

Балмасова И.П., Царев В.Н., Унаньян К.Г., Ипполитов Е.В., Царёва Т.В., Харах Я.Н., Ахмедов Г.Д., Степанова С.А., Катков И.И., Арутюнов С.Д.

## ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ БИОМАРКЕРОВ МИКРОБИОМА ПАРОДОНТА У ПАЦИЕНТОВ С АССОЦИАЦИЕЙ ХРОНИЧЕСКОГО ПАРОДОНТИТА И САХАРНОГО ДИАБЕТА ТИПА 2

ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова»  
Минздрава РФ, 127473, Москва, Россия

*Место высокотехнологичных методов молекулярной биологии в клинической лабораторной диагностике и разработке системы биомаркеров, как важной составляющей диагностических исследований, в настоящее время привлекает самое пристальное внимание научного сообщества. В данной работе предпринята попытка использования высокотехнологичного метагеномного анализа для решения проблем, возникающих в связи с регистрацией высокой частоты ассоциации заболеваний пародонта с системной патологией, в частности, с сахарным диабетом типа 2. Цель исследования – определение таксономических и метаболических особенностей микробиома пародонтальных тканей при заболеваниях пародонта, ассоциированных с сахарным диабетом типа 2, как модели соотношения локальных и системных эффектов пародонтопатогенных бактерий. Исследование включало проведение 16S секвенирования методом дробовика генома рибосомальной РНК бактерий в составе биологического материала из пародонтальных карманов/зубодесневой борозды 46 человек, в том числе 15 пациентов с хроническим пародонтитом, ассоциированным с сахарным диабетом типа 2, 15 пациентов с хроническим пародонтитом вне связи с системной патологией, а также 16 здоровых людей контрольной группы, с последующей биоинформационной обработкой полученных данных. Результаты исследования позволили установить таксономические особенности микробиома пародонта при ассоциации хронического пародонтита с сахарным диабетом типа 2, которые включали преобладание в его составе представителей семейств Prevotellaceae и Spirochaetaceae. Выявлены характерные особенности метаболических процессов в пародонтальных тканях с участием микробиома, которые заключались в нарастании обмена аминокислот цистеина и метионина на фоне снижения метаболизма пиримидина, метана, сфинголипидов, синтеза жирных кислот, которые имеют диагностическое значение при оценке состояния больных сахарным диабетом типа 2.*

**Ключевые слова:** лабораторная диагностика; биомаркеры; 16S секвенирование; микробиом пародонта; пародонтопатогенные бактерии; метаболизм; хронический пародонтит; сахарный диабет типа 2.

**Для цитирования:** Балмасова И.П., Царев В.Н., Унаньян К.Г., Ипполитов Е.В., Царёва Т.В., Харах Я.Н., Ахмедов Г.Д., Степанова С.А., Катков И.И., Арутюнов С.Д. Диагностическое значение биомаркеров микробиома пародонта у пациентов с ассоциацией хронического пародонтита и сахарного диабета типа 2. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (11): 678-683. DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-11-678-683>

**Для корреспонденции:** Царев Виктор Николаевич, засл. работник высшей школы РФ, д-р мед. наук, проф., дир. Научно-исследовательского медико-стоматологического института, зав. каф. микробиологии, вирусологии, иммунологии; e-mail: nikola777@gambler.ru

**Благодарности.** Авторы выражают глубокую благодарность Ильиной Е. Н., зам. ген. директора по научной работе ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА», члену-корр. РАН, д-ру биол. наук, проф. РАН, а также сотрудникам лаборатории геномных исследований и вычислительной биологии, в том числе научному сотруднику, канд. биол. наук Олехновичу Е.И. и ст. научному сотруднику, канд. биол. наук Климиной К.М. за совместную работу по выполнению метагеномных исследований и их биоинформационному анализу.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 24.06.2021

Принята к печати 30.06.2021

Опубликовано 29.11.2021

Balmasova I.P., Tsarev V.N., Unanyan K.G., Ippolitov E.V., Tsareva T.V., Kharakh Y.N., Akhmedov G.D., Stepanova S.Y., Katkov I.I., Arutyunov S.D.

DIAGNOSTIC VALUE OF MICROBIOME BIOMARKERS OF THE PERIODONITIS MICROBIOME IN PATIENTS WITH THE ASSOCIATION OF CHRONIC PERIODONTITIS AND DIABETES MELLITUS TYPE 2

Moscow State University of Medicine and Dentistry, 127473, Moscow, Russia

*The place of high-tech methods of molecular biology in clinical laboratory diagnostics of various diseases and the development of a system of biomarkers as an important component of diagnostic research is currently attracting the closest attention of the scientific community. In this paper, an attempt is made to use high-tech metagenomic analysis to solve problems that arise due to the high frequency of association of periodontal diseases with systemic pathology, in particular, with type 2 diabetes mellitus. The aim of the study was to determine the taxonomic and metabolic features of the microbiome of periodontal tissues in periodontal diseases associated with type 2 diabetes mellitus, as a model of the ratio of local and systemic effects of periodontal pathogenic bacteria. The study included 16S shotgun sequencing of bacterial DNA as part of biological material from periodontal pockets/dentoalveolar furrows of 46 people – 15 patients with chronic periodontitis associated with type 2 diabetes mellitus, 15 patients with chronic periodontitis unrelated to systemic pathology, as well as 16 healthy people in the control group, followed by bioinformatic processing of the data obtained. The obtained data allowed us to establish the taxonomic features of the periodontal microbiome in the association of chronic periodontitis with type 2 diabetes mellitus, which included the predominance of representatives of the*

*families Prevotellaceae and Spirochaetaceae in its composition. The features of metabolic processes in periodontal tissues with the participation of the microbiome were also revealed, which consisted in an increase in the exchange of cysteine and methionine against the background of a decrease in the metabolism of pyrimidine, methane, sphingolipids, and the synthesis of fatty acids, which are of diagnostic value in assessing the condition of patients with type 2 diabetes mellitus.*

**Key words:** laboratory diagnostics; biomarkers; 16S sequencing; periodontal microbiome; periodontopathogenic bacteria; metabolism; chronic periodontitis; type 2 diabetes mellitus.

**For citation:** Balmasova I.P., Tsarev V.N., Unanyan K.G., Ippolitov E.V., Tsareva T.V., Kharakh Y.N., G.D. Akhmedov, Stepanova S.Y., Katkov I.I., Arutyunov S.D. Diagnostic value of microbiome biomarkers of the periodonite microbiome in patients with the association of chronic periodontitis and diabetes mellitus type 2. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (11): 678-683 (in Russ.) DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-11-678-683>

**For correspondence:** Tsarev V.N., Dr. Sci. Med., director of the Research Institute of Medicine and Dentistry, head of the department of microbiology, virology and immunology; e-mail: [nikola777@rambler.ru](mailto:nikola777@rambler.ru)

**Information about authors:**

Balmasova I.P., <https://orcid.org/0000-0001-8194-2419>;  
Tsarev V.N., <https://orcid.org/0000-0002-3311-0367>;  
Unanyan K.G., <https://orcid.org/0000-0002-9109-8431>;  
Ippolitov E.V., <https://orcid.org/0000-0003-1737-0887>;  
Tsareva T.V., <https://orcid.org/0000-0001-9571-0520>;  
Kharakh Y.N., <https://orcid.org/0000-0001-7181-8211>;  
Akhmedov G.D., <https://orcid.org/0000-0002-9380-6868>;  
Stepanova S.Y., <https://orcid.org/0000-0001-5006-4799>;  
Katkov I.I., <https://orcid.org/0000-0002-5299-5981>;  
Arutyunov S.D., <https://orcid.org/0000-0001-6512-8724>.

**Conflict of interests.** The authors declare absence of conflict of interests.

**Acknowledgment.** The authors acknowledge Ilyina E.N., deputy general director of research at the Federal State Budgetary Institution «Federal Scientific and Clinical Center for Physical and Chemical Medicine of FMBA», a corresponding member of the Russian Academy of Science, Doctor of Biology, Professor of the Russian Academy of Science, as well as laboratory scientists of genomic research and computational biology, including authors acknowledgment to a researcher, Ph.D. in Biology Olekhovich E.I. and senior research associate, Ph.D. in Biology Klimina K.M. for the coordination in metagenomic studies and their bioinformational analysis.

**Funding.** The study had no sponsor support.

Received 24.06.2021  
Accepted 30.06.2021  
Published 29.11.2021

**Введение.** Место высокотехнологичных методов молекулярной биологии в клинической лабораторной диагностике и разработке системы биомаркеров, как важной составляющей диагностических исследований, в настоящее время привлекает самое пристальное внимание научного сообщества. Появление и развитие технологий метагеномного анализа определило существенный прорыв в изучении микробиома человека. В руках исследователей оказался инструмент детального изучения таксономического состава и функциональных характеристик очень важного компонента здоровья человека, как и триггерных механизмов самых разнообразных патологических процессов [1, 2]. Однако, как и при использовании любых сложных технологий, данные, полученные в результате метагеномного анализа, ставят новые задачи и порождают новые научные вопросы, которые все еще ждут ответа.

Одним из важнейших биотопов формирования микробиома человека является полость рта, а наиболее обитаемой частью полости рта служит зубодесневая борозда, на долю которой приходится от 400 до 500 видов бактерий из примерно 700 зарегистрированных в этой экологической нише. Изменения таксономической структуры и несостоятельность биологических функций микробиома данной локализации приводят к состоянию дисбиоза, которое связано с началом и прогрессированием заболеваний пародонта и других патологических состояний, имеющих не только локальный, но и системный характер [3–5].

Одной их наиболее часто регистрируемых ассоциаций заболеваний пародонта с системной патологией является

сочетание хронического пародонтита с сахарным диабетом типа 2 [6 – 8], основным проявлением которого, в соответствии с публикациями последних лет, служит изменение таксономического состава микробиома полости рта и его влияния на метаболизм тканей пародонта [9, 10].

Целью работы послужило определение на базе 16S секвенирования таксономических и метаболических особенностей микробиома пародонтальных тканей при заболеваниях пародонта, ассоциированных с сахарным диабетом типа 2, как комплексного диагностического приёма оценки состояния пациентов с сочетанной патологией.

**Материал и методы.** В исследование были включены 46 человек, из числа которых были сформированы 3 группы исследования. 1-я (основная) группа включала 15 пациентов с хроническим пародонтитом, ассоциированным с сахарным диабетом типа 2; 2-я группа характеризовалась как группа сравнения, в ее состав входили 15 человек, у которых хронический пародонтит не сочетался с клинически значимой соматической патологией; 3-я группа служила контролем и содержала 16 условно здоровых людей, не страдающих ни хроническим пародонтитом, ни сахарным диабетом типа 2. Учитывая возрастной состав, для включения в группу контроля допускалось наличие явлений гингивита (6 человек). Пациенты основной группы и группы сравнения наблюдались сотрудниками кафедры пропедевтики стоматологических заболеваний ФГБОУ ВО «Московский медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России. Больные с ассоциацией

сахарного диабета типа 2 и хроническим пародонтитом проходили лечение на базе кафедры эндокринологии и диабетологии того же университета. Контрольная группа здоровых лиц формировалась из контингента, обращавшегося к стоматологам по поводу санации полости рта и обследованных впоследствии на кафедре эндокринологии и диабетологии того же университета для подтверждения отсутствия системной патологии. Состав исследуемых групп и план их обследования утверждены межвузовским этическим комитетом, все участники исследования подписали информированное согласие на обработку их персональных данных.

Принцип включения пациентов в исследование заключался в формировании максимально однородных групп, биологические образцы которых могли быть пулированы для метагеномного анализа. Группы исследования содержали примерно равное число некурящих мужчин и женщин в возрасте 45–65 лет. Стоматологический статус больных хроническим пародонтитом оценивался в соответствии с Международной классификацией заболеваний пародонта 2018 г. [11], все они имели среднетяжелое течение заболевания при генерализованном характере поражения, глубине пародонтальных карманов 4–6 мм, потере костной ткани вокруг зубов не более 1/3 длины корней, практическом отсутствии потери зубов, связанной с пародонтитом. Все пациенты, у которых диагностировался сахарный диабет типа 2, имели продолжительность заболевания от 3-х до 7 лет при его компенсированном течении, уровне глюкозы в крови ниже 7,8 ммоль/л и уровне гликированного гемоглобина ниже 7,5% [12].

Взятие биологического материала проводили утром натощак до использования зубной щетки и других средств гигиены. Материал из пародонтальных карманов/зубодесневой борозды забирался из 4-х сайтов на уровне вторых моляров с помощью стерильных бумажных эндодонтических зондов N 25, помещался затем в 0,2 мл физиологического раствора и хранился при –20° в лаборатории молекулярно-биологических исследований НИМСИ МГМСУ им. А.И. Евдокимова.

Тотальную ДНК из образцов зубного налета выделяли с использованием QIAamp DNA Investigator Kit (Qiagen) согласно инструкциям производителя. Библиотеку ампликонов для 16S метагеномного секвенирования методом дробовика готовили согласно протоколу 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation. Секвенирование библиотек и анализ полученных данных осуществляли с использованием генетического анализатора MiSeq (Illumina) и MiSeq Reagent Kit v2 согласно инструкциям производителя. Визуализацию результатов проводили с использованием программы MEGAN5 [13].

Для проведения таксономического анализа результатов секвенирования переменных участков гена 16S рРНК была применена биоинформационная платформа микробиома QIIME2 (Quantitative Insights into Microbial Ecology) [14] и база данных SILVA [15]. Выявление различий на уровне таксономических композиций проводилось путем дисперсионного анализа данных на основе теста PERMANOVA для микробных сообществ [16] из функционала QIIME2. Для выявления биоинформационных различий между группами на уровне предсказанных метаболических путей применяли статистический анализ метаболических профилей STAMP [17]. Графическая визуализация данных метагеномного анализа проводилась с использованием программно-обеспеченных GNU/R [18] и «vegan» пакета [19].

**Результаты.** Для клинико-лабораторной оценки изменения таксономического состава микробиоты в группах исследования при работе с полученной базой данных проводили поэтапный биоинформационный анализ, результаты которого показаны на рис. 1. При этом при построении модели таксономических различий между группами исследования использовались так называемые балансы дендрограммы (CoDa dendrogram) [20]. Эта модель позволяет описать интенсивность таксономических изменений при перемещении профилей метагеномов от здорового состояния (контроль) к патологии, в нашем случае – к хроническому пародонтиту и далее к хроническому пародонтиту, ассоциированному с сахарным диабетом типа 2.

Как следует из представленной дендрограммы, из всего многообразия семейств бактерий, обитающих в полости рта и входящих в состав биопленки пародонтальных карманов/зубодесневой борозды, наибольшее представительство приходится на 10 семейств, которые регистрировались во всех случаях, но с разной частотой встречаемости в группах. Баланс В1 позволяет довольно четко разграничивать состав микробиомов группы здоровых людей и больных хроническим пародонтитом, ассоциированным с сахарным диабетом типа 2.

Эта группа была связана с относительным ростом представительства пяти бактериальных семейств, таких как *Campylobacteraceae*, *Fusobacteriaceae*, *Porphyromonadaceae*, *Prevotellaceae*, *Spirochaetaceae*, а относительное содержание бактерий семейств *Streptococcaceae*, *Pasteurellaceae*, *Neisseriaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Leptotrichiaceae* уменьшалось. Здоровое состояние тканей пародонта (контрольная группа) характеризовалось прямо противоположным образом. Группа хронического пародонтита без сопутствующей системной патологии занимала пограничное положение между двумя другими группами.

Кроме того, балансы В2 и В3 показывают, что семейства, включающие пародонтопатогенные бактерии *Prevotellaceae* и *Spirochaetaceae*, больше связаны с группой хронического пародонтита, ассоциированного с сахарным диабетом типа 2, чем с группой только хронического пародонтита, а семейства *Porphyromonadaceae*, *Fusobacteriaceae*, *Campylobacteraceae* с большей частотой отмечены при хроническом пародонтите без сопутствующей патологии.

Полученные данные согласуются с известными положениями о значимой роли пародонтопатогенных видов бактерий *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Fusobacterium periodonticum*, *Campylobacter (Wolinella) rectus*, являющихся представителями указанных семейств, определенных в нашей работе как зона повышенного риска [23, 24, 27, 30, 31].

При использовании 16S секвенирования появляется также возможность охарактеризовать роль микробиома в метаболизме пародонтальных тканей. Таксономические различия в метагеномах разных групп исследования ассоциированы с различиями в функциональном потенциале микробных сообществ (рис. 2). Оценка результатов, полученных в результате определения состояния метаболических реакций в пародонте с участием микробиома, проводилась в сравнительном аспекте: путем сопоставления групп «хронический пародонтит – контроль», «хронический пародонтит + сахарный диабет типа 2 – контроль», «хронический пародонтит + сахарный диабет типа 2 – хронический пародонтит».

При сравнении групп «хронический пародонтит – контроль» основные различия касались обмена аминокислот и энергетического обмена. В группе хронического пародонтита был снижен уровень обмена таких аминокислот как цистеин, метионин (ko00270), гистидин (ko00340), а также наблюдалось относительное снижение роли метаболических путей серы (ko00920) и глицеролипидов (ko00561).

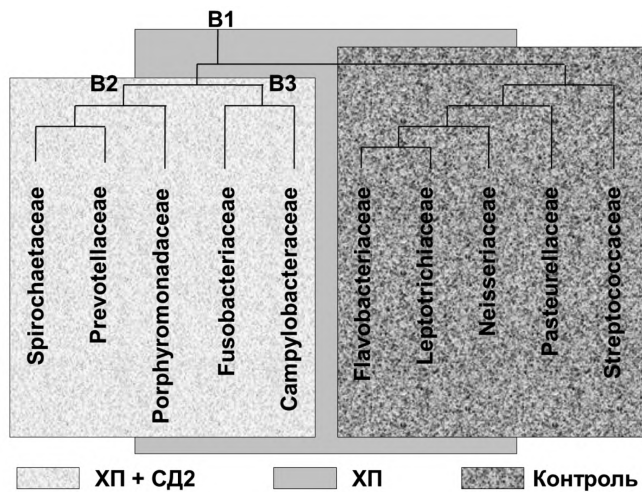


Рис. 1. Балансы дендрограммы преимущественного таксономического состава микробиоты в группах исследования (XП – хронический пародонтит, СД2 – сахарный диабет типа 2).

Группа хронического пародонтита в сочетании с сахарным диабетом типа 2 и контрольная группа различались по гораздо большему числу метаболических признаков, причем совершенно иных, чем те, которые были выявлены при предыдущем сопоставлении. Единственный признак, который отличал от контроля наличие хронического пародонтита вне зависимости от сопутствующей патологии – это снижение метаболизма глицеролипидов. Этот результат показывает, что метаболизм микробиома при хроническом пародонтите, ассоциированном с сахарным диабетом типа 2, принципиально отличается от метаболизма микробиома в отсутствие сопутствующей патологии.

Наиболее отчетливо эти особенности регистрировались при сравнении двух групп хронического пародонтита между собой. Были выявлены 5 метаболических путей, по которым отмечалось подобное различие. Группа «хронический пародонтит + сахарный диабет типа 2» характеризовалась повышенным метаболизмом цистеина и метионина (ko00270), снижением метаболизма пиримидина (ko00240), метаболизма метана (ko00680), биосинтеза жирных кислот (ko00061) и метаболизма сфинголипидов (ko00600). Снижение метаболизма, присущего стафилококковой инфекции, в данном случае не рассматривалось, как не связанное с этиологией хронического пародонтита.

**Обсуждение.** В настоящее время накоплено достаточно примеров использования метагеномного анализа для выявления особенностей микробиома при сочетании заболеваний пародонта и сахарного диабета типа 2 у человека. Осуществлена попытка выявить особенности

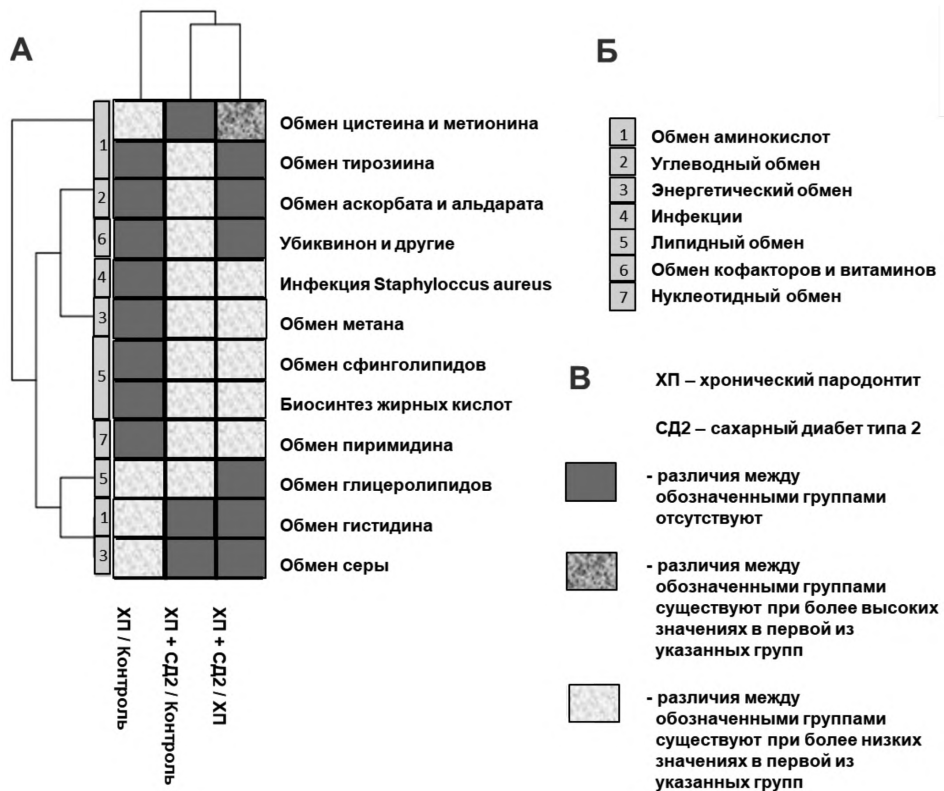


Рис. 2. Межгрупповые различия в метаболическом профиле микробиома пародонтальных карманов/зубодесневой борозды: А – график межгрупповых различий; Б – природа метаболических реакций; В – условные обозначения.

микробиома пожилых людей, позволяющие установить его взаимосвязь с развитием сахарного диабета. Результаты тестирования слюны оказались довольно скромными с практической точки зрения и были ограничены констатацией наличия такой взаимосвязи [21]. Еще одна работа практической направленности была посвящена изучению влияния ожирения на состав и разнообразие микробиоты полости рта у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. На примере бактерий, принадлежащих различным типам, была показана высокая вероятность такого влияния вне зависимости от гликемического контроля [22].

Описан ряд интересных наблюдений [9]. Авторы подчеркивают зависимость изменений в составе идентифицированных типов бактерий от гликемического статуса и стадии заболевания пародонта, хотя вопрос о том, какой из этих факторов послужил основной причиной изменений, так и остался неразрешенным. В другой работе, используя метагеномное секвенирование методом дробовика, исследователи дали оценку изменениям поддесневого микробиома, связанным с пародонтитом при сахарном диабете типа 2, таким как дисбиоз, потенциально обусловленный нарушением метаболической и иммунной регуляции со стороны хозяина [10].

Проведенный нами анализ таксономического состава показал, что при ассоциации хронического пародонтита с сахарным диабетом типа 2 наблюдается отчетливое преобладание прокариот, относящихся к семействам *Prevotellaceae* и *Spirochaetaceae*, хотя интерпретировать преобладание отдельных таксонов именно этих семейств пока довольно сложно.

Полученные данные по особенностям метаболизма микробиома пародонтальных карманов у больных хроническим пародонтитом, ассоциированным с сахарным диабетом типа 2, свидетельствуют о значительной роли сдвигов со стороны обмена аминокислот, нуклеотидов, энергетического обмена, метаболизма липидов.

Установленный рост обмена цистеина может быть связан со способностью ключевого пародонтопатогена *Porphyromonas gingivalis* продуцировать такой патогенетический фактор как цистеиновые протеазы – гингипаины [23]. К настоящему времени экспериментально доказана способность гингипаинов при их распространении в составе наружных мембранных везикул как к местному воздействию, так и системному влиянию на тканевой метаболизм, ведущему к изменению метаболизма глюкозы в печени и прогрессированию сахарного диабета [24].

Снижение метаболизма пиримидина с участием микробиоты полости рта, по нашим данным, является довольно характерным признаком особенностей хронического пародонтита, ассоциированного с сахарным диабетом типа 2. Пиримидин является агонистом рецептора GR119, связанного с гипогликемическим воздействием и протекторным эффектом в отношении  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, что позволяет даже рекомендовать производные пиримидина в качестве лечебных средств при сахарном диабете типа 2 [25]. Снижение метаболизма пиримидина у микробиома тканей пародонта может служить маркером связи пародонтита с сахарным диабетом, а возможно, и одним из многочисленных элементов патогенеза сахарного диабета типа 2, особенно, если предположить распространение пародонтопатогенов и их патогенетических факторов за пределы пародонта.

В составе микробиоты полости рта человека, в том числе и при хроническом пародонтите, значительно место занимают представители группы археев – метанообразую-

щих прокариот [26]. Их роль при заболеваниях пародонта связана со способностью к симбиозу с пародонтопатогенами, например, с *Prevotella intermedia*, транспортирующего археям водород, необходимый для синтеза метана [27]. Снижение метаболизма метана при наличии сопутствующего сахарного диабета тип 2 может оказаться важным признаком качественных изменений энергетического обмена микробиома при данной патологии в виде снижения в нем роли метанообразующих археев, несмотря на отмеченное нами возрастание в составе биопленки представительства бактерий семейства *Prevotellaceae*.

Что касается установленного нами снижения способности микробиома к синтезу жирных кислот, то другими авторами было показано, что липидный профиль тканей пародонта в виде свободных жирных кислот определяет уровень местных воспалительных реакций при инфекционно-воспалительных заболеваниях пародонта. Экспериментально установлено, что насыщенные жирные кислоты, продуцируемые пародонтопатогенами, в отличие от ненасыщенных жирных кислот, индуцируют воспалительные реакции путем стимуляции секреции провоспалительных цитокинов фибробластами десны, а также усиливают резорбцию альвеолярной кости, то есть способствуют развитию явлений пародонтита [28]. Эти данные входят в противоречие с нашими результатами по зарегистрированному снижению синтеза жирных кислот микробиомом пародонта на фоне роста доли пародонтопатогенных бактерий в составе микробиома при ассоциации хронического пародонтита и сахарного диабета типа 2.

Вызывает интерес нарушение обмена сфинголипидов. Особенностью этой группы липидов является их участие в формировании клеточных рецепторов, определяющих чувствительность к инсулину [29]. Что касается возможной роли бактерий в продукции сфинголипидов, то у пародонтопатогенов (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*) отмечена выраженная способность продуцировать сфинголипиды и их разновидность – керамиды [30]. Учитывая эти свойства пародонтопатогенов, особых комментариев заслуживает зарегистрированный нами феномен достоверного снижения метаболизма сфинголипидов у бактерий в группе хронического пародонтита в ассоциации с сахарным диабетом при том, что количество пародонтопатогенов в случае такой ассоциации явно возрастает.

В качестве объяснения установленным феноменам, ассоциированным с липидным обменом, можно предложить гипотезу о снижении роли ключевых пародонтопатогенов в этом метаболическом процессе вследствие их своеобразного «экранирования», связанного с их интернализацией внутрь клеток пораженного пародонта, которая предположительно усиливается при сопутствующей системной патологии, в том числе и при сахарном диабете типа 2.

Способность *P. gingivalis* к внутриклеточной персистенции следует рассматривать в контексте эпидемиологической и патогенетической связи между пародонтитом и системными заболеваниями, а присутствие жизнеспособного *P. gingivalis* внутри макрофагов может быть достаточным для того, чтобы позволить этому микроорганизму использовать миграционный потенциал макрофагов для перемещения в другие органы и ткани [31]. При этом меняются свойства самих макрофагов: усиливаются процессы перекисного окисления липидов, появляется способность вместо продукции провоспалительных цитокинов осуществлять секрецию цитокинов иммуносупрессорного действия [32 – 34]. Дополнительным основанием для раз-

вития этой точки зрения послужили и данные наших предыдущих исследований цитокинового профиля слюны при ассоциации хронического пародонтита и сахарного диабета типа 2 [35].

**Заключение.** В результате проведенных исследований установлено, что таксономический состав микробиома зубодесневой борозды, определенный с помощью 16S секвенирования и его биоинформационного сопровождения, довольно четко позволяет провести грань между состоянием здоровья полости рта и хроническим пародонтитом, ассоциированным с сахарным диабетом типа 2, что имеет существенное клинико-лабораторное и дифференциально-диагностическое значение. Ассоциация заболеваний пародонта с системной патологией, в частности, с сахарным диабетом типа 2, существенно влияет не только на таксономию микробного пейзажа, но и на его метаболизм, что важно в прогностическом аспекте. Полученные данные открывают возможности по формированию на основе таксономических и метаболических характеристик микробиома субгингивальных тканей системы биомаркеров, которая позволит решать вопросы о первичной или вторичной роли изменений микробиоты при различных патологических состояниях и намечать стратегии их лечения и предупреждения.

#### ЛИТЕРАТУРА (пп. 4 – 35 см. REFERENCES)

1. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: в 2 томах. Учебник. Зверев В.В., Бойченко М.Н., ред. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016. <http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970436417.html>.
2. Червинец В.М., Червинец Ю.В., Леонтьева А.В., Козлова Е.А., Стулов Н.М., Беляев В.С., Григорьянц Э.О., Миронов А.Ю. Микробиом полости рта у больных пародонтитом, адгезивные и биопленкообразующие свойства. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 1(66): 45-51.
3. Микробиология, вирусология, иммунология полости рта. Учебник. 2-е изд. Царев В.Н., ред. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2019. DOI:10.33029/9704-5-55-0-MVI-2019-1-720.

#### REFERENCES

1. Medical Microbiology, Virology and Immunology: in 2 volumes. Textbook. Zverev V.V., Boychenko M.N., eds. Moscow: GEOTAR-Media; 2016. <http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970436417.html>. (in Russian)
2. Chervinets V.M., Chervinets Yu.V., Leontieva A.V., Kozlova E.A., Stulov N.M., Belyaev V.S., Grigoryants E.O., Mironov A.Y. Oral microbiome in patients with periodontitis, adhesive and biofilm-forming properties. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2021; 1(66): 45-51. (in Russian)
3. Oral Microbiology, Virology, Immunology. Textbook. 2<sup>nd</sup> ed. Tsarev V.N., ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2019. DOI:10.33029/9704-5-55-0-MVI-2019-1-720. (in Russian)
4. Bui F.Q., Almeida-da-Silva C.L.C., Huynh B., Trinh A., Liu J., Woodward J. et al. Association between periodontal pathogens and systemic disease. *J. Biomed. Sci.* 2019; 42(1): 27-35.
5. Graves D.T., Correa J.D., Silva T.A. The Oral Microbiota Is Modified by Systemic Diseases. *J. Dent. Res.* 2019; 98(2): 148-56.
6. Glurich I., Acharya A. Updates from the evidence base examining association between periodontal disease and type 2 diabetes mellitus: Current status and clinical relevance. *Curr. Diab. Rep.* 2019; 19(11): 121.
7. Perez-Losada F.L., Jane-Salas E., Sabater-Recolons M.M., Estrugo-Devesa A., Segura-Egea J.J., López-López J. Correlation between periodontal disease management and metabolic control of type 2 diabetes mellitus. A systematic literature review. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* 2016; 21(4): e440-6.
8. Sanz M., Ceriello A., Buysschaert M., Chapple I., Demmer R.T., Graziani F. et al. Scientific evidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International Diabetes Federation and the European Federation of Periodontology. *J. Clin. Periodontol.* 2018; 45(2): 138-49.
9. Matsha T.E., Prince Y., Davids S., Chikte U., Erasmus R.T., Kengne A.P. et al. Oral microbiome signatures in diabetes mellitus and periodontal disease. *J. Dent. Res.* 2020; 99(6): 658-65.
10. Shi B., Lux R., Klokkevold P., Chang M., Barnard E., Haake S. et al. The subgingival microbiome associated with periodontitis in type 2 diabetes mellitus. *ISME J.* 2020; 14(2): 519-30.

11. Graetz C., Mann L., Krois J., Salzer S., Kahl M., Springer C. et al. Comparison of periodontitis patients' classification in the 2018 versus 1999 classification. *J. Clin. Periodontol.* 2019; 46(9): 908-17.
12. Davies M.J., D'Alessio D.A., Fradkin J., Kernan W.N., Mathieu C., Mingrone G. et al. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes, 2018. A Consensus Report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care.* 2018; 41(12): 2669-701.
13. Huson D.H., Mitra S., Ruscheweyh H.J., Weber N., Schuster S.C. Integrative analysis of environmental sequences using MEGAN4. *Genome research.* 2011; 21(9): 1552-60.
14. Callahan B.J., McMurdie P.J., Rosen M.J., Han A.W., Jonson A.J.A., Holmes S.P. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat. Methods.* 2016; 13(7): 581-3.
15. Quast C., Pruesse E., Yilmaz P., Gerken J., Schweer T., Yarza P. et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res.* 2013; 41: 590-6.
16. Tang Z.Z., Chen G., Alekseyenko A.V. PERMANOVA-S: association test for microbial community composition that accommodates confounders and multiple distances. *Bioinformatic.* 2016; 32(17): 2618-25.
17. Parks D.H., Tyson G.W., Hugtholtz P., Beiko R.G. STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles. *Bioinformatics.* 2014; 30(21): 3123-4.
18. Vogel T.M., Simonet P., Jansson J.K., Hirsch P.R., Tiedje J.M., van Elsas J.D. et al. TerraGenome: a consortium for the sequencing of a soil metagenome. *Nat. Rev. Microbiol.* 2009; 7: 252.
19. Oksanen J., Blanchet G.F., Kindt R., Legendre P., Minchin P.R., O'hara R.B. et al. Package 'vegan'. *Community Ecology Package*, version 2.9, 2013: 1-295.
20. Pawlowsky-Glahn V., Egozcue J.J. Exploring compositional data with the CoDa-dendrogram. *Austrian J. Statistics.* 2011; 40 (1-2): 103-13.
21. Ogawa T., Honda-Ogawa M., Ikebe K., Notom Y., Iwamoto Y., Shirobayashi I. et al. Characterizations of oral microbiota in elderly nursing home residents with diabetes. *J. Oral Sci.* 2017; 59(4): 549-55.
22. Tam J., Hoffmann T., Fischer S., Bornstein S., Grabler J., Noack B. Obesity alters composition and diversity of the oral microbiota in patients with type 2 diabetes mellitus independently of glycemic control. *PLoS One.* 2018; 13(10): e0204724.
23. Benedyk M., Mydel P.M., Delaleu N., Plaza K., Gawron K., Milewska A. et al. Gingipains: critical factors in the development of aspiration pneumonia caused by *Porphyromonas gingivalis*. *J. Innate Immun.* 2016; 8(2): 185-98.
24. Seyama M., Yoshida K., Yoshida K., Fujiwara N., Ono K., Eguchi T. et al. Outer membrane vesicles of *Porphyromonas gingivalis* attenuate insulin sensitivity by delivering gingipains to the liver. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2020; 1866(6): 165731.
25. Fang Y., Xu J., Li Z., Yang Z., Xiong L., Jin Y. et al. Design and synthesis of novel pyrimido[5,4-d]pyrimidine derivatives as GPR119 agonist for treatment of type 2 diabetes. *Bioorg. Med. Chem.* 2018; 26(14): 4080-7.
26. Nguyen-Hieu T., Khelaifia S., Aboudharam G., Drancourt M. Methanogenic archaea in subgingival sites: a review. *APMIS.* 2013; 121(6): 467-77.
27. Horz H.P., Robertz N., Vianna M.E., Henne K., Conrads G. Relationship between methanogenic archaea and subgingival microbial complexes in human periodontitis. *Anaerobe.* 2015; 35(Pt A): 10-2.
28. Shikama Y., Kudo Y., Ishimaru N., Funaki M. Potential role of free fatty acids in the pathogenesis of periodontitis and primary Sjögren's syndrome. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18(4): 836-43.
29. Bergman B.C., Brozic J.T., Strauss A., Bacon S., Kerege A., Bui H.H. et al. Serum sphingolipids: relationships to insulin sensitivity and changes with exercise in humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2015; 309(4): 398-408.
30. Nichols F.C., Yao X., Bajrami B., Downes J., Finegold S.M., Kneel E. et al. Phosphorylated dihydroceramides from common human bacteria are recovered in human tissues. *PLoS ONE.* 2011; 6(2): e16771.
31. Li L., Michel R., Cohen J., Decarlo A., Kozarov E. Intracellular survival and vascular cell-to-cell transmission of *Porphyromonas gingivalis*. *BMC Microbiol.* 2008; 8: 26-36.
32. Fleetwood A.J., Lee M.K.S., Singleton W., Achuthan A., Lee M.C., O'Brien-Simpson N.M. et al. Metabolic remodeling, inflammasome activation, and pyroptosis in macrophages stimulated by *Porphyromonas gingivalis* and its outer membrane vesicles. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2017; 7: 351.
33. Ghurye J.S., Cepeda-Espinoza V., Pop M. Metagenomic Assembly: Overview, Challenges and Applications. *Yale J. Biol. Med.* 2016; 89(3): 353-62.
34. Takahashi N., Salijaya B., Yamada-Hara M., Tsuzuno T., Tabeta K., Yamazaki K. Gingival epithelial barrier: regulation by beneficial and harmful microbes. *Tissue Barriers.* 2019; 7(3): e1651158.
35. Balmasova I.P., Lomakin Y.A., Babaev E.A., Tsarev V.N., Gabibov A.G., Smirnov I.V. et al. «Shielding» of cytokine induction by the periodontal mivcriobium in patients with periodontitis associated with type 2 diabetes mellitus. *Acta Naturae.* 2019; 11(4): 79-87.