**Метагеномный и сравнительный анализ черного и белого зубного налета у взрослых**

**Введение**

Микробиом полости рта является вторым по сложности микробиомом после кишечника. По некоторым оценкам в состав микробиома полости рта входят 687 видов бактерий [1,2\*]. Различные участки полости рта, такие как поверхность зубов, миндалин, язык, мягкое и твердое небо, слизистая оболочка губ и щек имеют специфические микробные сообщества, а микробиом слюны представляет собой комплекс микробиомов всех перечисленных зон [3\*]. В здоровом состоянии зубной налет на поверхности зубов и по краю десны считается одним из самых стабильных и разнообразных микробных сообществ во рту [4\*].

Зубной налет представляет собой «микробное сообщество, которое развивается в виде структурно и функционально организованной биопленки на поверхности зуба, встроенной в матрицу полимеров бактериального происхождения и слюны организма-хозяина» [5\*]. Недавние достижения в высокопроизводительном секвенировании и метагеномике позволили глубже понять микробный состав зубного налета у здоровых людей. По данным исследований в наддесневом зубном налете обычно обнаруживаются десять ведущих родов (численность >1%): Streptococcus, Veillonella, Granulicatella, Fusobacterium, Neisseria, Campylobacter, Gemella, Abiotrophia, Selenomonas и Capnocytophaga [6\*]. При совместном анализе микробиомов над- и поддесневого зубного налета было описано одиннадцать родов с относительной численностью более 2%: Streptococcus, Veillonella, Prevotella, Neisseria, Fusobacterium, Actinomyces, Leptotrichia, Corynebacterium, Capnocytophaga, Rothia и Porphyromonas [7\*].

Хорошо известно, что изменения в составе и структуре микробиома полости рта связаны с такими заболеваниями, как кариес, заболевания пародонта и одонтогенные инфекции [3,8\*]. Согласно гипотезе «краеугольного камня - патогена» Гаджишенгаллиса, заболевания полости рта возникают как следствие нарушений микробиома полости рта, инициированных малочисленными патогенами и в конечном итоге приводящих к экологическому дисбалансу или дисбактериозу [9\*]. Было замечено, что экологический сдвиг в зубном налете приводит к развитию кариеса, ввиду чего несколько недавних исследований были сосредоточены на изучении изменений микробиома зубного налета у людей с кариесом [6,10,11,12\*].

Авторы настоящего исследования предполагают, что подобные изменения могут способствовать образованию черного зубного налета (Black Stain, BS). Точное происхождение и природа таких микробных изменений в настоящее время остаются неясными [13\*]. Черный зубной налет (BS) считается особым типом зубного налета, образованным микроорганизмами в пределах органической матрицы и характеризующимся образованием прочно прикрепленных к эмали точек или черных линий, расположенных параллельно десневому краю зубов [14,15\*]. В основном BS обнаруживается у детей, но также может наблюдаться и у взрослых. Распространенность BS у взрослых составляет от 1 до 20% [16\*]. В настоящее время не существует специфической терапии, направленной на долгосрочную профилактику образования черного зубного налета, и для поддержания внешнего вида зубов пациентам с BS проводится регулярная профилактическая гигиена полости рта. Часть авторов описывает темный пигмент BS как черное нерастворимое соединение трехвалентного железа, образованное бактериями в зубном налете [17\*]. Указанные данные были недавно подтверждены Zhang et al., наблюдавших с помощью анализа ICP-MS более высокие уровни железа у пациентов с BS по сравнению с пациентами с белым зубным налетом [18\*]. Согласно исследованиям, микробиологический анализ образцов черного зубного налета у детей выявил наличие и важность присутствия хромогенных бактерий, таких как Prevotella melaninogenica, Actinomyces israelii и Actinomyces naeslundii [19\*]. Применение методов ПЦР способствовало расширению знаний о бактериальном составе черного налета, однако до настоящего времени результаты остаются спорными. Saba и др. обнаружили преобладание Porphyromonas gingivalis, P.melaninogenica, Actinomyces spp и Aggregatibacter actinomycemcomitans в черном зубном налете, в то время как Li et al. выявили другое сообщество, состоящее из A.actinomycemcomitans, Prevotella intermedia, Cardiobacterium spp, Haemophilus spp, Corynebacterium spp, Tannerella spp и Treponema spp в качестве основных видов [20,21\*].

На данный момент существует только две публикации, в которых представлен анализ микробиома BS на основе подходов метагеномики. Примечательно, что в обоих исследованиях использовались образцы зубного налета, полученные у детей, и сообщалось о незначительных или отсутствующих различиях в разнообразии сообщества между образцами черного и белого зубного налета. Сообщалось о различиях в относительной численности таксонов: было обнаружено, что Actinomyces naeslundii более распространены в образцах BS, а Candidate\_division\_TM7 более распространены в образцах белого зубного налета [22\*]. Кроме того, важную роль в формировании пигмента на поверхности временных зубов, предположительно, играют Leptotrichia и Fusobacterium [23\*].

**Цель**

Целью исследования является описание микробного сообщества BS, сравнение таксономических профилей черного и белого налета у взрослых пациентов, а также разработка функциональной карты микробиома черного зубного налета у взрослых пациентов.

**Материалы и методы**

В данном исследовании проводился анализ образцов наддесневого зубного налета, полученных от 27 взрослых добровольцев, из них 18 образцов черного зубного налета и 9 образцов белого зубного налета. Для анализа образцов черного и белого зубного налета использовалась метагеномика 16S рРНК. Функциональная карта микробиома черного зубного налета составлена с использованием PICRUSt2.

**Результаты**

По данным исследования по сравнению с белым зубным налетом микробиом черного зубного налета оказался беднее по видовому разнообразию. Пятью наиболее многочисленными родами в образцах BS были Capnocytophaga, Leptotrichia, Fusobacterium, Corynebacterium и Streptococcus. Состав BS напоминает биопленку зрелого зубного налета с несколькими ключевыми отличиями – снижением численности Porphyromonas и Prevotella. Данный факт может объяснить отсутствие воспаления тканей десны и в целом более благоприятное состояние здоровья полости рта у пациентов с BS по сравнению с пациентами с белым зубным налетом. Выявлено снижение количества видов бактерий “желтого” и “красного” комплексов с одновременным увеличением характерных при состоянии здоровья полости видов.

По данным анализа PICRUSt2 между образцами черного и белого зубного налета выявлены значительные изменения в количестве функциональных путей.

Биосинтез гема и соединений железа может предшествовать образованию BS или быть неотъемлемой частью процесса образования в результате действия преобладающих родов.

**Вывод**

Подтвержденные данные о повышенном относительном количестве путей биосинтеза гема и содержании железа в BS позволяют предположить, что зависимая от гема секвестрация железа и последующий метаболизм могут играть роль в образовании BS. Дальнейшие исследования призваны расшифровать регуляцию генов биосинтеза гема, охарактеризовать временную последовательность, ведущую к колонизации и дисбактериозу, определить, будет ли путь биосинтеза гема являться мишенью для лечения.

\*Указатели ссылок в квадратных скобках соответствуют списку литературы в первоисточнике.