глину либо твердую массу.

Поддесневой зубной камень имеет твердую и плотную структуру, находится только с помощью стоматологического воздействия благодаря специальным инструментам. Имеет зеленовато-черный или тесно-коричневый цвет, плотно прилегающий к поверхности зуба. Поддесневой зубной камень имеет подслоение, которое чаще всего нарушается периодонтальное прикрепление [29].

При появлении зубного камня (наслоения) у человека на поверхности зуба, поясняется как вредный признак для здоровья. Два вида камня способствуют развитию различных заболеваний. Наддесневой зубной камень может способствовать развитию заболевания рецессии десны [38]. Образовываться над- и поддесневой камень может из-за недостаточной гигиены полости рта (нерегулярная чистка зубов, неправильная техника очистки зубов), лекарственных препаратов, вредным привычкам.

Рецессия десны – это широко распространённое заболевание зубной челюстной системы. Определяется как смещение края десны и еще костный структур пародонта по отношению к эмали [12].

Пародонтит-достаточно распространённое заболевание, чаще всего встречается у детей, оно разрушает связки между конем и зубом.

Кариес – расщепление зуба, которое сопровождается растворением минеральных солей, последующем возникновение дырки.

1.3. Что влияет на возникновение заболеваний зубного камня

Во многих случаях распространение зубного камня происходит из-за внешних факторов, но также распространение камня является слюна. «Слюна – это биологическая жидкость, вырабатываемая железами, состоит из воды, растворившие в ней органических и неорганических ионы, пептиды» [46,54]. Катионы в слюне: калий и натрий. Анионы фосфаты, хлориды достаточно

распространены в отличие от сульфатов и нитратов. Бывают и органические анионы находящиеся в смешанной слюне, например, лактат, формиат, трипиринат, ацетат, они являются конечным продуктом метаболизма бактерий, населяющие ротовую полость [51].

На результат образование влияет слюнная жидкость, и образуется зубная бляшка, возникновение происходит в четыре этапа.

Зубная бляшка образуется в результате минерализации слюны. В самом начале образуется аморфный слой, не содержащий в себе бактерий, после образуются бактерии в виде небольших колоний в эмали. В слоях находящихся ниже происходит минерализация, располагаясь с большим скоплением налета [32,33].

Слюна в своем составе содержит компоненты, например, эпителиальные клетки, жидкость десневой борозды, где тоже содержатся бактерии, микроорганизмы, находящиеся в ротовой полости. Состав питательных веществ нужных для бактерий в ротовой полости, часто имеет свою изменчивость. «Состав слюны, включающий в себя гликопротеины муцинов и другие вещества, являются основным источником питания для бактерий и скопления на зубных бляшках. На наддесневых зубных бляшках содержатся некоторые бактерии относящихся к *Streptococcus*, *Actinomyces* и *Lactobacillus*, образуют сахара и кислоты, которые поддерживают нейтральную среду для бактерий. С поступлением пищи стрептококки, лактобациллы и актиномицеты, производя кислоты, могут деминерализировать зубную эмаль и стать причиной возникновения кариеса» [54,69].

Жидкостная десневая борозда содержит в себе десквамированный эпителий, в которой находятся питательные вещества для обитания поддесневых бактерий: *Fusobacterium*, *Prevotella* и *Porphyromonas*. Кислоты, образующиеся при расщеплении, обладают цитотоксическим эффектом и приводят к воспалению тканей и к развитию пародонтозов [69].

Кроме слюны источников бактерий в ротовой полости и развитию различных заболеваний влияет биопленка. Существует 2 основные формы биопленки – это планктонная, подразумевает собой свободное движение микроорганизмов, и устойчивую в микробных сообществах биопленку. Планктонная биопленка встречается только транзиторно, в большинстве случаев бывает существует смешанная биопленка. Смешанная биопленка включает в себя не только микроорганизмы, но и вирусы, грибы и простейшие [53].

Биопленки представляет собой полимикробные сообщества на разделе фаз, на микроорганизмы внутри биопленки приходится около 10%, а остальные 90% представляет матрикс [53].

Образование биопленки происходит в несколько стадий:

1. Адгезия, где микроорганизмы прикрепляются к поверхности зуба, десны и слизистой поверхности в ротовой полости.
2. Возникновение колоний, прикрепленные микроорганизмы размножаются и формируют колонии.
3. ВПВ – склеивающие вещество состоящие из полисахаридов, белков и ДНК. Микроорганизмы выделяют ВПВ, которое помогает им держаться вместеи защищает их от внешних факторов.
4. Созревание. Зрелая биопленка становится устойчивой к различным видам микроорганизмам, взаимодействуя друг с другом.
5. Отслаивание биопленки от поверхности и распространение микроорганизмов на другие участки.

Образуются два типа биопленок за счет многих бактерий: полимикробные и смешанные. Состоят биопленки из нескольких сотен бактерий, в которых происходит активный обмен генетической информацией. Состав в биопленки неоднородный, микроорганизмы внутри вступают в молекулярное взаимодействие, влияющие на рост и устойчивость бактерий [53,35].

1.3.1. Заболевания, возникшие от зубного камня

В предыдущем подзаголовке я вкратце описала, какие заболевания могут происходить от зубного камня. Хочу подробнее рассказать о заболеваниях и их свойствах в жизнедеятельности организма.

Рецессия десны – состояние в полости рта, десны, где она смещена и оголяет корень зуба. Это приводит к повышенной чувствительности, например, к холодному и горячему. Распространённость такого заболевания варьируется у возрастных групп от 30 до 40 лет составляет 38%, в более пожилом возрасте от 80 до 90 лет результат около 90% « По данным Леуса П.А. и Казеко Л.А., распространённость колеблется от 9,8% у 15-летних детей до 99,7% у взрослых. В ходе исследований было замечено, что чем больше возраст пациента, тем больший процент вероятности появления десневых рецессий» [11]. Происходит возникновение такого заболевания в результате плохой гигиены, где есть процесс зубных отложений, в который происходит активное распространение патогенных микроорганизмов. В результате плохой гигиены появляются воспалительные процессы изменения тканей пародонта, таким образом, рецессия десны может выступать в роли одного из главных симптомов [63].

«В последние годы много работ посвящено изучению связи заболеваний пародонта с потерей минимальной плотности периферического скелета. С.Д. Арутюнов и соавт. обнаружили, что у пациентов с остеопорозом и даже с остеопенией чаще проявлялись симптомы патологии пародонта, в том числе обнажения корня» [6].

Так же кроме фактора гигиены, который ускоряет появления рецессии десны влияют: стресс, вредные привычки (курение), применение лекарственных препаратов, гематологические заболевания [63]. Еще на развитие рецессии десны служит неосторожность врача-стоматолога на использование лечебных препаратов в деятельности, например, протекание мышьяковой пасты, в результате возникает ожог. Кроме пасты,

возникновение может происходить от использования ретрационных нитей [48].

Периодонтит – воспалительный процесс периодонта (ткань), которое впоследствии может привести к разрешению костной ткани. В эпидемиологическом исследовании показывает что в 80-90% процентов случаях развитию способствует бактерии над- и поддесневого зубного налетообразования, вызывающие воспаление структурных тканей [1,24,26]. При несоблюдении гигиены в ротовой полости, накапливаются в десневой борозде налетообразование что в дальнейшем ведет к формированию очагов инфекций. В данный момент известно, что накопление микроорганизмов пропорционально налетообразованию, которое удваивается в течение дня. Так же установлено, что бактериальный налет увеличивает не только толщину, но и результате чего происходит развитие воспалений десны [24,26]. На процессы образования влияют экзогенные факторы, такие как: вязкость слюны, концентрация микроорганизмов, процессы самоочищения в труднодоступных местах, где происходит скопление и взаимодействия бактерий и окружающими тканями. Микробный зубной налет может стать патогенным, но только через время, необходимое для его созревания в труднодоступных участках ротовой полости человека. Созревания бактериального налета может варьироваться по-разному от 1 до 3 суток, в среднем 48 часов [24]. В течение этого периода стоит удалить зубной налет, а если этого не делать он становится потенциально опасным для здоровья десны и может привести к патологическому состоянию в последующими над- и поддесневого зубного отложения [22].

Патогенные микроорганизмы зубного налетообразования чаще всего рассматриваются в качестве одной из главных причин заболевания периодонтита [22].

Кариес – разрушение твердых тканей зуба, которое вызвано бактериями, разрушающими эмаль и дентин. Кариес чаще всего поражает зубы в местах, где скапливается зубной налет: в углублениях (ямках) на

жевательной поверхности зубов; на боковых поверхностях зубов, соприкасающихся друг с другом; в области перехода зуба в десну [30]. В нем присутствует несколько стадий развития: образование кариозной полости; либо остановление развития деминерализации; либо ее выздоровление (реминерализация). Начальный кариес сопровождается кариесогенной ситуацией - это состояние при котором полость рта нарушается гомеостаз из-за бактериальной кислородной продукции, недостаточной гигиены полости рта, развитие кариесогенной микрофлоры и зубного налета, пониженного резистентности зубных тканей, ведущие к кариесу.

Для возникновения кариеса нужен этиологический фактор он же, кариесогенная микрофлора. Без нее не возможно возникновения кариеса. При таком факторе может возникнуть кариес только из-за условий (зубная бляшка и прием легкометаболизируемых углеводов). Даже при этих условиях может и не образоваться кариес, так же влияют сдвиг процессов минерализации в полости рта.

Основным источником возникновения кариеса является микроорганизм *Str. mutans*. Свойства этого микроорганизма: неприхотливый к питанию, приспособленность к микрофлоре полости рта – позволили хорошо адаптироваться и стать основным микроорганизмом возникновения кариеса зубов. Его кариесогенность на образование происходит путем колонизации в полости в форме зубной бляшки. Их форма является целесообразна с позиции жизнедеятельности, так как колония легче производит размножение микроорганизмов в микрофлоре, защищая их от вредных воздействий [23].

1.4. Микроорганизмы, содержащиеся в полости рта и зубном камне

В полости рта и на зубах находятся огромное количество микроорганизмов в микрофлоре. Многие из них являются возбудителями

заболеваний полости, поражением десны и так же эмали зубов. Микрофлора рта, тесно связана со всеми частями механизмов рта.

Микроорганизмы, обитающие в ротовой полости человека, представляют обширную экосистему [70]. Для исследования многих микроорганизмов и для определения их вида была создана определенная система Human Oral Microbiome Database (HOMD), содержащая в себе сведения о населяющих микроорганизмов в полости человека. В которые входят микроорганизмы как безвредные, так и патогенные, вызывающие различные заболевания. На данный момент, благодаря, HOMD было выявлено около 16 наименований различных микроорганизмов: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chlamydiae*, *Chlorobi*, *Chloroflexi*, *Euryarchaeota*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Gracilibacteria*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, *SR1*, *Synergistetes*, *Tenericutes*, *TM7* и *WPS-2* [50].

Микроорганизмы которые влияют на образование камня не слишком отличаются от микроорганизмов, которые находятся в полости рта. Такое отличие происходит из-за разных видов зубных камней.

В наддесневом камне различают такие микроорганизмы грамположительные: *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Lactobacilli*, *Actinomyces odontolyticus*, *Actinomyces naeslundii*, *Veillonella parvula*, *Fusobacterium nucleatum*.

В поддесневом камне могут различать грамотрицательные микроорганизмы: *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Campylobacter spp.*, *Capnocytophaga spp.*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* [37].

Большинство из представленных микроорганизмов, которые находятся в ротовой полости, являются временными обитателями. Они не способны к длительному выживанию в полости рта из-за специфических условий среды [41].

Даже с большим разнообразием в составе микрофлоры у людей, выделяют около 50-200 видов микроорганизмов, которые относятся в 15 родам и встречаются у людей. Выделяют микробы, которые колонизируются на поверхности зубов (над десной), *Actinomyces*, *Campylobacter*, *Capnocytophaga*, *Corynebacterium*, *Fusobacterium*, *Granulicatella*, *Neisseria*, *Prevotella*, *Streptococcus* и *Veillonella*. Также анаэробные протеолитические бактерии, находящиеся ниже десны, *Filifactor*, *Fusobacterium*, *Parvimonas*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella*, и *Treponema* [54].

Части ротовой полости, включающие в себя ткани и органы, – зубы, десны, слизистые щек – являются уникальной экологической нишей для бактерий. Микрофлора для каждой бактерии отличается, специфичным условием среды и поверхности [61,52].

1.5. Колонизаторы в полости рта как источник микроорганизмов

На биопленку в ротовой полости человека участвующие в узнавании рецептором пелликула (тонкая пленка, состоящая из химических соединений, на поверхности зубов, появляющиеся после чистки) являются бактерии колонизаторы. И каждый тип рецептора является специфичным для микроорганизмов в ротовой полости. Рецепторы у первичного зубного пелликула включают в себя муцин, антиглюцин и протеины с высоким содержанием пролина, альфа-милаза. Многие рецепторы отвечают за специфичность бактерий в ротовой полости [65, 56,58].

«Такие как стрептококки составляют около 60-90% бактерий, находящиеся в ротовой полости. Остальные колонизаторы :*Actinomyces spp.*, *Capnocytophaga spp.*, *Eikenella spp.*, *Haemophilus spp.*, *Prevotella spp.*, *Propionibacterium spp.* и *Veillonella spp.*» [59]. Стрептококки особенно, *S. gordonii*, являются одним из идеальных моделей для изучения моделей процесса колонизаций, благодаря способности связываться с рецепторами хозяина. Также стрептококки являются бактериями, которые демонстрируют

внутривидовую и межродовую коагрегацию. Из всех качеств стрептококков можно предположить, что они могут активно участвовать в процессе постоения зубной бляшки с помощью адгезии из клеток хозяина и связывать их [59].

Колонизаторы бывают первичные и вторичные. К вторичным относят бактерии *Fusobacterium nucleatum*, которые являются промежуточком от первичных бактерий и вторичных. *F. Nucleatum* принадлежит к грамотрицательной бактерии в ротовой полости у здорового человека, а количество может возрасти в случае заболевания пародонтом.

Бактерии которые относятся к первичным колонизаторам, могут коагезироваться с некоторыми видами других колонизаторов и они не способны присоединять вторичные колонизаторы . *Fusobacterium nucleatum* бактерии имеющие своеобразную связь в процессе образование биопленки , из-за того что бактерия может коагезироваться с первичными так и с вторичными колонизаторами. При нарастании биопленки, происходит увеличение компонентов матрикса. В этот период происходит присоединение компонентов вторичных колонизаторов, которые пользуются образовавшей биопленкой и ее микросредой [59,57]

1.5.1. Кворум сенсинг. Коммуникация микроорганизмов

Кворум сенсинг - это механизм общения бактерий друг с другом. Выделенные специальные сигнальные молекулы, называются аутоиндукторами. Концентрация молекул может доходить до определенного уровня и бактерии способны выключать или включать определенные гены [62].

Кворум сенсинг был описан впервые в регуляции биолюминисценции у *Vibrio fischeri* и *Vibrio harveyi*. После чего стал объектом исследований [66].

Кворум сенсинг механизм, который помогает микроорганизмам общаться друг с другом и повышает их выживаемость в неблагоприятных

условиях. Чувство кворум бактерии используют в разнообразных спектрах своей физиологической активности, например, симбиоз и образование спор, и формирование биопленки [62].

Существует несколько систем кворум сенсинга. «Система LuxR/I-типа используют грамотрицательные бактерии, где сигнальные системы представляют собой ацилированные гомосердегидрогеназы (Acyl Homoserine Lactones, AHLs), состоят из гомосерин-лактонного кольца и ацил-цепи. Сигнальная пептидная система LuxS / AI-2 используется грамположительными бактериями».

«Аутоиндуктор-2 служит в качестве (универсального сигнала) для межвидовой коммуникации и синтезируется LuxS-AI синтазами. Система Аутоиндуктор-3 активирует транскрипцию генов вирулентности энтерогеморрагической *E.coli*. У AI-3 обнаружен у комменсальной кишечной формы (*E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*), а также у патогенных *Shigella spp.* и *Salmonella spp.*» [66].

Исследования показывают, что аутоиндукторы способны устанавливать связь не только у одного вида, но и между межвидовыми бактериями. Химические сигнальные молекулы разные по природе, но они способны взаимодействовать с видами разных бактерий и координировать экспрессию генов, создавая сложные взаимодействия между ними [66].

1.6. Транспортные системы в ротовой полости

«В полости бактерии используют несколько транспортных систем: фосфоенолпируват-зависимую систему (PEP-PTS) и протеин-зависимую транспортную систему (BPTS). В PEP-PTS сахара фосфорилируются в участие метаболизма - гликолиза» [68].

С пищей, бактерии могут ферментировать углеводы; в результате метаболизма формируются анаэробные условия, образуя лактат и

ацетат. В таких условиях формируются сахоролитические бактерии: *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Actinomyces* [69].

В поступление бактерий рода *Streptococcus* происходит повышение уровня фруктозо-1,6-бисфосфата вследствие чего происходит активация лактатдегидрогеназы, отвечающая за лактат. В других случаях повышения метаболизма, например, глицеральдегид-3-фосфата, подавляется активность С-ацетилтрансферазы, ответственной за этанол в анаэробных условиях. Результатом такого снижения данных метаболизм является инактивация лактатдегидрогеназы и активации С-ацетилтрансферазы. Этот тип метаболизма характерен для бактерий, которые обитают в поддесневых зубных бляшках.

«Кислород в анаэробных условиях деактивирует С-ацетилтрансферазу, где происходит превращение пирувата в ацетат в присутствии пируватдегидрогеназы (*S. mutans*, *Actinomyces*) и пируватоксидазы (*S. sanguinis*, *Lactobacillus*)» [69].

1.7. Удаление зубного камня, профилактика

Из-за сильных осложнений возникающие при зубном камне таких как: кариес, рецессия десны и пародонтит. На ранних стадиях налётообразования, биохимические процессы, способствуют деминерализации, в результате чего образовавшийся зубной камень, развивает хронические заболевания и пародонтит. Очень важно вовремя провести удаление зубного камня, для здоровья человека. Зубной камень удаляют в стоматологических клиниках.

Стоматологи на данный момент имеют большой ассортимент инструментов по удалению и средств. Такие средства представляют в виде гелей, паст и суспензий. Действие абразивной пасты, обладает физическим действием, в простых случаях. Иное дело при удалении прочно закрепившегося камня на пародонте конгломератов зубных отложений, на подвижных зубах, поражённых пародонтитом. Действие жидкости для

зубных отложений может являться постепенным, только окрашивая участки чтобы врач мог сделать и вылечить пациента. Скалинг-гель, размягчает и растворяет отложения, содержащиеся красители позволяют обнаружить инфицированную ткань. Белгель Р, позволяет меньше травмировать слизистую и твердые ткани зуба. Полидент 1, характеризует химические и механические воздействия на твердые зубные отложения. ПолирПаст снимает мелкий зубной камень и полирует ткани зуба, не повреждая. Mira ZR абразивная паста удаляет мелкий зубной налет, твердые отложения. Суспензия эффективно очищает зуб, бережно и безопасно удаляет зубной и поддесневой налет, вымывает из десневых карманов бактерии [7,20].

В применении химического метода очистки много преимуществ. Такие как процедура безболезненна, не продолжительная по времени, кислоты отбеливают эмаль на 2 тона, стоматологическая стоимость довольно низкая. Недостатки по химическому методу удаления зубного камня заключается в агрессивном действии кислот на зубную эмаль. Удаление зубного камня может повредить эмаль зубов, так как процесс вымывает ионы фтора, которые защищают эмаль. В результате эмаль становится более пористой и чувствительной. Поэтому при химической очистке важно соблюдать осторожность и следовать рекомендациям, чтобы не повредить эмаль [7].

Для поддержания и гигиены после удаления зубного камня следует выполнять профилактику. Чтобы сохранить здоровье зубов и десен, необходима комплексная гигиена, включающая как ежедневный домашний уход, так и профессиональные процедуры. Правильная гигиена полости рта является основой для предотвращения стоматологических заболеваний. Она включает в себя регулярное удаление зубного налета и остатков пищи с зубов и десен.

Профессиональная гигиена полости рта - это комплексная процедура, которую проводит стоматолог. В процессе происходит несколько процедур включающие в себя: профессиональную чистку зубов (удаление зубного налета и камня специализированными инструментами.), контроль

индивидуальной гигиены (оценка состояния полости рта, инструкции по правильной чистке зубов и выбору средств гигиены, мотивация к регулярной профилактике). Применение минерализирующих средств, которые укрепляют зубную эмаль. Средства для снижения чувствительности зубов, уменьшающие дискомфорт чувствительности зубов. Герметизация фиссур, запечатывание жевательных поверхностей зубов для защиты от кариеса.

Эффективность гигиены зависит от используемых средств, для индивидуальной профилактики используются: Зубные пасты, гели и порошки, - помогают очищать зубы и удалять налет. Зубные щетки - обеспечивают механическое очищение зубов и десен. Выбор средств и техники чистки играет важную роль в поддержании здоровья полости рта. Кроме щеток используют нити. Специальные нити для чистки зубов, состоящие из синтетических волокон или пены, предназначенные для удаления налета с конкретных поверхностей зубов. Ирригаторы и межзубные стимуляторы являются дополнительным уходом за полостью рта.

Ирригаторы (массажеры) – это устройства, которые используют струю воды для удаления остатков пищи и массажа десен. Они особенно полезны для профилактики заболеваний пародонта, особенно у людей с повышенным риском. Рекомендовано использовать ирригатор 2-3 раза в день по 5-7 минут после чистки зубов.

Межзубные стимуляторы – это специальные щетки с конусообразным выступом, предназначенные для очистки межзубных промежутков и массажа десен. Они изготавливаются из резины или пластмассы и доступны в различных формах.

Использование ирригаторов и межзубных стимуляторов в дополнение к обычной чистке зубов позволяет достичь более глубокой очистки и способствует здоровью десен.

Профилактика направлена на предотвращений, возникновения и осложнения заболеваний и развитие. Причины устранения и условия вызывают укрепление организма на противостояние неблагоприятным

факторам. Индивидуальная направлена на цель укрепления здоровья, достигая повышенную осведомленность о важности гигиенических процедур для зубов, расширение знаний о здоровье своих зубов [30].

1.8. Оксидативные процессы и окислительный стресс

Радикальная часть перекиси водорода (H_2O_2), оксида кислорода ($\text{O}_2^{\bullet-}$), гидроксильные радикалы ($\text{OH}^\bullet$) и синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$) определяются как формы кислорода (АФК). Генерируются они как побочные продукты метаболизма в биологической системе [9]. Связываясь вместе, они оказывают негативное действие на структуру клетки, при увеличении АТФ, образуются липиды белки и нуклеиновые кислоты. Доказательства формируются на том, что окислительный стресс может быть ответственным в разной степени в возникновении или патогенности разных заболеваниях (Сердечно сосудистые, диабет и рак) [8,4,28].

При свободных радикалах образование их происходит из экзогенных и при эндогенных факторов. Физические нагрузки, воспаление, стресс, старение – они все являются эндогенными факторами воспроизводства свободных радикалов. Экзогенные же образуются из радикалов, которые воспроизводятся в результате загрязнения среды, металлов ($\text{Hg}, \text{Cd}, \text{Fe}, \text{As}$) и лекарственных препаратов (циклоспорин, блеомицин), также входят химические растворители [34;31]. В основном производство АФК зависит от ферментативных и неферментативных реакциях. Ферментативные реакции могут генерировать АФК и связывать их с дыхательной цепью с помощью системы цитохрома P450 и фагоцитозов. Оксидный радикал ($\text{O}_2^{\bullet-}$) формируется с помощью НАДФ-оксидазой, и ксантинооксидазой, пероксидазой. После формирования он фигурирует в реакциях, которые могут образовывать перекись водорода и радикала гипоксида ($\text{OH}^\bullet$) и несколько других. Радикал гидроксида ($\text{OH}^\bullet$) наиболее способный к реакциям из всех радикалов *in vivo*, образовываясь, реакция $\text{O}_2^{\bullet-}$ с H_2O_2 , где катализаторами являются двух валентное железо и медь [47].

В неферментативных реакциях так же происходит образование свободных радикалов, где кислород вступает в реакцию с органическими веществами или на клетки воздействуют ионизирующие лучи. Образование свободных радикалов кроме излучений может происходить при помощи митохондриального дыхания [44].

Избыток свободных радикалов и окислителей приводит к окислительному стрессу, который разрушает клеточные структуры, такие как клеточные мембраны, липиды, белки и ДНК. Окислительный стресс может возникать, при балансе между свободными радикалами и клеток способных к очистке. К примеру, в избытке радикала гидроксида и пероксинита возникает окисление липидов, приводя к повреждению клеточной мембраны и липопротеинов. После происходит образование малонового диальдегида (МДА) и диеновых соединений, которые имеют цитотоксическими и мутагенными свойствами. Такая цепная реакция, в результате чего перекисное окисление очень быстро распространяется, захватывая огромное количество липидных молекул. Кроме липидов белки тоже могут подвергаться окислительному стрессу, где сталкиваются с нарушением их ферментации.

ДНК под давлением окислительного стресса образует 8-оксо-2-дезоксигуанозина (8-OHdG), это негативное повреждение ДНК, при котором ответственен мутагенез. При вмешательстве в ДНК происходит потеря эпигенетической информации, из-за нарушения активации моделирования в промоторах генов. Клетки могут взаимодействовать с разными механизмами: репарация эксцизией оснований (BER), антиоксидантами в качестве защитного ответа [14]. Против окислительного стресса, основанного на ферментативных и неферментативных антиоксидантных молекул, организмы применяют стратегии на воздействие свободных радикалов в них. Существует так же молекула эндогенных антиоксидантов животного и растительного состава, введенных с пищей и добавками [16,17,36,39,45].

Свободные кислородные радикалы находят в аэробных организма в физиологическом и патологическом процессе [39].

1.9. Регистрация хемилюминесценции как метод исследования оксидативных процессов

С помощью разных механизмов может, происходить изучение света в материи, происходя в результате, образуется электронно-возбуждённого состояния частиц в реакции – это и называется хемилюминесценцией (ХЛ). Хемилюминесценция – это излучение света из-за электронно-возбужденного состояния частиц, которое возникает в результате реакции. Использование хемилюминесценции (биолуминесценция) в живых организмах такие как: медузы, черви, грибы,- используют для из защиты. В биологической системе хемилюминесценции возникновение ее возникает из химических реакций с ферментами. В реакции присутствует химическая активация молекул посредством окисления, после чего образуется промежуточный продукт, который высвобождает энергию при излучении света, либо его передачи, средством хемилюминесценции в флуорофору, где часть энергии высвобождается и излучает свет [43].

Молекулы при которых способны излучать свет путем хемилюминесценции является люминол и люцеферин, наиболее изученные люминогенов веществ, которые чувствительны к окислению перекиси водорода (H_2O_2) и радикалом оксида (O_2^{*-}). Свет излучения свидетельствует результатом изменения в структуре, где могут образоваться промежуточные продукты. В других условиях синглетный кислород также может происходить в большом количества в виде промежуточного продукта посредством прямого излучения хемилюменисценции. Синглетный кислород при излучении может излучать инфракрасный свет с длиной 1270 нм, если он не был виден, образуя продукты окисления. Оксалатные эфиры и производные 1,2-диокситана приемлемы эффективными предшественниками

для прямой так и непрямой хемилюминесценции, образуя настраиваемые излучения вследствие различных фотосинтезирующих свойств флуорофора-акцептора, со спектром излучения в диагностике и зондировании, в молекулярной визуализации.

В непрямой хемилюминесценции возникает передача энергии, приводя в возбуждение фотосенсибилизатора. Находясь в присутствии кислорода фотосенсибилизатора, активируются некоторые формы кислорода (O_2 - и гидроксильный радикал). Такие виды кислорода обладают обширным действием спектром на реактивности с биомолекулами, используемые в фотодинамической терапии (ФДТ).

В огромном количестве исследований хемилюминесценций показывают свечение одноцветной смеси света, так как это ограничивает их применение. В других исследованиях хорошо подходит многоцветная хемилюминесценция (для водных растворах, биологических моделях). Хемилюминесценция – в науке является одним инструментом в аналитической химии, используемый для количественного определения активных форм кислорода и азота, ДНК, РНК, белков, клеток и др.

Кроме того, альтернативное использование фоторасщепления используется хемилюминесценция в технологии лекарств. В биологических системах возникают множество вопросов таких как: проникновение света в ткани, используемого для испускаемых фотонов; свет рассеивается или поглощается биомолекулами; интенсивность света, вызываемое слабое взаимодействие между фоном и молекулой. Научное общество все больше привлекает хемилюминесценция как решение проблем в фотохимических структурах. В данный момент в научных статьях осуждается метод хемилюминесценции, ссылаясь на хемилюминесцентные молекулы (дюминол, ципридин, перексолаты) используемые в сенсорах [5, 3]

В обширном кругу люминесценции один является наиболее распространенным в использовании – фотолюминесценция (ФЛ), хемилюминесценция (ХЛ), биолюминесценция (БЛ),

электрохемилюминисценция (ЭХЛ). ФЛ фотоны являются силой энергии света, поглощая фотон определенной молекулы происходит фотовозбуждение. В различных путях рассеивания энергии может происходить с помощью фосфоресценции ($T_1 \rightarrow S_0$) или флуоресценции ($S_1 \rightarrow S_0$).

Электрохемилюминисценция (ЭХЛ) – воспроизведение света частицами в возбужденном состоянии, в реакции переноса электронов на поверхности. В данное время можно найти достаточно научной литературы по электрогенерируемой КЛ, где излагают основы и механизмы.

Биолюминесценция (БЛ) – приходится одной из естественной ХЛ, где свет испускают живые организмы. Отличия молекул люминофоров также ферментов в том, что они участвуют в более 30 биолюминисцентных системах [21].

Хемилюминесценция (ХЛ) – испускание света, с реакцией свободных радикалов [18]. Она основана на окислении люминола (LH2), одна из наиболее изученных известных систем хемилюминесценции. В щелочном растворе обычно происходит окисление с окислителем (перекись водорода, гипохлорит, перманганат йод). Для системы ХЛ наиболее эффективной системой является люминол- H_2O_2 . Люминол применяется в медицине для аналитических целей, например, судебная медицина (определение следовых количеств крови) [13,42,15]. В следствии окисление люминол через обратный путь регистрируется синие сильное излучение с альфа максимальной 425 нм, длительность происходит от секунды до нескольких часов, завися от реагирующих частиц, добавок и подпитки. Излучение люминола способствовать могут катализаторы (пероксидаза и гем) как дополнительные добавки. К примеру, пероксидаза хрена (HRP) может участвовать в образовании радикала люминола с двумя молекулами аниола люминола. Люминол в водных растворах H_2O_2 действует как окислитель в ХЛ. Кроме этого люминол может каталитически окисляться озоном или гипохлоритами с различными ионами металлов. В апроторных растворителях (ДМСО) ХЛ

зависит от pH (требуемые основные условия) и O_2 . ХЛ люминола может повышаться в присутствии гидроксированных (DVB) на основе персульфата.

1.9.1. Плюсы и минусы хемилюминесценций

К плюсам процесса регистрации хемилюминесценции можно отнести:

1. Высокую чувствительность, хемилюминесценция обладает высокой чувствительностью, позволяя обнаруживать очень низкие концентрации. Это особенно важно в области медицины, где используются методы для диагностики заболеваний на ранней стадии.

2. Низкая стоимость, в сравнении с другими методами визуализации, такими как флуоресценция, хемилюминесценция требует меньше оборудования и расходных материалов, что делает ее более доступной по стоимости.

3. Простота в использовании, процедура хемилюминесценции относительно проста и не требует сложной аппаратуры.

4. Широкий спектр применения, метод нашел применение в различных сферах. Медицина (диагностика заболеваний, анализ крови, иммуноанализ). Биология (изучение клеток, исследования ДНК и РНК). Криминалистика (обнаружение следов крови, отпечатков пальцев). Промышленность (контроль качества, анализ пищевых продуктов).

5. Безопасность, хемилюминесценция не является радиоактивным методом и не использует лазеры, что делает ее более безопасной для пациентов и исследователей.

К минусам можно отнести следующие факторы:

1. Слабое излучение, сила излучения при хемилюминесценции, как правило, слабее, чем при флуоресценции. Это может затруднять обнаружение и анализ сигнала.

2. Кратковременность, свет, излучаемый в результате хемилюминесценции, является кратковременным, что может ограничивать время для проведения измерений.
3. Ограниченная точность, измерения хемилюминесценции могут быть менее точными, чем при других методах, особенно при анализе сложных образцов.
4. Проблемы с помехами, хемилюминесценция может быть чувствительна к внешним факторам, таким как температура, влажность и наличие фонового света.
5. Дороговизна реагентов.

1.10. Культивирование

Многие микроорганизмы нуждаются в большом количестве элементов для своего выживания, роста (культивирования). При культивировании бактерий можно определить систематическое увеличение компонентов. Заметное увеличение не всегда отражает рост микроорганизмов, так как бактерии могут накапливать массу и без увеличения числа клеток. «Сбалансированный рост» приводит к упорядоченному росту микроорганизмов. Если в образце содержание микроорганизмов небольшое, то посев проводят на жидкие для них среды. Для выращивания микроорганизмов существует достаточное количество сред. Некоторые среды считаются универсальными и поддерживают рост многих организмов. К универсальной среде можно отнести мясо-пептонный бульон (МПБ). В идентификации бактерий спросом пользуются среды в состав которых входит индикаторы или антибиотики. Добавления в питательную среду содержат факторы роста, витамины и другие вещества позволяющие стимулировать микроорганизмы [2].

Селективные среды могут использоваться для выращивания определенных видов микроорганизмов, которые препятствуют росту с другими микроорганизмами. Ярким примером такой можно отнести среду

Мюллера, Сабуро. Некоторые культуры способствуют росту необходимых микроорганизмов. Например, для того чтобы выделить устойчивые к антибиотикам микроорганизмы из смешанной культуры, необходимо добавить антибиотик в среду, для предотвращения роста неустойчивых бактерий.

Элективные среды пользуются преимуществом развития одной или нескольких групп микроорганизмов. Применяется на первом этапе выделения чистой культуры микроорганизмов, получения накопительной среды. Один из примеров преимущества среды можно заметить в выделение граммотрицательных, добавлением в питательную среду трифенилметановых красителей. Элективную среду делят еще на дифференциально-диагностическую.

Дифференциально-диагностическая среда пользуется для быстрого метода идентификации близких видов микроорганизмов, для определения их принадлежности. Состав среды основан на различии между собой биохимического состава активности. В их состав входит:

1. Базовая питательная среда, обеспечивающая рост и размножение бактерий.
2. Специальный химический субстрат, в котором реакция микроорганизма на этот субстрат является диагностическим признаком, позволяющим его идентифицировать.
3. Цветной индикатор, его изменение цвета свидетельствует о протекании биохимической реакции и наличии определенной ферментной системы у исследуемого микроорганизма.

К таким дифференциально-диагностическим средам относят: среду Эндо (позволяет отличать клоны клеток, имеет отличительный окрас, индикатор в составе), среда Левина (содержится индикатор эозин, окрашивает колонии в синюю с металлическим блеском цвет).

Существуют жидкие питательные среды, полученные при растворении питательных веществ. Рост микроорганизмов происходит с периодичностью.

Такие среды используют для выделения физико-биохимических особенностей микроорганизма [27].

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объекты исследования

Клинический материал для исследования – зубные камни, полученные при удалении в возрастной группе лиц от 35 до 60, предоставленного Клиникой ФГБОУ ВО БГМУ МИНЗДРАВА РОССИИ города Уфа.

Транспортировка образцов клинического материала зубного камня производилась в специализированной тиогликолевой среде (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) в течение двух часов. Бактериальный состав микрофлоры зубных камней определяли микробиологическими методами исследования. Раздробленные в ступках при стерильных условиях камни. Культивирование осуществлялось в течение суток при 37⁰С в эппендорфе 1,5 мл. в термошейкере (рисунок 1).



Рисунок 1– Термошейкер

2.2. Модельные системы для оценки антиоксидантной активности

Модельная система генерации активных форм кислорода

В качестве модели, в которой оценивалась антиокислительная активность сред культивирования выступал фосфатный буфер (KH_2PO_4 - 20 мМ, KCl - 105 мМ, рН 7,45 ед.), с добавлением цитрата натрия (50 мМ). Инициация цепных реакций образования свободных радикалов, в первую очередь активных форм кислорода проводилось введением раствора сернокислого железа ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 50 мМ).

2.3. Методы исследования

1. Метод культивирования – это один из сложным процессов, которые требуют техники и понимания процесса. Метод является важным аспектом для получения ценных материалов для исследования и изучения микроорганизмов. Для культивирования важен посев. Посев это процесс при котором происходит внесение микроорганизмов на питательную среду, применяемый для морфологической диагностики и исследовании биологических и биохимических свойств. Условия культивирования включают в себя температуру, время, рН, влажность. В основные этапы посева включается: подготовка питательных сред (агар, бульон), стерилизация (инструменты для посева, среды), инкубация (помещение препаратов в термостат), наблюдение.

1.1 Культивирование зубного камня происходит на твердые питательных средах, всего используется 7 сред. Это среды: Сабуро (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия), ЖСА (HIMEDIA, Индия), Кровяной аэробный (НИЦФ, Россия), Кровяной анаэробный (НИЦФ, Россия), Эндо анаэробный (Микроген, Россия), Бруцел анаэробный, МРС анаэробный (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия). Все перечисленные среды используются при первичном посеве. Анаэробы выдерживают в термостате около 4 чутков. Аэробы

выдерживают сутки. После первичного посева, происходит пересев выросших колоний до чистой культуры. Пересев культуры происходит на те же среды, которые использовались в первичном посеве. С выделенной чистой культуры можно проводить определение микроорганизмов с помощью масс спектрометра. Масс спектрометр это аналитический прибор, который используется в проведении идентификации бактерий и микроорганизмов до их видов.

Сабуро – это специальная питательная среда, используемая для выращивания различных видов грибов, включая дерматофиты, дрожжи, плесневые грибы и др. Рост происходит в течение 7 суток.

Кровяная питательная среда – это среда, предназначенная для выделения и культивирования прихотливых микроорганизмов. Рост происходит в течение 4 суток у анаэробной кровяной среде, сутки у аэробной.

Желточно-солевой агар (ЖСА) – это питательная среда, применяемая для выделения стафилококков. Рост происходит в течение 4 суток.

Эндо – это питательная среда, используемая для выделения и идентификации энтеробактерий, особенно *Escherichia coli*. Рост происходит в течение 7 суток.

МРС – питательная среда, разработанная для стимулирования обильного роста лактобацилл.

Для приготовления транспортной тиогликолевой среды используют 15,5 г препарата, растворяют в 500 мл дистиллированной воды. Полученный раствор кипятят в течение 2 минут, после чего фильтруют через бумажный фильтр. Затем раствор разливают по стерильным емкостям и стерилизуют в автоклаве при температуре 121°C в течение 15 минут. Готовая среда должна иметь $\text{pH } 7,0 \pm 0,2$.

Автоклав - это герметичный сосуд, используемый для стерилизации материалов, главным образом с помощью пара под давлением (рисунок 2).

Принцип работы автоклава:

1. Автоклав использует водную среду для повышения температуры и давления.
2. Сначала в рабочей камере создаётся вакуум с периодическим нагревом, что позволяет фракционировать продукт.
3. Затем водяной пар подаётся в камеру, повышая давление и температуру до заданных параметров.
4. В этот момент начинается стерилизация. Повышенное давление компенсирует расширение продукта при нагреве, ускоряя реакции и увеличивая выход.
5. После стерилизации давление сбрасывается, и начинается вакуумная пульсирующая сушка.
6. Высокая температура и отрицательное давление способствуют быстрому испарению оставшейся влаги.



Рисунок 2– Автоклав

2. Регистрация хемилюминесценции – чувствительный метод, позволяющий оценивать окисдательные процессы в различных субстратах, в том числе и в средах культивирования. Принцип измерения основан на

детекции квантов света, выделяемых при взаимодействии чрезвычайно активных агентов – свободных радикалов. Исследуемые объекты помещаются в кюветы, представляющие собой стеклянные колбы с плоским дном. Для проведения ХЛ необходимо обеспечить полную светоизоляцию образца. В качестве детектора светового потока используется фотоэлектронный умножитель (ФЭУ), электронно-оптическое устройство, регистрирующее световой поток. ФЭУ располагается под кюветой, между ними находится затвор, который открывается только при закрытой крышке. Несоблюдение порядка проведения исследования может привести к засветке ФЭУ. Для усиления эффекта ХЛ используют усилители, которые могут быть биологическими, например, триггеры – агенты, запускающие естественный процесс биолюминесценции. Добавление люминофоров позволяет усилить выделяемые кванты света. В качестве люминофора был использован люминол - люминофор (5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазиндион).

Регистрация ХЛ проводилась на приборе Хемилюминомер-003 (рисунок 3).



Рисунок 3– Промышленный Хемилюминометр ХЛ-003

Измерение образцов описывалось в параметрах кинетики ХЛ. Измерение проводилось 3-5 минуты (рисунок 4).

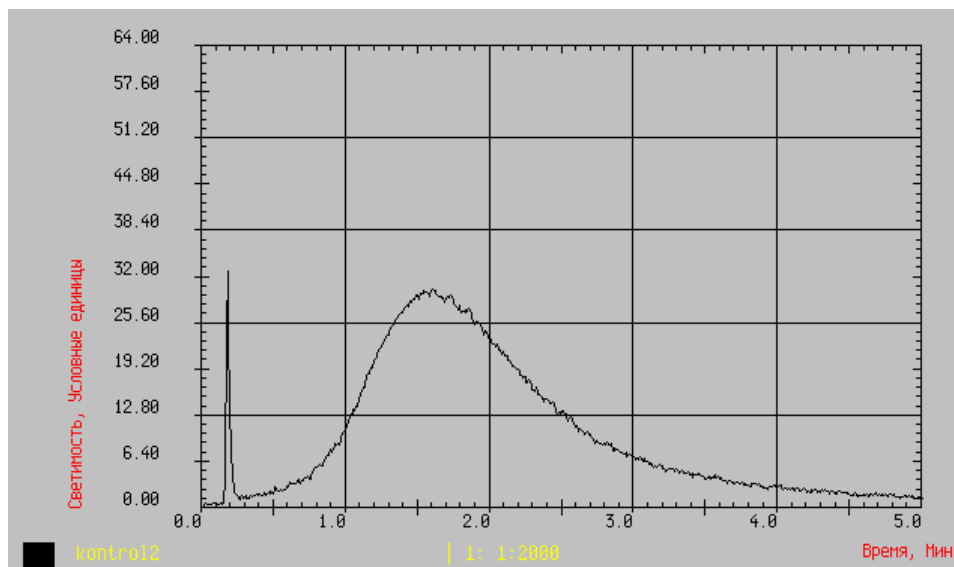


Рисунок 4 – Типичная запись ХЛ модельной системой активных форм кислорода

При оценке результатов анализировались основные параметры ХЛ: светосумма свечения (S) и амплитуда медленной вспышки (I).

Методы обработки данных

Статистическую обработку результатов проводили используя пакет программ «StatisticaforWindows». Параметры ХЛ выражали в условных единицах (одна условная единица - $5,1 \times 10^5$ квант/с). Для сравнения образцов сред с образцами контроля и между собой применяли критерий Манна-Уитни.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Оксидативные процессы в зубных камнях при наличии в бактериальном составе микробиома ротовой полости *Staphylococcus* и *Enterococcus*

Образцы материала зубного камня, после соответствующей подготовки добавлялись в модельную систему, в которой инициировались оксидативные процессы, а именно была использована модельная система, в которой происходило образование активных форм кислорода (АФК). Активные формы кислорода - это молекулы кислорода, содержащие более одного электрона в валентной оболочке. Такие молекулы, например, перекись водорода (H_2O_2), супероксидный радикал ($O_2^{\bullet-}$), гидроксильный радикал ($OH^{\bullet}$) и другие, обладают высокой реакционной способностью и могут вызывать окислительный стресс в организме, повреждая клетки и ткани. Некоторые активные формы кислорода участвуют в регуляции клеточных процессов и имеют важную роль в метаболизме.

Добавление образцов зубного камня от пациентов, в микробиоме ротовой полости у которых присутствовали роды *Staphylococcus* и *Enterococcus* в модельную систему приводило к снижению параметров по сравнению с контрольным значением (таблица 1), (рисунок 5).

Таблица 1 - Оксидативные процессы в зубных камнях при наличии в бактериальном составе микробиома ротовой полости *Staphylococcus* и *Enterococcus*

Показатель (Me (IQR))	Светосумма (S)	Амплитуда медленной вспышки (I)
Контроль	19,62 (18,65-20,59)	10,90 (9,89 - 10,92)
Зубной камень	13,71 (13,19-14,23)*	9,17 (9-9,35)*

*Различия статистически значимы по сравнению с контролем

Из таблицы хорошо отображаются изменения как светосуммы (S) так и амплитуды медленной вспышки (I), что отражает изменения оксидативных процессов генерации АФК в модельной системе. Низкое значение светимости при наличии бактерий *Staphylococcus* и *Enterococcus* может быть обусловлено их влиянием на оксидативные процессы в полости рта. Данные бактерии производят каталазу или другие антиоксидантные ферменты, которые защищают бактериальную клетку от свободных радикалов, нейтрализуют действие перекиси водорода.

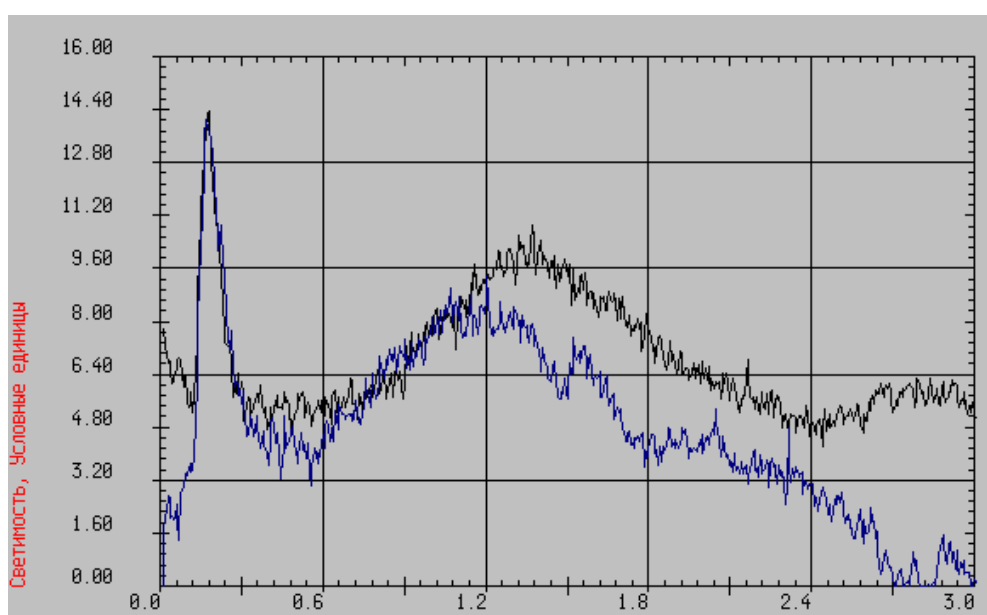


Рисунок 5 – Запись хемилюминесценции модельной системы, генерации активных форм кислорода низкого уровня при добавлении образцов зубного камня при наличии *Staphylococcus* и *Enterococcus*. Черная кривая – контроль, Синяя – добавлен зубной камень

Стафилококки продуцируют каталазу (каталазоположительные), что отличает их от стрептококков и, которые являются каталазоотрицательными бактериями. Каталаза разрушает перекись водорода, в результате чего стафилококки защищены от высокотоксичных производных кислорода. Поэтому низкие значения светимости. Энтерококки не имеют каталазу,

однако, имеют фермент защищающий их от оксидативных процессов – марганецсодержащую супероксиддисмутазу (MnSOD) (*Enterococcus faecalis*).

Таким образом, выявленные закономерности при наличии микробиома данного типа отражают условия для образования зубного камня через подавление оксидативных процессов.

3.2 Оксидативные процессы в зубных камнях при наличии в бактериальном составе микробиома ротовой полости *Streptococcus koreensis* и *Arthrobacter sulfonivorans*

Наряду с образцами зубного камня, которые снижали оксидативные процессы были выявлены и образцы, которые наоборот усиливали оксидативные процессы. Это наблюдалась при присутствии в микробоме *Streptococcus koreensis* и *Arthrobacter sulfonivorans*. Результаты приведены в таблице 2, рисунок 6.

Таблица 2. Оксидативные процессы в зубных камнях при наличии в бактериальном составе микробиома ротовой полости *Streptococcus koreensis* и *Arthrobacter sulfonivorans*

Показатель (Me (IQR))	Светосумма (S)	Амплитуда медленной вспышки (I)
Контроль	19,62 (18,65-20,59)	10,90 (9,89 - 10,92)
Зубной камень	26,43 (24,06-28,79)*	15,35 (15,05-15,65)*

*Различия статистически значимы по сравнению с контролем,

Из данных таблицы следует, что исследуемые образцы усиливали параметры хемилюминесценции, а, следовательно, интенсифицировали оксидативные процессы в модельной системе. Изменялся как параметр светосуммы (S), так и параметр амплитуды медленной вспышки (I).

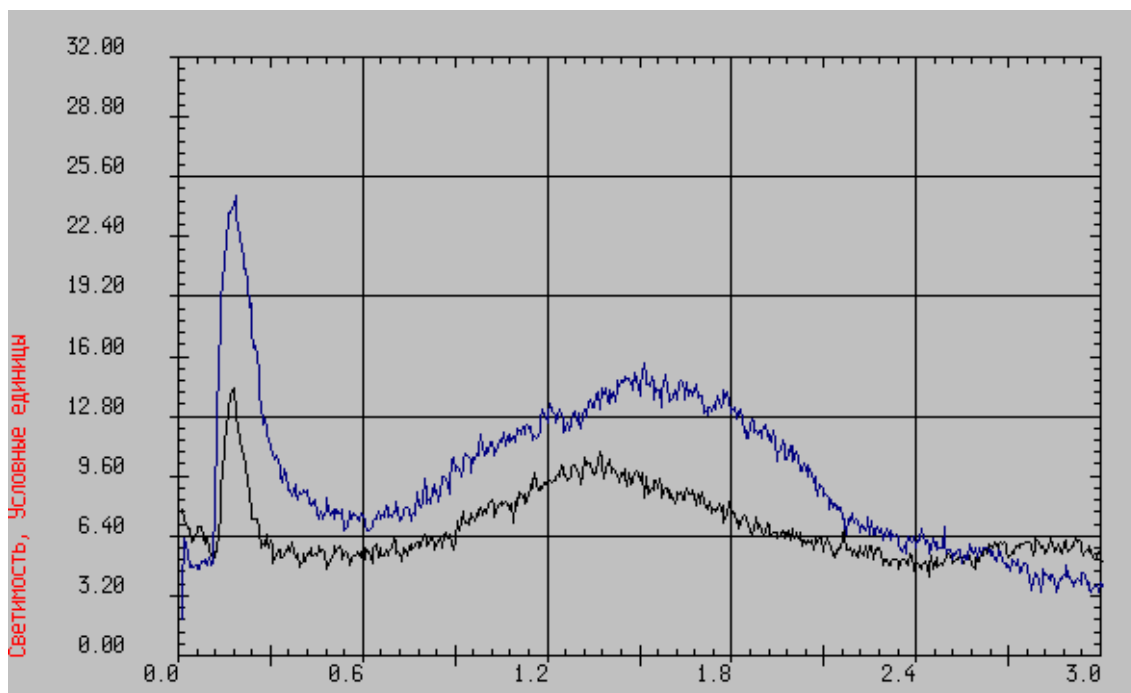


Рисунок 6 — Запись хемилюминесценции модельной системы, генерации активных форм кислорода низкого уровня при добавлении образцов зубного камня при наличии *Streptococcus koreensis* и *Arthrobacter sulfonivorans*.

Черная кривая – контроль, Синяя – добавлен зубной камень

Повышенное значение хемилюминесценции в присутствии бактерий *Streptococcus koreensis* и *Arthrobacter sulfonivorans*, очевидно, связано с меньшей активностью антиоксидантных ферментов. Это может указывать на увеличение оксидативных процессов и развитие окислительного стресса в микробиоме полости рта.

Таким образом, выявленные закономерности при наличии микробиома данного типа отражают условия для образования зубного камня через усиление оксидативных процессов.

3.3 Оксидативные процессы в зубных камнях при наличии в бактериальном составе микробиома ротовой полости *Lactobacillus fermentum*

Следующей закономерностью, установленной в исследовании явилось наличие образцов зубного камня, который не приводил к изменениям по сравнению с контрольными значениями. Основным микроорганизмом, присутствующим в микробиоме явился *Lactobacillus fermentum*. Результаты приведены в таблице 3, рисунок 7.

Таблица 3. Оксидативные процессы в зубных камнях при наличии в бактериальном составе микробиома ротовой полости *Lactobacillus fermentum*

Показатель (Me (IQR))	Светосумма (S)	Амплитуда медленной вспышки (I)
Контроль	19,62 (18,65-20,59)	10,90 (9,89 – 10,92)
Зубной камень	19,27 (19,15-19,4)	9,68 (7,46-11,91)

*Различия статистически значимы по сравнению с контролем

Как можно видеть из результатов таблицы, не отмечалось статистически значимых различий между образцами контроля и образцами зубного камня.

Нормальный уровень светимости при наличии молочнокислых бактерий *Lactobacillus fermentum* может свидетельствовать о роли этих бактерий в поддержании баланса микробиома и предотвращении окислительного стресса. Это способствует снижению риска развития заболеваний полости рта. Зубные камни, сформированные в этих условиях, очевидно имеют механизмы, не затрагивающие оксидативные процессы.

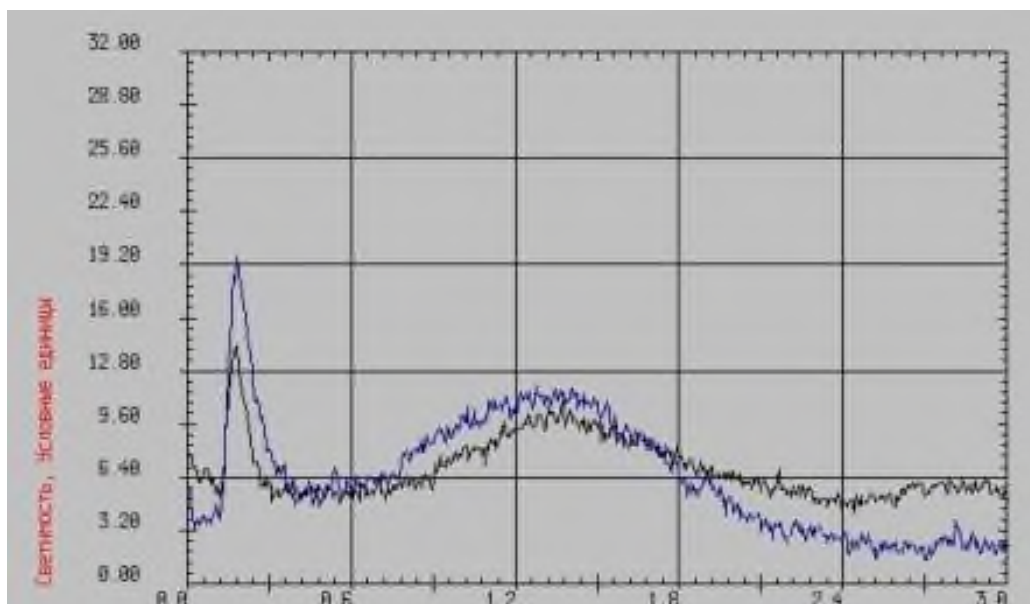


Рисунок 7 — Запись хемилюминесценции модельной системы, генерации активных форм кислорода низкого уровня при добавлении образцов зубного камня при наличии *Lactobacillus fermentum*. Черная кривая – контроль, Синяя – добавлен зубной камень

Таким образом, имеющиеся данные указывают на влияние различных бактерий и уровней светимости на механизмы образования зубного камня через оксидативные процессы, окислительный стресс и баланс микробиома. Для более полного понимания этих механизмов необходимо провести дополнительные исследования. Некоторые виды бактерий, такие как *Str. oralis*, *Staph. epidermidis*, определялись при различных уровнях светимости (как увеличения, так и снижения), и соответственно, оксидативных процессов. Их вклад в баланс оксидативных процессов не удалось установить.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При выполнении дипломной работы были изучены фундаментальные аспекты микробиологии и биофизики и освоены отдельные методы: метод выделения ДНК, метод оценки оксидативных процессов методом регистрации хемилюминесценции, проанализированы источники литературы по теме работы, в первую очередь для обзора литературы.

В данной работе оценивались оксидативные процессы в зубных камнях при различном бактериальном составе микробиома ротовой полости. Исследование проводилось в модельной системах. В дипломной работе были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать бактериальный состав микробиома ротовой полости при формировании зубных камней.
2. Оценить оксидативные процессы в зубных камнях методом регистрации хемилюминесценции.
3. Сопоставить параметры оксидативных процессов разных образцов зубного камня с бактериальным составом микробиома ротовой полости.

Исследование показало, что оксидативные процессы в зубных камнях усиливаются, снижаются или не изменяются при различном бактериальном составе микробиома ротовой полости. При наличии микроорганизмов, *Lactobacillus fermentum* оксидативные процессы не изменялись в сравнении с контролем. Добавление образцов зубного камня от пациентов, в микробиоме ротовой полости у которых присутствовали роды *Staphylococcus* и *Enterococcus* в модельную систему приводило к снижению параметров по сравнению с контрольным значением. При присутствии в микробиоме *Streptococcus koreensis* и *Arthrobacter sulfonivorans* отмечалось усиление оксидативных процессов. Для некоторых видов бактерий, таких как *Str. oralis*, *Staph. epidermidis*, не установлены какие-либо закономерности изменения оксидативных процессов. Проведенные исследования создают предпосылки для практического применения используемых в данной работе

методик, а именно разработки основанных на регистрации хемилюминесценции экспресс-методов определения оксидантных свойств зубного камня.

Выявленные закономерности при наличии микробиома разного типа характеризуют разные механизмы формирования зубного камня, с участием оксидативных процессов.

ВЫВОДЫ

1. При исследовании зубного камня в ротовой полости в бактериальном составе были выявлены следующие бактерии: *Streptococcus koreensis*, *Arthrobacter sulfonivorans*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Str. oralis*, *Staph. Epidermidis*.
2. Показано, что оксидативные процессы в зубных камнях усиливаются, снижаются или не изменяются при различном бактериальном составе микробиома ротовой полости.
3. Выявлено, что при наличии микроорганизмов *Lactobacillus fermentum* оксидативные процессы в зубном камне не изменялись. В образцах зубного камня от пациентов, в микробиоме ротовой полости у которых присутствовали роды *Staphylococcus* и *Enterococcus* отмечалось снижение оксидативных процессов. При присутствии в микробиоме *Streptococcus koreensis* и *Arthrobacter sulfonivorans* отмечалось усиление оксидативных процессов. Для некоторых видов бактерий, таких как *Str. oralis*, *Staph. epidermidis*, не установлены какие-либо закономерности изменения оксидативных процессов.

Список использованной литературы

1. Артющкевич, А.С. Заболевания периодонта / А.С. Артющкевич, С.В. Латышева, С.А. Наумович, Е.К. Трофимова. // М.– 2006. – С. 328.
2. Асташкина, А.П. Приготовление питательных сред и культивирование микроорганизмов / А.П. Асташкина // Томск: Изд-во Томского политехнического университета. – 2015. – С. 19.
3. Ахова, А.В. Формирование сопутствующего окислительного стресса в клетках *Escherichia coli*, подвергнутых действию различных экологических стрессоров / А.В. Ахова П.А. Секацкая, А.Г. Ткаченко // Прикладная биохимия и микробиология. –2019.– Т. 55. –№ 6. – С. 535-541.
4. Бельская, Л.В. Оценка уровня окислительного стресса по изменению кинетики хемилюминесценции слюны / Л. В. Бельская, Е.А. Сарф // Актуальные вопросы биологической физики и химии. – 2018.– Т. 3. – № 4.– С. 847-852.
5. Бричагина, А.С. Метод хемилюминесценции в изучении процессов липопероксидации при артериальной гипертензии и стрессе / А.С. Бричагина, М.И. Долгих, Л.Р. Колесникова, Л.В. Натяганова // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). – 2019. – Т. 4. – № 1. – С. 133-137.
6. Булкина, Н.В. Опыт сочетанного применения препарата «БОЛ-ХИТАЛ» и мембраны «Кардиоплант» в амбулаторной стоматологической практике / Н.В. Булкина, П.В. Колесникова, Л.А. Зюлькина, А.П. Ведяева // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 1-1.
7. Вилкова, И.В. Действие препаратов для химического удаления зубного камня/ И.В. Вилкова, А.С. Вандышева, Э.И. Сахаутдинова // Международный научный журнал «ВЕСТНИК НАУКИ». –2023 – Т.2. – № 12. – С. 1374-1382.
8. Владимиров, Г. К. Хемилюминесцентная методика определения общей антиоксидантной емкости в лекарственном растительном сырье / Г. К. Владимиров, Е. В. Сергунова, Д. Ю. Измайлов, Ю. А Владимиров // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2016. – № 2. – С. 65-72.
9. Вяткин, А.В. Напитки антиоксидантной направленности как метод борьбы с окислительным стрессом / А.В. Вяткин, О.В. Чугунова // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2016. – Т. 6. – № 4. – С. 119-126.
10. Голованова, О. А. Изучение процессов образования зубных камней/ О.А. Голованова, Л.В. Воронкова, Р.В. Казанцева, Е.Ю. Ачкасова, В.И. Блинов //Статья Минералогия техногенеза Российская академия наук Уральское отделение. –2005. – С. 153-155.
11. Жданов, Е.В. Влияние этиологических факторов развития рецессии на выбор тактики и результаты хирургического лечения /Е.В.

Жданов, А.Ю. Февралева, О.В. Савич // Новое в стоматологии. – 2005. – № 5. – С. 46-55.

12. Журавская Н.В. Возможности применения остеопластических материалов в составе комплексного лечения рецессии десны/ Н.В. Журавская //Вестник медицинского института «Реавиз» - 2022 - №2 – С. 315

13. Закотеев, Ю. А. Хемилюминесценция. Принципы и методики регистрации, оборудование, задачи / Ю. А. Закотеев // – 2015

14. Зенков, Н.К. Аутофагия как механизм защиты при окислительном стрессе / Н.К. Зенков, А.В. Чечушков, П.М. Кожин, Г.Г. Мартинович, Н.В. Кандалинцева, Е.Б. Меньщикова // Бюллетень сибирской медицины.– 2019. – Т.18. – № 2. – С. 195-214.

15. Камиль, О. М. Обзор влияние условий процесса на хемилюминесценции (хл) в ходе химической реакции люминола - перекисью водорода в присутствии катализатора / О. М. Камиль // Аллея науки. – 2017. – № 7.– С. 207-220.

16. Карпенко, Е. А. Анализ про- и антиоксидантной систем в плазме крови больных аденомой и раком простаты / Е. А. Карпенко // Красноярск : СФУ. – 2019.

17. Кичерова, О. А. Вред и польза окислительного стресса / О. А. Кичерова, Л. И. Рейхерт, К. П. Кичерова // Медицинская наука и образование Урала.– 2019. – Т. 20. – № 4. – С. 193-196.

18. Колтовой, Н. А. Книга 4. Часть 1. Хемилюминесценция / Колтовой Н. А. – М.– 2017.– 145 с.

19. Кораго, А. А. Введение в биоминералогия./А.А. Кораго.– С-Пб.: Изд-во Недра.– 1992.

20. Кузьмина, Э. М. Гигиенист стоматологический: учебник / Э. М. Кузьмина.- М.: Изд-во МГСМУ– 2012. – 417 с.

21. Кулыгин, Д.А. Разновидности люминесценции / Д.А. Кулыгин // Инновационная наука.– 2016.– № 12-4.– С. 36-38.

22. Латышева, С.В. Целевые направления профилактики болезней периодонта/ С.В. Латышева, О.Н. Брундукова // Современная стоматология. – 2014. – №1. – С. 59-61.

23. Леонтьев, В.К. Об этиологии кариеса зубов / В.К. Леонтьев // Клиническая стоматология. – 2019. – С. 34-35.

24. Леус, П.А. Биофильм на поверхности зуба и кариес./П.А. Леус – М.: Изд-во Stbook – 2008. – 28 с.

25. Леус, П.А. Стоматологическое здоровье населения: учебно-метод. пособие / П.А. Леус. – Минск, 2009. – 253 с.

26. Лобко, С.С. Способы удаления зубных отложений: учебно-метод. пособие / С.С. Лобко. – Минск, 2009. – 45 с.

27. Лысак, В.В. Микробиология практикум /Ласак В.В., Желдакова Р.А., Фомина О.В.//Микробиология практикум. – 2015. – С. 8-10.

28. Лысенко, В.И. Оксидативный стресс как неспецифический фактор патогенеза органических повреждений (обзор литературы и собственных исследований) / В.И. Лысенко // Медицина неотложных состояний.– 2020. – Т.16. – № 1. – С. 24-35.

29. Марченко, І. Я. Пропедевтика терапевтичної стоматології: підруч. для студ. стом. факул. вищ. навч. закл. МОЗ України / І.Я. Марченко, З.Ю. Назаренко, С.А. Павленкова.– Полтава: Изд-во ВДНЗУ «УМСА» ТОВ «АСМІ». – 2016 – 439 с.

30. Наганцева, Е.А. Гигиена полости рта как профилактика стоматологических заболеваний / Е.А. Наганцева // Международный студенческий научный вестник. – 2016. – С. 3-5.

31. Николаев, А.А. Свободные радикалы и биоантиоксиданты в репродуктивных процессах (обзор литературы) / А.А. Николаев, П.В. Логинов, Е.Б. Мавлютова, А.А. Белявская // Проблемы репродукции. – 2018. – Т.24. – № 1. – С. 21-26.

32. Пилат, Т. Л. Зубной камень и его влияние на ткани пародонта /Т.Л. Пилат// Стоматология.– 1984. – № 3. – С. 88-90.

33. Пилат, Т. Л. Кинетика формирования минерализованных зубных отложений / Т.Л. Пилат, Б.Ю. Фатахов// Стоматология. –1988. – № 3. – С. 11-13.

34. Пискарев, И. М. Инициирование и исследование свободно-радикальных процессов в биологических экспериментах / И. М. Пискарев, И. П. Иванова, А. Г. Самоделкин, М. Н. Иващенко – Н. Новгород: Изд-во ФГБОУ ВО Нижегородская ГСХА. – 2016. – 140 с.

35. Побожьева, Л.В. Роль биопленки в патогенезе воспалительных заболеваний полости рта и способы ее устранения / Л.В. Побожьева, И.С. Копецкий // Лечебное дело. – 2012. – № 2. – С. 9- 13.

36. Проскурнина, Е.В. Свободные радикалы как участники регуляторных и патологических процессов / Е.В. Проскурнина, Ю.А. Владимиров // Сборник: Фундаментальные науки – медицине. Биофизические медицинские технологии. – 2015.– Т.1. – С. 1-27.

37. Романова, Р. О. Особенности формирования микробной биопленки при воспалительных заболеваниях пародонта / Р. О. Романова, М. Е. Кашлевская, Д.С. Левенков // Вестник Пензенского государственного университета. – 2022. – № 1. – С. 19-23.

38. Саркисян, Е.Г. Влияние твердых зубных отложений на поверхностную деминерализацию эмали/ Е.Г. Саркисян, И.М. Ткаченко // ВІСНИК ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». –2017. – Т.12. – С. 268-271.

39. Ситникова, О. Г. Исследование общей антиокислительной активности пуповинной крови и лизата клеток сосудов пуповины новорожденных методом хемилюминесценции / О. Г. Ситникова, И. Г.

Попова, С. Б. Назаров, Г. Н. Кузьменко, М. М. Клычева // Таврический медико-биологический вестник. – 2017. – Т. 20. – № 2-2. – С. 151-153.

40. Ситникова, О. Г. Исследование хемилюминесценции сыворотки крови в присутствии нанокompозита полистирол/бентонит/ магнетит *in vitro* / О. Г. Ситникова, О. В. Алексеева, М. М. Клычева, А. Н. Родионова, С. Б. Назаров, А. В. Агафонов // Таврический медико-биологический вестник. – 2018. – Т. 21. – № 2-1. – С. 83-87.

41. Степанова, Т.Ю. Микробиом ротовой полости человека / Т.Ю. Степанова, А.В. Тимофеева // Микробиом ротовой полости человека . – 2015. – №5. – С. 1-15.

42. Тарасенко, Е.А. Определение свободно-радикальной активности твердых веществ с помощью системы химических реагентов / Е.А. Тарасенко, Е.А. Гудкова // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки. – 2016. – № 18. – С. 104-107.

43. Ходос, М.Я. Мониторинг окислительного стресса в биологических объектах / М.Я. Ходос, Я.Е. Казаков, М.Б. Видревич, Х.З. Брайнина // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2017. – Т.14. – № 3. – С. 262-274.

44. Ходос, М.Я. Окислительный стресс и его роль в патогенезе / М.Я. Ходос, Я.Е. Казаков, М.Б. Видревич, Х.З. Брайнина // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2017. – Т.14. – № 4. – С. 381-398.

45. Шаповалов, Ю.А. Радикалы в структурах клетки / Ю.А. Шаповалов, П.П. Гладышев, С.Т. Тулеуханов, Е.В. Швецова, Ж.Т. Абдрасулова // Биофизика. 2020. – Т. 65. – № 4. – С. 691-704.

46. Almeida, P. Saliva composition and functions: a comprehensive review / P. Almeida, A. Gregio, M. Machado, A. Lima, L. Azevedo // The Journal of Contemporary Dental Practice. –2008. – V. 70. – № 3. – P. 72-80.

47. Baborun, T Free radicals and antioxidants in cardiovascular health and disease.// T. Baborun, M. Soobrattee, V. Luximon-Ramma / Internet Journal of Medical Update.– 2006. –V.1:1– P.17.

48. Bernimoulin, J. Coronally repositioned periodontal flap / J. Bernimoulin // J Clin Periodontol. – 1999. –V. 2. – P. 1.

49. Boucher, C. Current Clinical Dental Terminology.// C. Boucher / St. Louis. – 1963.

50. Chen, T. The Human Oral Microbiome Database: a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information / T. Chen, W-H. Yu, J. Izard, O. Baranova, A. Lakshmanan, F. Dewhirst // The Journal of Bacteriological Databases and Curation. – 2010. – V. 2010.

51. Chen, Z. Organic anion composition of human whole saliva as determined by ion chromatography / Z. Chen, S. Feng, E.H Pow, O.L. Lam, S. May, H. Wang // Clinica Chimica Acta. – 2014. – № 438. – P. 231-235.

52. Dewhirst F.E. The human oral microbiome / F.E. Dewhirst, T. Chen, J. Izard, B.J. Paster, A.C. Tanner, W.H. Yu, A. Lakshmanan, W.G. Wade // *Journal of Bacteriology*. – 2010. – № 192. – P. 5002- 50179.
53. Flemming, H. The biofilm matrix / H. Fleming, J. Wingender // *Nature Reviews Microbiology*. – 2010. – V. 8, № 9. – P. 623-633.
54. Jakubovics, N. Saliva as the sole nutritional source in the development of multispecies communities in dental plaque / N. Jakubovics // *Microbiology Spectrum*. – 2015. – V. 3. – № 3. – P. 1-11.
55. Kolenbrander, P. Coaggregation of *Fusobacterium nucleatum*, *Selenomonas flueggei*, *Selenomonas infelix*, *Selenomonas noxia*, and *Selenomonas sputigena* with strains from 11 genera of oral bacteria / P. Kolenbrander, R. Andersen, L. Moore // *Applied and environmental microbiology*. – 1989. – № 57. – P. 3194-3203.
56. Kolenbrander, P. Intergeneric coaggregation among human oral bacteria and ecology of dental plaque / P. Kolenbrander // *Annual review of microbiology*. – 1988. – № 42. – P. 627-656.
57. Kolenbrander, P. Intrageneric coaggregation among strains of human oral bacteria: potential role in primary colonization of the tooth surface / P. Kolenbrander, R. Andersen, V. Moore // *Microbiology and molecular biology reviews*. – 2002. – № 56. – P. 3890-3894.
58. Kolenbrander, P. Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems / P. Kolenbrander // *Annual review of microbiology*. – 2000. – № 54. – P. 413-437.
59. Kolenbrander, P.E., Communication among oral bacteria / P. Kolenbrander, R. Andersen, D. Blehert, P. Egland // *Microbiology and molecular biology reviews*. – 2002. – V. 66. – № 3. – P. 486-505.
60. Lyte, M. Microbial endocrinology in the microbiome-gut-brain axis: how bacterial production and utilization of neurochemicals influence behavior / M. Lyte // *Plos Pathogens*. – 2013. – V. 9. – № 11. – P. 1-3.
61. Mager, D. Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces / D. Mager, L. Ximenez-Fyvie, A. Haffajee, S. Socransky // *Journal of Clinical Periodontology*. – 2003. – № 30. – P. 644-654.
62. Miller, M. Quorum Sensing in Bacteria / M. Miller, B. Bassler // *Annual Review of Microbiology*. – 2001. – V. 55. – P. 165-199.
63. Miller, P. A classification of marginal tissue recession // P. Miller // *Int J Periodontics Restorative Dent*. – 1998. – № 5. – P. 8-14.
64. Mühlemann, H. In vivo measurements of dental calculus. / H. Mühlemann // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1968. – №153. – P. 164–196.
65. Nyvad, B. Microbiology of the early colonization of human enamel and root surfaces in vivo / B. Nyvad, M. Kilian // *Scandinavian journal of dental research*. – 1987. – № 95. – P. 369-380.

66. Reading, N. Quorum sensing: the many languages of bacteria / N. Reading, V. Sperandio // FEMS Microbiology Letters. – 2006. – V. 254. – № 1. – P. 1-11.
67. Seymour, G. Relationship between periodontal infections and systemic disease / G. Seymour, P. Ford, M. Cullinan, S. Leishman, K. Yamazaki // Clinical Microbiology and Infection. – 2007. V.13. – № 4. – P. 3-10.
68. Takahashi, N. Glucose and lactate metabolism by *Actinomyces naeslundii* / N. Takahashi, T. Yamada // Crit Rev Oral Biol Med. – 1999. – V. 10. – № 4. – P. 487-503.
69. Takahashi, N. Oral Microbiome Metabolism: From "Who Are They?" to "What Are They Doing?" // N. Takahashi / Journal of Dental Research. – 2015. – V. 94. – № 12. – P. 1628-1637.
70. Zaura, E. Defining the healthy "core microbiome" of oral microbial communities / E. Zaura, B.J.F. Keijser, S.M. Huse, W. Crielaard // BMC Microbiology. – 2009. – № 9. – P. 259-271.

СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

Башкирский государственный медицинский
университет

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.ВУЗ

Автор работы: Анисимова П. И.
Самоцитирование
рассчитано для: Анисимова П. И.
Название работы: ОКСИДАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ЗУБНЫХ КАМНЯХ ПРИ РАЗЛИЧНОМ БАКТЕРИАЛЬНОМ СОСТАВЕ МИКРОБИОМА РОТОВОЙ ПОЛОСТИ
Тип работы: Выпускная квалификационная работа
Подразделение: Башкирский Государственный Медицинский Университет

РЕЗУЛЬТАТЫ

■ ОТЧЕТ О ПРОВЕРКЕ КОРРЕКТИРОВАЛСЯ: НИЖЕ ПРЕДСТАВЛЕНЫ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ ДО КОРРЕКТИРОВКИ

СОВПАДЕНИЯ		13.45%	СОВПАДЕНИЯ		13.07%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ		66.49%	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ		84.04%
ЦИТИРОВАНИЯ		20.05%	ЦИТИРОВАНИЯ		2.89%
САМОЦИТИРОВАНИЯ		0%	САМОЦИТИРОВАНИЯ		0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 19.06.2024

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 20.06.2024 09:49

Структура документа: Проверенные разделы: библиография с.46-52, титульный лист с.1, содержание с.2, основная часть с.3-46
Модули поиска: Интернет Плюс*; Переводные заимствования*; Цитирование; Издательство Wiley; Коллекция НБУ; СПС ГАРАНТ: аналитика; Перефразирования по коллекции IEEE; Публикации eLIBRARY; Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования); Шаблонные фразы; IEEE; Переводные заимствования издательства Wiley; Перефразирования по коллекции издательства Wiley; Переводные заимствования по коллекции Гарант: аналитика; Библиография; Диссертации НББ; ИПС Адилет; СМИ России и СНГ; Переводные заимствования по Интернету (EnRu); Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Кольцо вузов; Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика; Патенты СССР, РФ, СНГ; Перефразирования по Интернету (EN); Перефразированные заимствования по коллекции

Работу проверил: Банникова Ольга Сергеевна

ФИО проверяющего

Дата подписи:

Подпись проверяющего



Чтобы убедиться
в подлинности справки, используйте QR-код,
который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.