Since 2016

ISSN 2618-8783

Вестник "Биомедицина и социология"

<http://dx.doi.org/10.26787/nydha-2618-8783>

2018, том 3 [1]

<http://dx.doi.org/10.26787/nydha-2618-8783-2018-3-1-5-8>

МЕТАГЕНОМ СООБЩЕСТВ ПАРОДОНТАЛЬНЫХ ПРОСТРАНСТВ

Абдрахманов¹ А.К., Цинеккер² Д.Т., Яковлева³ Г.Ю.,
Ильинская³ О.Н., Мамаева¹ Е.В.

¹ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет»,
г. Казань, Российская Федерация

²ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский
университет имени академика И.П. Павлова», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»,
г. Казань, Российская Федерация

Аннотация. В данной работе представлены результаты клинко-микробиологического исследования микробиома пародонтальных пространств в норме и при воспалительных заболеваниях пародонта у пациентов 18–19 лет. Определено, что метагеном сообществ пародонтальных пространств позволяет получить реальное представление о его составе и определить как известные, так и некультивируемые ранее неопределенные флотипы.

Ключевые слова: метагеном, гингивит, пародонтит, пародонтальные пространства.

Метагеномика – один из самых развивающихся разделов, посвященных изучению генетического материала (метагенома) сообществ микроорганизмов, его применяют для изучения генома микроорганизмов как в совокупности, так и отдельности, в том числе включая некультивируемые формы (так как далеко не все из микроорганизмов способны к росту на микробиологических средах) [2, 10, 11, 12]. Первичной информацией для исследований являются нуклеотидные последовательности, получаемые shotgun sequencing (шотган-секвенирование) нуклеиновых кислот – РНК и ДНК [4]. Секвенирование 16S рРНК – это более популярный анализ метагенома, наиболее применяемый метод. Преимущество гена 16S РНК в том, что его края консервативны и универсальны для большого диапазона микроорганизмов [13]. Внутри одного вида сходство гена 16S рРНК достигает 98 – 99%. Универсального протокола обработки метагеномных данных не существует, однако в целом алгоритм почти не меняется.

Развитие технологии секвенирования способствовало изучению видового состава сообществ, филогенетической принадлежности эукариот и прокариот [14, 15], открытию новых видов, новых генов, реконструированию генома некультивируемых видов, уточнению филогенетических связей таксонов [5, 16]. В настоящее время особое внимание уделяется изучению микробиомам человека, его разнообразию в зависимости от географических и социальных

факторов [7, 8, 9, 15, 18, 19], его связь с онкологическими заболеваниями [3, 20, 21], атеросклерозом [22], колитом [23], болезнью Крона [17] и т.д. Так как этиопатогенез и методы лечения множества заболеваний, в том числе и стоматологических, тесно связаны с микрофлорой, вопрос ее изучения в метагеномике является действительно актуальным и важным. В настоящее время работ, посвящённых метагеномному анализу в стоматологии единицы. Так А.В. Шибаевой [6] изучен состав микробиома зубного налета у пациентов пародонтологического профиля для выявления кандидатных пародонтогенов. А на основе методов пиросеквенирования фрагментов гена 16S рРНК Ф.А. Хафизовой и соавт. [1] изучен бактериальный состав образцов слизистой оболочки десен в норме и при воспалительных процессах, обусловленных интеграцией имплантатов. Из этого следует, что вопрос изучения и уточнения микроорганизмов, ассоциированных с заболеваниями пародонта, является еще открытым и требует дальнейшего изучения.

Целью нашего исследования явилось изучение геномного состава микробиот пародонтальных пространств при интактном пародонте, хроническом генерализованном катаральном гингивите и хроническом пародонтите легкой степени тяжести у пациентов в возрасте 18 – 19 лет без ортодонтической и мукогингивальной патологии. Для достижения которой нами был проведено комплексное обследование пациентов. В биоматериале от 36 пациентов проведен метагеномный анализ микрофлоры, выявляющий как культивируемые, так и некультивируемые формы бактерий.

Для реализации исследования был использован универсальный алгоритм метагеномных исследований и результаты первого клинко-микробиологического исследования микробиома рта при воспалительных заболеваниях пародонта у пациентов 18–19 без ортодонтической и мукогингивальной патологии. Исследованию подверглась выборка размером 36 человек. При использовании секвенирования 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 34600 последовательностей. Было идентифицировано 183 филотипа на уровне родов, относящиеся к 17 филам. Нами определены 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. При этом нами определено, что относительная численность 21 филотипа на уровне родов и семейств достоверно различалась между группами.

В большинстве образцов преобладали представители родов *Streptococcus*, *Neisseria* и *Rothia* и *Actinomyces*. При патологии – возросло количество не идентифицированных бактерий и место указанных родов при патологии занимали антагонистические патогенные бактерии. Одной из преобладающих групп при патологии пародонта оказался род *Fusobacterium*. При этом интересен факт преобладания *Fusobacterium* и *Veillonella* в группе с хроническим генерализованным катаральным гингивитом в сравнении с двумя другими группами – с интактным пародонтом и хроническим генерализованным пародонтитом легкой степени тяжести, причем это различие было статистически значимо. Также повели себя члены родов *Corynebacterium*, *Campylobacter* и *Selenomonas* и некультивируемые представители семейств Rs-045,

Dethiosulfovibrionaceae. 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. Примечательно, что на основании имеющихся данных не удалось достоверно выделить филоотипы, присутствующие в повышенном количестве при хроническом генерализованном пародонтите легкой степени тяжести по отношению к хроническому катаральному гингивиту. Однако 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*. Кроме того, по отношению к интактному пародонту в двух других группах были найдены микробные сообщества, не встречающиеся в ранее изученных метабеномах – некультивируемые представители неопределенных филоотипов на уровне рода *Mogibacteriaceae*, TM7 3.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Изучение состава и сравнительный анализ бактериальных сообществ образцы слизистой оболочки десен в норме и при воспалении в зонах дентальной имплантации / Ф.А. Хафизова[и др.]// Сборник статей международной научно-практической конференции «Качество оказания медицинской стоматологической помощи: способы достижения, критерии и методы оценки». – Казань, 2016. – С. 9-17.
2. Курильщикова А.М. Методы и объекты метабеномных исследований / А.М. Курильщикова, Н.В. Тикунова, М.Р. Кабилов // Вестник НГУ. Серия: Биология, Клиническая медицина. – 2012. – Т.10, Вып. 1. – С.191-201.
3. Нгуен Тхи Нга. Характеристика сообщества микроорганизмов эпителия кишечника человека при колоректальном раке: автореферат дис. ...канд.биол.наук. / Нгуен Тхи Нга // Казань, 2015. – 27 с.
4. Попенко А.С. Биоинформационное исследование таксономического состава микробиоты кишечника человека: автореферат дис. ...канд.биол. наук / А.С. Попенко // Москва, 2014. – 22 с.
5. Шестаков С.В. Вклад метабеномики в развитие биотехнологии / С.В. Шестаков // Биотехнология. – 2011. – №6. – С. 8-22.
6. Шибеева А.В. NGS в стоматологии: бактериальные консорциумы пародонта в норме и при агрессивном пародонтите / А.В. Шибеева, А.Б. Шевелев, О.А. Зорина // Геномное секвенирование NGS. – 2014. – С. 23.
7. A catalog of reference genomes from the human microbiome /К.Е. Nelson [et al.] // Science. – 2010. – Vol. 328, N 5981. – P. 994-999.
8. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing / J. Qin [et al.] //Nature. – 2010. – Vol. 464. – N 7285. – P. 59-65.
9. Dysbiosis of Cultivable Aerobic Microbiota Tightly Associated with Colon Cancer Epithelial Cells /Siraj Y.[et al.] //RJPBCS. – 2015. – N 6 (5) – P. 1658-1663.
10. Enterotypes of the human gut microbiome /Arumugam M. [et al.]//Nature. – 2011. – Vol. 473, N 7346. – P. 174-180.
11. Gilbert J.A. Microbial Metagenomics: Beyond the Genome /Gilbert J.A., Dupont C.L. // Annual Review of Marine Science. – 2011. – Vol. 3, N 1. – P. 347–371.
12. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa / De Filippo C. [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 2010. – Vol. 107, N 33. – P. 14691-14696
13. Metagenomics to Paleogenomics: Large-Scale Sequencing of Mammoth DNA /Poinar H.N. [et al.] // Science. – 2005. – Vol. 311, N 5759. – P. 392–394.
14. Pride D.T. Genome signature analysis of thermal virus metagenomes reveals Archaea and thermophilic signatures / Pride D.T., Schoenfeld T. //BMC Genomics. – 2008. – Vol. 9. – P. 420.
15. Handelsman J. Metagenomics: application ofgenomics to unculturedmicroorganisms /Handelsman J. //Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 2004. – Vol. 100, N 68. – P. 669–685.

16. Metagenomics to Paleogenomics: Large-Scale Sequencing of Mammoth DNA /Poinar H.N. [et al.] // Science. – 2005. – Vol. 311, N 5759. – P. 392–394.
17. Human gut microbiome viewed across age and geography /Yatsunenko T. [et al.] //Nature. – 2012. – Vol. 486. – P. 222-227.
18. Human gut microbiota community structures in urban and rural populations in Russia /Tyakht A. [et al.] //Nat. Commun. – 2013. – Vol. 4. – P. 2469.
19. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa / De Filippo C. [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 2010. – Vol. 107, N 33. – P. 14691-14696.
20. Real-time polymerase chain reaction quantification of specific butyrate producing bacteria, *Desulfovibrio* and *Enterococcus faecalis* in the feces of patients with colorectal cancer. /Balamurugan R. [et al.] // J. Gastroenterol Hepatol. – 2008. – Vol. 23, N 8. – P. 1298-1303.
21. Vipperla K. The microbiota and its metabolites in colonic mucosal health and cancer risk / Vipperla K., O'Keefe S.J. // NCP. – 2012. – Vol. 27. – P. 624-635
22. Symptomatic atherosclerosis is associated with an altered gut metagenome / Karlsson F.H. [et al.] // Nat. comm. – 2012. – Vol. 3. – P. 1245.

METAGENOME COMMUNITY OF PERIODONTAL SPACES

*Abdrakhmanov¹ A.K., Zinecker² D.T., Yakovleva³ G.Yu., Il'inskaya³ O.N.,
Mamaeva¹ E.V.*

¹Kazan medical university, Kazan, Russian Federation

²Pavlov first Saint Petersburg state medical university, Saint-Petersburg, Russian Federation

³Kazan (Volga region) Federal university, Kazan, Russian Federation

Annotation. This research presents the results of clinical and microbiological study of the microbiome of periodontal spaces in normal and inflammatory periodontal diseases by patients 18-19 years. It is determined that the metagenome of communities of periodontal spaces allows to obtain a real idea of its composition and to determine both known and previously undefined uncultivated phylotypes.

Key words: metagenome, gingivitis, periodontitis, periodontal spaces.