

Заключение. Таким образом, при ОИМ и после лечения в крови у детей выявлялись изменения суммарных уровней и отдельных сплайсированных вариантов мРНК генов Fas-опосредованного апоптоза. По сравнению с условно здоровыми донорами уровни мРНК **активаторов и эффекторов** Fas-опосредованного апоптоза остава-

лись преимущественно неизменными как при ОИМ, так и после лечения, при этом после лечения соотношение уровней мРНК смещалось преимущественно в сторону антиапоптотических факторов. Дальнейшие исследования позволят расширить представление о молекулярных особенностях иммунопатогенеза ОИМ.

ПРИМЕНЕНИЕ НОВОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА У БОЛЬНЫХ ПАРОДОНТИТОМ МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

Тамарова Э.Р., Булгакова А.И., Мавзютов А.Р., Швец К.Ю., Абдуллина А.А.

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Уфа, Россия

Введение. Современный уровень научных знаний об этиопатогенезе пародонтита определяет пародонтальную микрофлору в качестве доминирующего фактора, поскольку особенности метаболизма и патогенность составляющих её микроорганизмов могут оказывать существенно влияние на течение воспалительного процесса. К высокоинформативным «маркерным» микроорганизмам при пародонтите в настоящее время относят *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans*, *S. sanguis*, *S. sobrinus*, *S. oralis*, *S. salivarius* и *S. macacae* и др. Однако оценка роли этих и других бактерий в этиологии стоматологических заболеваний и разработка эффективных методов их лечения в последние годы существенно сдерживается сложностью их выявления традиционными культуральными методами и невысокой информативностью серодиагностики.

В этой связи представляется целесообразным использование метода полимеразной цепной реакции (ПЦР). Использование ПЦР позволяет точно анализировать состав микрофлоры в ротовой полости, что помогает адекватному выбору этиотропной терапии и оценке ее эффективности. Однако в отечественной научной литературе исследования, при которых этот метод применялся для исследования микробиоты полости рта при пародонтите, немногочисленны.

Цель исследования – разработка тест-системы для детекции патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, ассоциированных с пародонтитом, оценка ее диагностической эффективности.

Материал и методы исследования. Обследованы 170 пациентов с пародонтитом (62 мужчины и 108 женщин), средний возраст $52,1 \pm 12,48$ лет. Из них у 129 (75,9%) пациентов был диагностирован пародонтит средней степени тяжести, у 41 (24,1%) пациента – тяжелая степень заболевания. Группа сравнения была представлена 66 пациентами (26 мужчин и 40 женщин), средний возраст $45,3 \pm 7,62$ лет, без патологии пародонта после санации полости рта.

Материалом для исследования служили содержимое пародонтального кармана и слюна. Содержимое пародонтального кармана отбирали из наиболее глубоких участков с помощью стерильных бумажных эндодонтических штифтов (размер № 25), которые затем помещали в пробирку с физиологическим раствором.

ДНК выделяли с использованием наборов «ДНК-экспресс» (НПФ «Лиятх», Россия). Амплификацию ДНК пародон-

топатогенных микробов (*P. gingivalis*, *T. denticola*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. sobrinus*, *S. macacae*) проводили при использовании подобранных нами праймеров в термоциклере Терцик МС-2 (НПФ «ДНК-Технология», Россия). На первом этапе исследования нами был произведен подбор олигонуклеотидных праймеров к специфическим консервативным последовательностям ДНК основных бактерий, ассоциированных с пародонтитом – генам 16S рРНК, а также генам антибиотикоустойчивости, депонированным в международном банке нуклеотидных последовательностей GenBank. Сравнительный множественный анализ найденных последовательностей проводили с помощью программы «MegAlign». При подборе праймеров использовали программу «PrimerSelect» из пакета программ «Lasergene» (DNAStar, США). Для амплификации и электрофоретической детекции продуктов амплификации применялись наборы соответствующих реагентов (ООО «Интерлабсервис», Россия) согласно инструкции производителя. Амплифицированные фрагменты ДНК разделяли электрофоретически в 2,0%-ном горизонтальном агарозном геле, окрашивали бромидом этидия и визуализировали при освещении ультрафиолетом в фотодокументационной системе.

Основные результаты. У больных пародонтитом в содержимом пародонтального кармана обнаружены все исследованные микроорганизмы. Наиболее распространены были бактерии *S. mutans*, которые были выявлены у 69,4% больных. Следует отметить высокую представленность *S. sanguis*, *S. oralis*, *S. sobrinus*, частота выявления которых составила 57,6%, 54,1% и 51,2%, соответственно. *P. gingivalis* наблюдалась в 24,1% случаев *T. denticola* – в 18,8% случаях, *S. salivarius* и *S. macacae* – в 11,2% случаев.

При пародонтите установлена существенно более высокая, чем в группе сравнения, распространенность *T. denticola* (на 11,2%, $p = 0,047$), *S. mutans* (на 40,6%, $p = 0,0001$), *S. oralis* (на 31,4%, $p = 0,0001$) и *S. sobrinus* (на 39,1%, $p = 0,0001$). У обследованных пациентов обращает на себя внимание достоверное возрастание встречаемости сообщества *T. denticola* и *P. gingivalis* – 9,4% в сравнении с 1,5% среди здоровых лиц ($p = 0,038$), тогда как сообщество *S. sanguis*, *S. oralis*, наоборот, существенно реже – 2,4% против 21,2% ($p = 0,0001$).

Подобная тенденция по содержанию микроорганизмов наблюдалась и в образцах ротовой жидкости больных пародонтитом. Максимальная представленность обнаружена для *S. mutans* (67,1%). Доля больных с

S. sanguis составила 54,7%, с *S. oralis* – 50,6%, с *S. sobrinus* – 44,7% человек. У больных пародонитом в сравнении с показателями у здоровых лиц в ротовой жидкости установлено существенное увеличение частоты выявления *S. mutans* (на 39,8%, $p = 0,0001$), *S. sobrinus* (на 34,1%, $p = 0,0001$),

В ротовой жидкости обнаружены существенные различия в частоте выявления сообщества микроорганизмов *T. denticola* и *P. gingivalis* – 8,8% у больных пародонитом при его отсутствии в группе сравнения ($p = 0,017$), а также сообщества *S. sanguis*, *S. oralis* – 2,9% и 27,3%, соответственно ($p = 0,0001$).

Заключение. Таким образом, подобранные нами

праймеры позволяют выявлять методом ПЦР пародонтопатогенные бактерии видов *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus macacae*, *Streptococcus sobrinus*. У больных пародонитом микробиологический статус характеризуется существенно более высокой, чем у лиц без патологии пародонта, распространенностью в содержимом пародонтального кармана *T. denticola*, *S. mutans*, *S. oralis* и *S. sobrinus*, в ротовой жидкости – *S. mutans* и *S. sobrinus*. В содержимом пародонтального кармана зубов и ротовой жидкости имеет место высокая частота сообщества *T. denticola* и *P. gingivalis*.

ВЫЯВЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ У ЗДОРОВЫХ И БОЛЬНЫХ ОПИСТОРХОЗОМ ЖИТЕЛЕЙ ЭНДЕМИЧНОГО ОЧАГА

Бакштановская И.В., Степанова Т.Ф., Степанова К.Б., Зматракова Е.А., Ожирельева И.В.

ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии»
Роспотребнадзора, Тюмень, Россия

Для выявления маркеров предрасположенности к реализации определенной клинической формы заболевания при заражении возбудителем описторхоза представляется актуальным исследовать частоты встречаемости аллелей и генотипов некоторых полиморфных генов, определяющих функционирование иммунной и гепатобилиарной систем.

Целью настоящей работы в рамках предварительного обследования ограниченных по размеру групп здоровых и больных описторхозом жителей эндемичного очага (Курганской и Тюменской областей) являлось выявление полиморфизмов в генах ферментов семейства цитохрома P-450, осуществляющих окислительную биотрансформацию ксенобиотиков и ряда эндогенных биологических веществ, а также в генах, ассоциированных с предрасположенностью к сахарному диабету 2-го типа.

Материалы и методы. Проведено исследование образцов цельной крови 30 человек, средний возраст 50,3 лет, 8 – жители Курганской области (Белозерский р-н, с. Рычково); 23 – жители г. Тюмени, с установленным диагнозом хронического описторхоза.

Выделение тотальной ДНК человека из образцов крови проводили методами сорбции на частицах силики с использованием коммерческого набора «АмплиПрайм ДНК-сорб В» и преципитации с использованием коммерческого набора «АмплиПрайм Рибо-преп».

Выявление генетических полиморфизмов проводили с применением системы генетического анализа PyroMark 24 с использованием коммерческих наборов реагентов для детекции генетических полиморфизмов методом пиросеквенирования «АмплиСенс® Пироскрин»: «ФАРМА-скрин-1» профиль генетического исследования «I фаза биотрансформации, профиль 1» и «ДИ-АБЕТ-2-скрин» профиль генетического исследования «Сахарный диабет 2 типа». Проведена амплификация каждого исследуемого генетического локуса со специфическими праймерами, очистка и иммобилизация одноцепочечного ПЦР-продукта на частицах сефарозы, опреде-

ление нуклеотидной последовательности исследуемого локуса в реакции пиросеквенирующего синтеза.

С помощью первого набора проводили выявление однонуклеотидных полиморфизмов в генах, кодирующих ферменты семейства цитохрома P-450: I462V A>G (CYP1A1*2C, rs1048943); T461N C>A (CYP1A1*4, rs1799814); 6235 T>C (CYP1A1*2A, rs4646903); -154 C>A (CYP1A2*1F, rs762551); -392 A>G (CYP3A4*1B, rs2740574); R144C C>T (CYP2C9*2, rs1799853); I359L A>C (CYP2C9*3, rs1057910). С помощью второго набора выявляли полиморфизмы в следующих локусах: АТФ-зависимый калиевый канал K23E C>T (rs5219), фактор транскрипции PPAR гамма P12A C>G (rs1801282), фактор транскрипции 7 IVS3 C>T (rs7903146), фактор транскрипции 7 IVS4 G>T (rs12255372). Статистическую обработку результатов проводили с использованием Т-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. У всех 8 жителей Курганской области, обследованных на наличие полиморфизмов в генах цитохромов, обнаружено наличие редкой аллели по одному или нескольким локусам, во всех случаях они сочетаются с наличием редких аллелей по локусам HLA B*5701 и интерлейкина-28B. При этом для двух полиморфизмов цитохрома CYP1A1 (CYP1A1*2C и CYP1A1*4) все обследованные являлись гомозиготами по частой аллели (AA и CC соответственно). У четверых из обследованных выявлено наличие яиц описторхиса в кале либо положительные результаты ИФА на наличие антител к возбудителю описторхоза, у этих людей выявлено наличие мутантной аллели по локусу CYP1A2*1F (генотип AC), по остальным исследованным локусам их генотип – гомозигота по частой аллели.

В целом по исследованным полиморфизмам в генах цитохромов выявленные частоты встречаемости минорных аллелей соответствуют литературным данным. Так, для полиморфизма CYP1A1*2A в гене цитохрома P-450 частота встречаемости аллели C составила 6,3% (по литературе 8%), частоты генотипов TT (87,5±12,5%) и TC (12,5±12,5%) достоверно различаются ($p < 0,001$). Для по-