

Геномный состав микробиот зубодесневой борозды и пародонтального кармана у лиц молодого возраста

Блашкова С.Л.¹, Модина Т.Н.², Абдрахманов А.К.³, Цинеккер Д.А.¹, Мамаева Е.В.¹, Ильинская О.Н.¹

¹Казанский государственный медицинский университет, г. Казань

²Институт усовершенствования врачей «Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова», г. Москва

³ООО «Камил-Дент», г. Казань

Российская Федерация

Резюме

Актуальность. Факторы риска локального значения играют решающую роль в развитии воспалительных заболеваний пародонта, однако профиль представленности и роль маркеров микробного происхождения продолжает уточняться, что объясняет возрастающий интерес к метагеномным исследованиям.

Цель. Сравнение геномного состава микробиот зубодесневой борозды и пародонтального кармана у условно здоровых пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта, проживающих на территории г. Казань Республики Татарстан.

Материалы и методы. В исследование включены 25 молодых людей (11 юношей, 14 девушек) в возрасте 18-19 лет с воспалительными заболеваниями пародонта (хронический генерализованный катаральный гингивит (12 человек), хронический генерализованный пародонтит легкой степени тяжести (13 человек)). Контрольная группа состояла из 11 доноров, не имеющих воспалительных заболеваний пародонта.

Результаты. С использованием секвенирование фрагментов генов бактериальной 16S рРНК (регионы V3 и V4) были проанализированы структуры микробных сообществ зубодесневого желобка и пародонтального кармана, которые позволили получить реальное представление о его составе и определить как известные, так и некультивируемые ранее неопределенные флотипы.

Выводы. Показано, что в группе с воспалительными заболеваниями пародонта было идентифицировано 183 флотипа на уровне родов, относящиеся к 17 филам, выявлены неопределенные флотипы на уровне рода *Mogibacteriaceae*, TM7 3, Rs-045, *Dethiosulfovibrionaceae*. При хроническом генерализованном пародонтите легкой степени тяжести достоверно выделить флотипы, присутствующие в повышенном количестве по отношению к хроническому катаральному гингивиту не удалось; по отношению к контролю – наблюдалось статистически значимое увеличение доли семейств *Porphyromonadaceae*, *Peptostreptococcaceae* и доли родов *Dialister*, *Filifactor*, *Parvimonas*, *Tannerella*, *Treponema*.

Ключевые слова: стоматология, воспалительные заболевания пародонта, интактный пародонт, зубодесневая борозда, пародонтальный карман, метагеном сообществ, геномный состав микробиот.

Для цитирования: Блашкова С.Л., Модина Т.Н., Абдрахманов А.К., Цинеккер Д.А., Мамаева Е.В., Ильинская О.Н. Геномный состав микробиот зубодесневой борозды и пародонтального кармана у лиц молодого возраста. Стоматология детского возраста и профилактика. 2020;20(1):19-25. DOI: 10.33925/1683-3031-2020-20-1-19-25.

Genomic composition of microbiol gingival sulcus and periodontal pockets in young persons

S.L. Blashkova¹, T.N. Modina², A.K. Abdrakhmanov³, D.A. Zinecker¹, E.V. Mamaeva¹, O.N. Ilyinskaya¹

¹Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation

²Institute of advanced training of doctors «National medical and surgical center. N. I. Pirogov», Moscow, Russian Federation

³LLC "Kamil-dent, Kazan, Russian Federation

Abstract

Relevance. Risk factors of local importance plays a crucial role in the development of inflammatory periodontal diseases, but the profile of representation and the role of origin microbial markers continues to be refined, what explains the increasing interest by the metagenomic studies.

Purpose. To compare the genomic composition of the microbiota of the periodontal sulcus and periodontal pocket by healthy patients with inflammatory periodontal diseases living on the territory of Kazan, the Republic of Tatarstan.

Materials and methods. The study included 25 young people (11 boys, 14 girls) aged 18-19 years, with inflammatory periodontal diseases (chronic generalized catarrhal gingivitis (12 people), chronic generalized periodontitis of mild severity (13 people)). The control group consisted of 11 donors without inflammatory periodontal disease.

Results. In the present study structures of microbial communities of periodontal spaces has been analyzed with using the sequencing of fragments of bacterial 16s rRNA genes (regions V3 and V4). Results of the analysis allowed to get a real idea of its composition and to determine both known and previously undefined uncultivated phylotypes.

Conclusions. It was shown that in the group of the patients with inflammatory periodontal diseases there were identified 183 phylotypes at the level of genus (*Mogibacteriaceae*, TM7 3, Rs-045, *Dethiosulfovibrionaceae*) relating to 17 phyls (phylum), that is a synonym of type in taxonomy (taxon between Kingdom and class). By the patients with chronic generalized periodontitis of mild severity, it was not possible to reliably isolate the phylotypes present in increased amounts in relation to chronic catarrhal gingivitis; in relation to control – there was a statistically significant increase in the proportion of families *Porphyromonadaceae*, *Peptostreptococcaceae* and the proportion of genera *Dialister*, *Filifactor*, *Parvimonas*, *Tannerella*, *Treponema*.

Key words: dentistry, inflammatory periodontal disease, intact periodontal, dentogingival sulcus, periodontal pocket, metagenome of communities, genomic composition of microbiota.

For citation: S.L. Blashkova, T.N. Modina, A.K. Abdrakhmanov, D.A. Zinecker, E.V. Mamaeva, O.N. Ilyinskaya. Genomic composition of the microbiota of the dentogingival sulcus and periodontal pocket in young persons. *Pediatric dentistry and dental prophylaxis*.2020;20(1):19-25. DOI: 10.33925/1683-3031-2020-20-1-19-25.

ЛИТЕРАТУРНАЯ СПРАВКА ПО ПРОБЛЕМЕ

При воспалительных заболеваниях пародонта существуют очень сложные бактериальные сообщества [7], при этом бактерии имеют не как отдельные планктонные клетки, а как бактериальные агрегаты (биопленки), состоящие из сотен видов [4]. Геномная вариабельность близкородственных штаммов в изучаемой нами экосистеме обеспечивает высокий адаптивный потенциал состава микробиома [18], сбалансированный состав которого является одним из критериев оценки его состояния [10].

На сегодняшний день достигнуты значительные успехи в области детекции маркеров воспалительных процессов, продуктов разрушения тканей и бактериальных антигенов [2, 11, 17]. Но следует отметить, что до настоящего времени не определены биологические маркеры, способные идентифицировать лиц, у которых вероятно деструкция пародонта в будущем. Не выявлен какой-либо один микроорганизм, патогномичный для трансформации заболеваний пародонта [9], также как и полиморфизм генов [20]. Все вышеописанные достижения не позволяют до конца решить задачи, поставленные клиницистами, что создает необходимость поиска наиболее рациональных, эффективных и обоснованных методов диагностики, с расширением выборок и анализом результатов [15, 23].

Использовать такие классические микробиологические подходы, как бактериальный посев или выделение чистых культур для определения видового состава микроорганизмов, составляющих отдельный микробиом, сложно ввиду большого количества видов и невозможности культивировать до 99% бактерий [5]. Поэтому широкое

распространение микробиомных исследований стало возможным только с появлением высокотехнологичных методов, позволяющих массово секвенировать совокупный геном микроорганизмов, полученный напрямую из среды их обитания – метабеном. Под видовым геномом понимают совокупность всех генов всех штаммов данного вида. При этом, по мнению ряда исследователей, минимальный набор генов, необходимых для обеспечения жизни клетки, должен иметь не менее 200 базовых генов [19].

Отсутствие необходимости в изоляции и культивировании микроорганизмов – особенность метабеномных исследований. Последнее является принципиальным отличием метагеномики, так как не все микроорганизмы способны к росту на микробиологических средах [14]. Первичной информацией для метагеномных исследований являются нуклеотидные последовательности, получаемые *shotgun sequencing* нуклеиновых кислот – РНК и ДНК, включая все гены и не кодирующие участки [18].

Секвенирование 16S рРНК применяется в классификации бактерий и архей, с оценкой филогенетического разнообразия микробиоты, в том числе с выявлением новых микроорганизмов. Появление технологий секвенирования нового поколения позволяет охарактеризовать не только композицию и функцию человеческого микробиома, но также изменения в пределах отдельных органов, индивидуумов и временных промежутков [6].

Работ, посвященных метагеномному анализу в стоматологии, на сегодняшний день единицы. Так, изучение геномного состава микробиот зубодесневой борозды у молодых людей с интактным пародонтом показало достоверные различия 21 фило типа на уровне

родов и семейств: в выборке метабеномных образцов были найдены уникальные микробные сообщества, не встречающиеся в ранее изученных метабеномах, а установленный уровень может быть использован в качестве исходных материалов для решения различных клинических и микробиологических задач [21]. Изучен состав микробиома зубного налета у пациентов пародонтологического профиля для выявления кандидатных пародонтогенов [22]. На основе методов пиросеквенирования фрагментов гена 16S рРНК изучен бактериальный состав образцов тканей пародонта в норме и при воспалительных процессах, обусловленных интеграцией имплантатов [12], методы секвенирования нового поколения позволяют определять структуру различных микробных сообществ с высокой точностью [8, 24]. На сегодняшний день перечень микроорганизмов, ассоциированных с заболеваниями пародонта, продолжает уточняться [1, 3, 13, 16], что и объясняет возрастающий интерес к метагеномным исследованиям [14].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение и сравнение геномного состава микробиот пародонтальных пространств (зубодесневой борозды и пародонтального кармана) у условно здоровых пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта, проживающих на территории г. Казань Республики Татарстан.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследованы 25 молодых людей (11 юношей, 14 девушек) с воспалительными заболеваниями пародонта (хронический генерализованный катаральный гингивит, хронический генерализован-

ный пародонтит легкой степени тяжести). Возраст обследованных – 18-19 лет. Пациентов включали в соответствующую группу после установления диагноза заболевания, подтвержденного с помощью клинических и лабораторно-инструментальных методов обследования; контрольная группа (интактный пародонт) состояла из 11 условно здоровых, не имеющих воспалительных заболеваний пародонта, доноров. Группы были сопоставимы по возрасту и полу. Все участники исследования являлись европеоидного происхождения и проживали на территории г. Казань Республики Татарстан.

Критерии включения в исследование:

1. Возраст 18-19 лет.
2. Условно здоровы и не состоят на учете в других медицинских организациях.
3. Не имеют вредных привычек – алкоголь, табакокурение, наркомания.
4. Не беременны и не используют методы гормональной контрацепции.
5. Не используют антибиотики и антисептики в течение трех месяцев.
6. Находятся на учете у пародонтолога.
7. Не имеют мукогингивальной патологии.
8. Не имеют ортодонтической патологии.
9. Соответствие состояния пародонта клиническим и рентгенологическим признакам интактного пародонта.
10. Клинически и рентгенологически верифицированный диагноз «хронический генерализованный катаральный гингивит» (K05.1 по МКБ-10).
11. Клинически и рентгенологически верифицированный диагноз «хронический генерализованный пародонтит легкой степени тяжести» (K05.3 по МКБ-10).

Критерии исключения из исследования: наличие других заболеваний пародонта, пациенты другой этнической группы.

У всех пациентов по данным истории болезни проводился анализ жалоб и анамнеза заболевания.

Пациенты перед исследованием подписали добровольное информированное согласие. На проведение исследования получено разрешение Локального этического

комитета ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России (выписка из протокола №9 от 22 ноября 2016 г.).

Для изучения и сравнения генетического состава микробиот использовали образцы, выделенные из зубодесневой борозды (пять случайно выбранных зубов) и пародонтальных карманов (на максимально возможной глубине зондирования). Отбор проб проводился после профессиональной гигиены рта и удаления наддесневых отложений с использованием стерильных кювет Грейси (Ху-Фриеди). Стерильные ватные турунды с применением стерильного пинцета помещали в исследуемую область, не касаясь слизистой оболочки полости рта и шейки зуба. Собранные образцы были помещены в 2 мл микроцентрифужные пробирки и заморожены при -20°C .

Тотальную ДНК экстрагировали и очищали из отобранного образца с использованием QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Германия), в соответствии с прилагаемой инструкцией по применению. Общее количество экстрагированной и очищенной ДНК далее измеряли с использованием спектрофотометра Nanodrop ND-2000 (Wilmington, США). Полученную тотальную ДНК хранили в морозильной камере при -20°C .

Фрагменты генов бактериальной 16S рРНК были амплифицированы баркодированными праймерами Bakt_341F (5-CCT ACG GGN GGC WGC AG-3') and Bakt_805R (5-GAC TAC HVG GGT ATC TAA TCC-3') используя Phusion High-Fidelity DNA полимеразу, в трех повторах для каждого образца. Полученные ампликоны для каждого образца были объединены и очищены с помощью Agencourt AMPure XP beads (Beckman Coulter, США). Количество ДНК определяли с помощью Quant-iT dsDNA HS Assay Kit. Секвенирование осуществляли с использованием секвенатора ABI 3730 DNA Analyzer (Life Technologies, США).

Полученные последовательности были проанализированы с помощью QIIME, версия 1.9.1. Парные прочтения были объединены. Низкокачественные и химерные последовательности были удалены. Оставшиеся последовательности были сгруппированы в операционные таксономические единицы (ОТЕ) на уровне 97% сходства (минимум пять последовательностей для ОТЕ). ОТЕ назначались методом open reference. Тест Kruskal-Wallis использовался для опре-

деления относительного обилия филоципов между группами. Была использована версия R 3.4.1, значение было установлено на $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В данной работе описаны универсальный алгоритм метагеномных исследований и результаты клиничко-микробиологического исследования микробиома пародонтальных пространств при воспалительных заболеваниях пародонта у пациентов 18-19 лет без ортодонтической и мукогингивальной патологии. Исследованию подверглась выборка размером 37 человек, что превышает по размеру все описанные в литературе выборки, исследовавшиеся этим методом. В настоящем исследовании, используя секвенирование фрагментов генов бактериальной 16S рРНК (регионы V3 и V4), были проанализированы структуры микробных сообществ. После объединения парных прочтений средняя длина полученных последовательностей составила 460 н. п. (н. п. – это длина фрагментов ДНК в парах нуклеотидов). В среднем на каждый образец приходилось 34 600 последовательностей.

Необходимо отметить, что во всех случаях речь идет об определении состава метагенома зубодесневой борозды и пародонтального кармана по результатам секвенирования ДНК из образцов, что примерно соответствует слепку микробиоты тканей пародонта в норме и патологии. Обитатели зубодесневой борозды и пародонтального кармана достаточно тес-

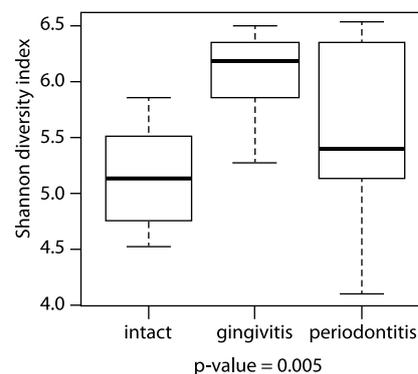


Рис. 1. Альфа-разнообразие микробных сообществ при интактном пародонте и воспалительных заболеваниях пародонта у молодых людей в возрасте 18-19 лет

Fig. 1. Alpha-diversity of microbial communities in intact periodontal and inflammatory periodontal diseases in young people aged 18-19 years

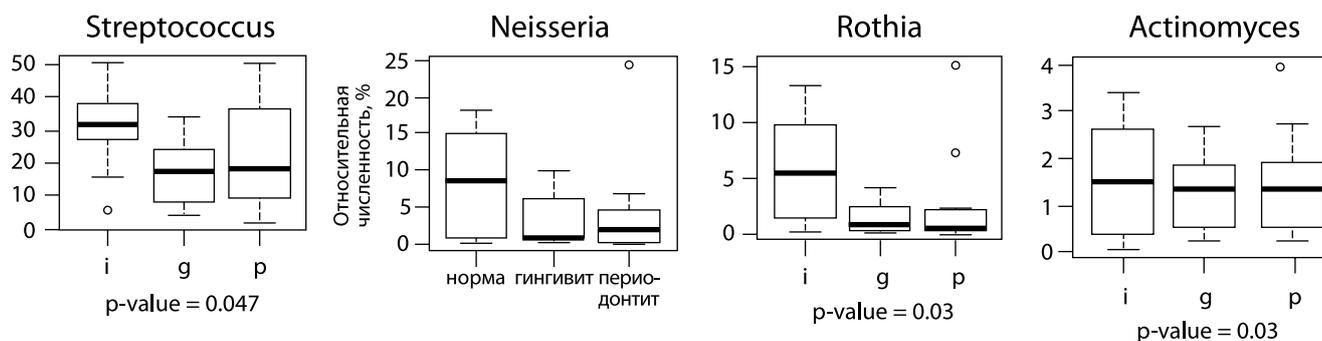


Рис. 2. Относительная численность видов/филотипов Streptococcus, Neisseria, Rothia
 Fig. 2. Relative number of species/phylotypes of Streptococcus, Neisseria, Rothia

но взаимодействуют друг с другом, поэтому, говоря о роли микробиоты, правильно будет рассматривать полную ее совокупность.

Любое сообщество – не просто сумма образующих его видов, но и совокупность взаимодействий между ними. Одним из важных свойств сообщества, которое отражает его сложность и структурированность, принято считать его разнообразие. Видовое разнообразие отражает сложность строения и структуру сообщества.

На рисунке 1 представлено альфа-разнообразие образцов – разнообразие внутри сообществ, так называемое видовое обилие. Применение индексов альфа-разнообразия дало возможность косвенно определить их статус.

В нашем исследовании альфа-разнообразие образцов интактного пародонта оказалось значительно ниже [20], чем разнообразие образцов при хроническом катаральном гингивите. Альфа-разнообразие образцов при хроническом генерализованном пародонтите легкой степени тяжести варьировало в более широких пределах.

Было идентифицировано 183 филотипа на уровне родов, относящиеся к 17 филум (фил (phylum) – это

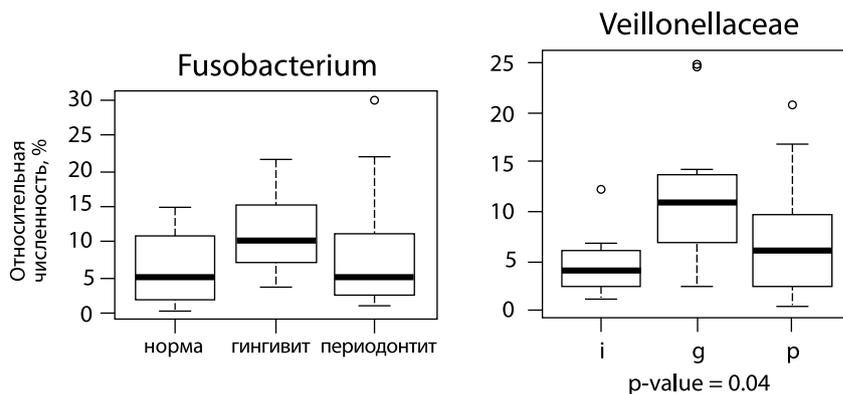


Рис. 3. Относительная численность видов/филотипов Fusobacterium, Veillonella
 Fig. 3. Relative number of species/phylotypes of Fusobacterium, Veillonella

синоним типа в таксономии (таксон между царством и классом). В таблице 1 представлены 47 наиболее многочисленных филотипов на уровне родов.

Для выявления различий в относительной численности филотипов на уровне родов и семейств между образцами применяли критерий Kruskal-Wallis, предназначенный для определения равенства медиан нескольких выборок (данный критерий является многомерным обобщением критерия Уилкоксона – Манна – Уитни).

Показаны распределения достоверно отличающихся филоти-

пов, чья медианная относительная численность превышала 0,5% хотя бы в одной группе. При этом нами определено, что относительная численность 21 филотипа на уровне родов и семейств достоверно различалась между группами.

Большая часть обнаруживаемых микроорганизмов составила очень маленький процент от общего количества, многие присутствовали не во всех образцах. Скорее всего, эти были минорные микроорганизмы, не вносящие существенный вклад в процессы, происходящие в исследуемых биотопах, и перечислять их все не имеет смысла.

Таблица 1. Относительное обилие видов/филотипов Porphyromonadaceae, Peptostreptococcaceae, Dialister, Filifactor, Parvimonas, Tannerella, Treponema

Table 1. Relative number of species/phylotypes of Porphyromonadaceae, Peptostreptococcaceae, Dialister, Filifactor, Parvimonas, Tannerella, Treponema

	Интактный пародонт intact	Хронический генерализованный катаральный гингивит gingivitis	Хронический локализованный пародонтит легкой степени тяжести parodontitis
Porphyromonas	0.68 (0.02-9.74)	4.09 (0.29-12.36)	2.92 (0.53-32.2)
Peptostreptococcus	0.01 (0.00-0.65)	0.28 (0.00-1.31)	0.28 (0.00-5.47)
Dialister	0.03 (0.01-0.74)	0.65 (0.12-2.85)	0.51 (0.00-5.58)
Filifactor	0.00 (0.00-0.32)	0.57 (0.00-6.68)	0.79 (0.00-4.07)
Parvimonas	0.12 (0.00-0.60)	0.92 (0.05-2.45)	1.15 (0.09-3.07)
Tannerella	0.07 (0.00-1.23)	0.69 (0.16-2.70)	0.59 (0.00-4.66)
Treponema	0.04 (0.00-0.54)	1.13 (0.13-4.76)	0.47 (0.00-9.57)

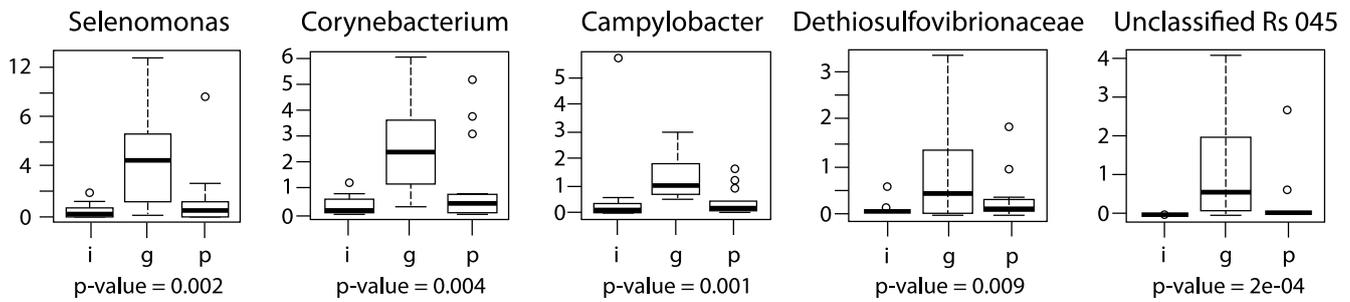


Рис. 4. Относительное обилие видов/филотипов *Selenomonas*, *Corynebacterium*, *Campylobacter*, *Dethiosulfovibrionaceae*, *Rs-045*

Fig. 4. Relative abundance of species/phylotypes of *Selenomonas*, *Corynebacterium*, *Campylobacter*, *Dethiosulfovibrionaceae*, *Rs-045*

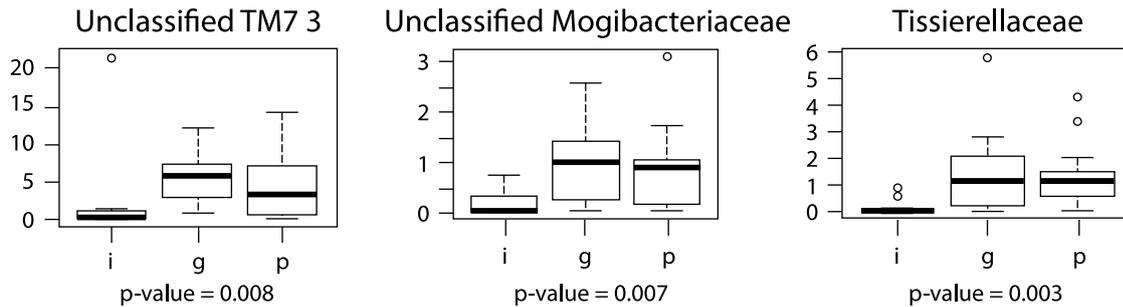


Рис. 5. Относительная численность обилие неопределенных видов/филотипов *TM7 3*, *Mogibacteriaceae*, *Tissierellaceae*

Fig. 5. Relative abundance of undetermined species/phylotypes *TM7 3*, *Mogibacteriaceae*, *Tissierellaceae*

Если говорить о статистической значимости, то использованная статистическая программа насчитала около 47 филотипов, различие по которым формально статистически значимые, однако половина этих филотипов присутствуют в очень маленьких количествах – порядка 0,001% (рис. 2-5), где показано относительное обилие видов в каждой исследуемой группе, которые выразилось как медианное значение и разброс от максимального до минимального по группе (например, 0.00 (0.00-0.33).

В большинстве образцов преобладали представители рода *Streptococcus*. В образцах микрофлоры пациентов с интактным пародонтом доля стрептококков была существенно больше (31.73 (6.11-50.30)), в сравнении с двумя другими группами, причем это различие было статистически значимо (17.51 (4.01-34.43) и 18.37 (1.66-50.40) соответственно) (рис. 2).

Второй из преобладающих групп при интактном пародонте явился род *Neisseria* (8.50 (0.03-18.18)), в сравнении с двумя другими группами, причем это различие также было статистически значимо (0.65 (0.015-10.08) и 1.84 (0.00-24.46) соответственно).

Кроме того, у пациентов с интактным пародонтом были ассоциированы члены семейства

Micrococccaceae и рода *Rothia* – 5.35 (0.13-13.30). Интересно то, что классические бактерии, выделяющиеся обычно при кариесе род *Rothia* (*Stomatococcus mucilaginosus* и *Micrococcus mucilaginosus*), в контроле присутствовали в два раза большем количестве.

Интересно, что род *Actinomyces* преобладал в группе с интактным пародонтом 2.46 (0.27-16.13), при воспалительных заболеваниях он присутствовал примерно в одинаковых соотношениях 1.50 (0.39-3.91) против 1.49 (0.32-6.11).

При патологии возрастало количество не идентифицированных бактерий. Место *Rothia* при патологии заняли антагонистические патогенные бактерии.

Одной из преобладающих групп оказался род *Fusobacterium* (рис. 3). При этом очень интересен факт преобладания рода *Fusobacterium* в группе с хроническим генерализованным катаральным гингивитом (10.19 (3.36-21.73)), в сравнении с двумя другими группами – с интактным пародонтом (5.16 (0.39-14.97)) и хроническим генерализованным пародонтитом легкой степени тяжести (5.04 (1.19-30.09)), причем это различие было статистически значимо.

Также имело место преобладание семейств *Veillonella* в группе с хроническим генерализованным

катаральным гингивитом (4.66 (0.47-11.89)), в сравнении с двумя другими группами – с интактным пародонтом (3.65 (0.36-10.19)) и хроническим генерализованным пародонтитом легкой степени тяжести (3.65 (0.36-10.19)).

Члены родов *Selenomonas*, *Corynebacterium* и *Campylobacter* повели себя аналогично (рис. 4). Они присутствовали в существенно большем количестве в образцах пациентов, страдающих хроническим генерализованным катаральным гингивитом, нежели хроническим генерализованным пародонтитом легкой степени тяжести, что может указывать на смену преобладающих видов с переходом воспалительного процесса из одной нозологии в другую (4.45 (0.10-12.78); 2.42 (0.29-6.00); 1.04 (0.53-2.96), соответственно).

Кроме того, были найдены микробные сообщества, не встречающиеся в ранее изученных метагеномах – некультивируемые представители семейств *Rs-045*, *Dethiosulfovibrionaceae*, которые также преобладали в группе с хроническим генерализованным катаральным гингивитом (0.44 (0.00-3.31) и 0.58 (0.00-4.04), соответственно) в сравнении с двумя другими группами – с интактным пародонтом и хроническим генерализованным пародонтитом легкой

степени тяжести, причем это различие было статистически значимо.

Примечательно, что на основании имеющихся данных не удалось достоверно выделить флотипы, присутствующие в повышенном количестве при хроническом генерализованном пародонтите легкой степени тяжести по отношению к хроническому катаральному гингивиту. Очень интересным был тот факт, что по отношению к интактному пародонту в двух других группах наблюдалось статистически значимое увеличение доли семейств Porphyromonadaceae, Peptostreptococcaceae и доли родов Dialister, Filifactor, Parvimonas, Tannerella, Treponema (рис. 5).

Кроме того, по отношению к интактному пародонту в двух других группах были найдены микробные сообщества, не встречающиеся в ранее изученных метагеномах – некультивируемые представители неопределенных флотипов на уровне рода Mogibacteriaceae, TM7-3, Tissierellaceae (табл. 1).

Таким образом, в результате исследования нами был произведен

сравнительный анализ бактериальных сообществ пародонтальных пространств (зубодесневой борозды, пародонтального кармана) при хроническом генерализованном катаральном гингивите, хроническом генерализованном пародонтите легкой степени тяжести и у здоровых индивидуумов. В выборке метагеномных образцов были найдены уникальные микробные сообщества, не встречающиеся в ранее изученных метагеномах. Разнообразие бактерий при патологиях оказалось достоверно выше, чем в норме. При этом такая характеристика, как число генов в метагеноме, может со временем стать диагностическим инструментом для детекции воспалительных заболеваний пародонта. А наличие образцов с аномально высоким содержанием ДНК может служить косвенным признаком воспалительных процессов или чрезмерного десквамации эпителия. Помимо оценки качества экспериментальных процедур, результат этой фильтрации может служить первичным маркером возможной патологии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В группе пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта было идентифицировано 183 флотипа на уровне родов, относящиеся к 17 филам, выявлены неопределенные флотипы на уровне рода Dethiosulfovibrionaceae, Mogibacteriaceae, TM7-3, Rs-045, Tissierellaceae (unclassified), не встречающиеся в ранее изученных метагеномах.

2. При хроническом генерализованном пародонтите легкой степени тяжести достоверно выделить флотипы, присутствующие в повышенном количестве по отношению к хроническому катаральному гингивиту, не удалось; по отношению к контролю наблюдалось статистически значимое увеличение доли семейств Porphyromonadaceae, Peptostreptococcaceae и доли родов Dialister, Filifactor, Parvimonas, Tannerella, Treponema.

Определение геномного состава микробиот зубодесневой борозды и пародонтального кармана позволяет получить реальное представление о его составе и определить как известные, так и некультивировавшиеся ранее неопределенные флотипы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Абдрахманов А. К., Мамаева Е. В., Ахметова Г. М. Анализ микрофлоры зубодесневой соединения у молодых людей с интактным пародонтом / Сборник: Актуальные вопросы стоматологии детского возраста 1-я Всероссийская научно-практическая конференция. Сборник научных статей. КГМУ. 2018:3-10. [Abdrakhmanov A. K., Mamaeva E. V., Akhmetova G. M. Analysis of the microflora of the dentooralveolar junction in young people with intact periodontal disease / Collection: Topical issues of pediatric dentistry 1st all-Russian scientific and practical conference. Collection of scientific articles. KGM. 2018: 3-10. (In Russ.)]. <https://elibrary.ru/item.asp?id=34911063>.
2. Абдрахманов А. К., Мамаева Е. В., Яковлева Г. Ю., Ильинская О. Н. Ювенильный пародонтит – видовая принадлежность выделенных микроорганизмов. Стоматология детского возраста и профилактика. 2016;15;3(58):4-9. [Abdrakhmanov A. K., Mamaeva E. V., Yakovleva G. Yu., Ilinskaya O. N. Juvenile periodontitis-species of isolated microorganisms. Stomatology of children's age and prevention. 2016;15;3(58):4-9. (In Russ.)]. <https://elibrary.ru/item.asp?id=27196908>
3. Абдрахманов А. К., Цинеккер Д. Т., Яковлева Г. Ю., Ильинская О. Н., Мамаева Е. В. Метагеном сообществ пародонтальных пространств. Вестник «Биомедицина и социология». 2018;3;1:5-8. [A. K. Abdrakhmanov, D. T. Zinecker, G. Yu. Yakovleva, O. N. Ilinskaya, E. V. Mamaeva. Metagenome community of periodontal spaces. Journal «Biomedicine and sociology». 2018;3;1:5-8. (In Russ.)]. <https://elibrary.ru/item.asp?id=36385672>.
4. R. I. Amann, W. Ludwig, K. H. Schleifer. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. Microbiol Rev. 1995;59:143-169. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.1312777>.
5. H. Arai, T. Chihara, K. Takahashi et al. Host defensive functions in a family manifesting early-onset periodontitis. J. Periodontol. 1996;67(4):433-442. <https://doi.org/10.1902/jor.1996.67.4.433>.
6. K. Baek, Y. Choi. Complex Intratissue Microbiota Forms Biofilms in Periodontal Lesions. J. Dent Res. 2017;96.12:1451-1458. <https://doi.org/10.1177/0022034517732754>.
7. D. Belström, F. Constancias, Liu Yang et al. Metagenomic and metatranscriptomic analysis of saliva reveals disease-associated microbiota in patients with periodontitis and dental caries. NPJ Biofilms and Microbiomes. 2017;3:23. <https://doi.org/10.1038/s41522-017-0031-4>.
8. Цепов Л. М., Голева Н. А. Роль микрофлоры в возникновении воспалительных заболеваний пародонта. Пародонтология. 2009;2(51):7-12. [Tsepov L. M., Goleva N. A. The role of microflora in the occurrence of inflammatory periodontal diseases. Periodontics. 2009;2(51):7-12. (In Russ.)]. <https://elibrary.ru/item.asp?id=12808000>.
9. L. Dethlefsen, M. McFall-Ngai, D. A. Relman. An ecological and evolution perspective on human-microbe mutualism and disease. Nature. 2007;449:811-818. <https://doi.org/10.1038/nature06245>.
10. Грудянов А. И. и др. Количественная оценка микробиоценозов полости рта при заболеваниях пародонта. Пародонтология. 2011;16;2:18-21. [Grudanov A. I., etc., the quantification of microbiocenosis of the mouth cavity at diseases of parodontium. Parodontologiya. 2011;16;2:18-21. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/item.asp?id=16272603>.
11. Хафизова Ф. А. и др. Изучение состава и сравнительный анализ бактериальных сообществ образцы слизистой оболочки десен в норме и при воспалении в зонах дентальной имплантации. Сборник статей международной научно-практической конференции «Качество оказания медицинской стоматологической помощи: способы достижения, критерии и методы оценки». Казань. 2016:9-17. [Hafizova F. A. et al. Study of the composition and comparative analysis of bacterial communities samples of the gingival mucosa in normal and inflammatory zones of dental implantation. Collection of articles of the international scientific and practical conference "Quality of medical dental care: ways to achieve, criteria and methods of evaluation". Kazan. 2016:9-17. (In Russ.)]. <https://elibrary.ru/item.asp?id=25788714>.
12. K. V. Hiranmayi, K. Sirisha, P. Sudhakar et al. Pathogens in Periodontal Microbiolog. J. Pharm Bioallied. 2017;9:155-163. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_288_16.
13. Курильщикова А. М., Тикунова Н. В., Кабилов М. Р. Методы и объекты метагеномных исследований. Вестник НГУ. Серия: Биология, Клиническая медицина. 2012;10;1:191-201. [Smokers A. M., Tikunova N. V., Kabilov M. R. Methods and facilities for metagenomic studies. Bulletin of NSU. Series: Biology, Clinical medicine. 2012;10;1:191-201. (In Russ.)]. <https://elibrary.ru/item.asp?id=17260896>.
14. Мамаева Е. В. Пародонтологический статус и функциональное состояние организма у подростков: Дис. ... д-ра мед. наук. Москва. 2007. [Mamaeva E. V. Periodontological status and functional state of the organism in adolescents: Dis. ... d-RA med. sciences'. Moscow. 2007. (In Russ.)]. <https://elibrary.ru/item.asp?id=15844909>.
15. Мамаева Е. В., Яковлева Г. Ю., Абдрахманов А. К. Метагеномика – современный метод определения маркеров микробного происхождения (литературный обзор). Сборник «Здоровье человека в XXI веке». IX Российская научно-практическая конфе-

ренция: сборник научных статей. 2017:56-62. [Mamaeva E. V., Yakovleva G. Yu., Abdrakhmanov A. K. Metagenomics-a modern method for determining markers of microbial origin (literary review). Collection "human Health in the XXI century". IX Russian scientific-practical conference: collection of scientific articles. 2017:56-62. (In Russ.)]. <https://elibrary.ru/item.asp?id=34987669>.

16. Модина Т. Н., Мамаева Е. В., Абдрахманов А. К., Гильфанов Б. Р., Ильинская О. Н. Идентификация грибов рода *Candida* при воспалительных заболеваниях пародонта. Клиническая стоматология. 2019;1(89):20-23. [Modina T. N., Mamaeva E. V., Abdrakhmanova A. K., Gilfanov B. R., Ilyinskaya O. N. Identification of *Candida* fungi in inflammatory periodontal diseases. Clinical dentistry. 2019;1 (89):20-23. (In Russ.)]. <https://elibrary.ru/item.asp?id=37128722>.

17. Попенко А. С. Биоинформационное исследование таксономического состава микробиоты кишечника человека: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Москва. 2014:22. [Popenko A. S. Bioinformational study of the taxonomic composition of the human gut microbiota: autoref. dis. ... kand. Biol. sciences'. Moscow. 2014: 22. (In Russ.)]. <https://elibrary.ru/item.asp?id=30415361>.

18. Равин Н. В., Шестаков С. В. Геном прокариот. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013;17;4(2):972-984. [N. V. Ravin, S. V. Shestakov. The genome of prokaryotes. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektcii. 2013;17;4(2):972-984. (In Russ.)]. <https://elibrary.ru/item.asp?id=21170056>.

19. R. A. Saleev, A. R. Akhshereeva, I. Kh. Valeeva, E. V. Valeeva, A. R. Akhtereeva, R. D. Imamieva, E. V. Mamaeva, I. I. Ahmetov. IL1B gene polymorphism in children with gingival recession. Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences. 2019;06(01):1298-1303. <https://elibrary.ru/item.asp?id=36766219>.

20. R. A. Saleev, T. N. Modina, A. K. Abdrakhmanov, D. T. Zinecker, Oh. N. Ilyinskaya, G. Yu. Yakovleva, G. T. Saleeva, E. V. Mamaeva. Metagenome of dentogingival sulcus's communities by the young people with intact periodontium. Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences. 2019;06(03);5320-5326. <https://elibrary.ru/item.asp?id=37066747>.

21. Зорина О. А., Петрухина Н. Б., Басова А. А., Шибеева А. В., Трубникова Е. В., Шевелев А. В. Идентификация ключевых элементов нормальной и патогенной микрофлоры, определяющей состояние пародонта, методом NGS-секвенирования банков 16S-РДНК бактериальных консорциумов пародонта.

Стоматология. [Zorina O. A., Petrukhina N. B., Basova A. A., Shibaeva A. V., Trubnikova E. V., Shevelev A. V. Identification of key elements of normal and pathogenic microflora that determine the state of periodontal disease by NGS-sequencing of 16s - RDNA banks of bacterial periodontal consortia. Stomatologiya. 2014:25-31. (In Russ.)]. <https://elibrary.ru/item.asp?id=22887716>.

22. Цинеккер Д. А. Особенности хронического гипертрофического гингивита у подростков 13-15 лет: Дис. ... канд. мед. наук. Казань. 2013. [Zinecker D. A. features of chronic hypertrophic gingivitis in adolescents of 13-15 years of age: Dis. ... kand. honey. sciences'. Kazan. 2013. (In Russ.)]. <https://elibrary.ru/item.asp?id=32779712>.

23. Ziganshina E., Ibragimov E., Ilyinskaya O. et al. Bacterial communities inhabiting toxic industrial wastewater generated during nitrocellulose production. Biologia 2016;71:70-78. <https://elibrary.ru/item.asp?id=26984151>.

Конфликт интересов:

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов/

Conflict of interests:

The authors declare no conflict of interests

Поступила/Article received 11.11.2019

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Блашкова Светлана Львовна, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой терапевтической стоматологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Российская Федерация. Член президиума Российской пародонтологической ассоциации

svetlana.blashkova@kazangmu.ru
ORCID: 0000-0003-3233-2926

Blashkova Svetlana L., DSc, Professor, professor chief of the department of therapeutic dentistry Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation. Presidium member of RPA

Модина Тамара Николаевна, д.м.н., профессор кафедры челюстно-лицевой хирургии и стоматологии института усовершенствования врачей «Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова», Москва, Российская Федерация

tnmodina@mail.ru
ORCID: 0000-0002-2036-9464

Modina Tamara N., DSc, Professor of the department of oral and maxillofacial surgery and dentistry of the Institute for advanced medical studies «National medical and surgical center named after N.I. Pirogov», Moscow, Russian Federation

tnmodina@mail.ru, +79104205004
ORCID: 0000-0002-2036-9464

Абдрахманов Айрат Камильевич, главный врач ООО «Камил-Дент», Казань, Российская Федерация

abdurahman116@rambler.ru
ORCID: 0000-0002-3110-4182

Abdrakhmanov Ayrat K., the chief doctor of ООО «Kamident», Kazan, Russian Federation

Цинеккер Дина Айдаровна, к.м.н., доцент кафедры стоматологии детского возраста Федерального

государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Российская Федерация

dzinecker@mail.ru
ORCID: 0000-0002-8366-5731

Zinecker Dina A., PhD, Associate Professor of the pediatric dentistry department of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Kazan State Medical University», of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kazan, Russian Federation

Мамаева Елена Владимировна, д.м.н., профессор кафедры стоматологии детского возраста Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Российская Федерация

mamaeva49.49@mail.ru
ORCID: 0000-0002-4087-2212

Mamaeva Elena VI., DSc, Professor of the pediatric dentistry department of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Kazan State Medical University», of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kazan, Russian Federation

Ильинская Ольга Николаевна, д.б.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии Казанского федерального университета, Казань, Российская Федерация

ilinskaya_kfu@mail.ru
ORCID: 0000-0001-6936-2032

Ilyinskaya Olga N., DSc, Professor, head of microbiology department of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Kazan State Medical University», of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kazan, Russian Federation