

**Эффективность применения метода обратной  
гибридизации днк для выявления  
пародонтопатогенных бактерий**

Плахтий Л.Я., Царев В.Н., Рындина Е.И.,  
Бекмурзова А.И., Лянова Д.К., Цаллагов А.К.  
*НИИ МБП ВНИЦ РАН и Правительства РСО-Алании,  
Владикавказ; Московский государственный  
медицинский стоматологический университет,  
Москва*

Цель исследования: сравнительное исследование метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) и классического бактериологического метода для выявления пародонтопатогенных микроорганизмов у больных с хроническим генерализованным пародонтитом.

Методы исследования: Выделение ДНК из клинического материала проводилось с помощью набора реагентов ЗАО «ВСМ». Для амплификации ДНК пародонтопатогенных бактерий использовали метод мультиплексной ПЦР, позволяющей использовать одновременно 4-6 перекрещивающихся праймеров нескольких возбудителей (Ashimoto A., et al, 1996). Маркерные пародонтопатогенные виды (по классификации ВОЗ) выявляли с помощью классического бактериологического исследования в анаэробных условиях (анаэрогат «Биомерье»).

Результаты и обсуждение: Проведено исследование состава бактериальной флоры пародонтального кармана у 36 пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом в возрасте от 18 до 65 лет. Оказалось, что ПЦР дает более высокое число положительных реакций по сравнению с традиционным бактериологическим методом. Так, *P. intermedia* бактериологическим методом идентифицировано у 14 пациентов (38,8%), а с помощью молекулярно-генетического метода – у 22 (61,1%). *P. gingivalis* бактериологическим методом идентифицировано у 11 пациентов (30,5%), а с помощью ПЦР – у 20 человек (55,6%), *A. actinomycetemcomitans* выявили у 8 пациентов (22,2%) бактериологическим методом, а молекулярно-генетическим – у 14 (38,9%). Кроме того, с помощью ПЦР удалось выявить маркеры *V. forsythii* и *T. denticola* у 21 пациента (58,3%) и 19 пациентов (52,7%) соответственно. При бактериологическом исследовании данные пародонтопатогенные виды бактерий ранее в отечественной лабораторной практике не определялись. Совпадение положительных результатов, детектируемых ПЦР и бактериологическим методом, наблюдалось в 19,4% случаев. Таким образом, идентичность результатов при использовании этих двух методов наблюдалась в 75% случаев. У 6 обследованных человек (16,7%) положительные результаты были получены только в ПЦР, у 3 (8,3%) – только с помощью бактериологического метода. Для проверки специфичности системы для обнаружения пародонтопатогенных бактерий с помощью ПЦР мы провели исследование образцов клинических штаммов *P. intermedia*, идентифицированных по культуральным и биохимическим свойствам. Выделенную из этих образцов ДНК амплифицировали и определяли видовую принадлежность методом обратной гибридизации. В результате установлено полное совпадение результатов с бактериологическим методом диагностики

Выводы: Использование ПЦР позволяет исправить неточности диагностики бактериологическим методом. Высокая специфичность и чувствительность системы для обнаружения пародонтопатогенных бактерий с помощью ПЦР позволяет быстро идентифицировать пациентов из группы риска и дает ценную информацию для выбора эффективного способа антибактериального лечения

**Ариабельность артериального давления и оценка  
морфофункционального состояния миокарда у  
больных артериальной гипертонией с ожирением**

Подземельников Е.В., Бизенков А.В.,  
Подземельников В.Е., Бизенкова Л.Л.

*Военно-медицинский институт, НИИ кардиологии  
МЗ РФ, Саратов*

Цель исследования - определение морфофункционального состояния миокарда и диагностика коронарной недостаточности у больных артериальной гипертонией (АГ) с ожирением в зависимости от variability артериального давления (ВАД). Обследовано 24 пациента с ожирением I степени и АГ II стадии (ВОЗ/МОАГ, 1999) без клинических проявлений ИБС в возрасте от 35 до 46 лет (в среднем 35,7 ± 5,4 г.). Всем проводились ЭХО КГ, чреспищеводная стимуляция предсердий (ЧПСП), холтер-мониторирование ЭКГ (ХМ ЭКГ), суточное мониторирование АД (СМАД) и определение динамики уровня сывороточного миоглобина (Мг). В зависимости от величин среднесуточной ВАД пациенты с АГ были разделены на две группы. При значениях variability САД и/или ДАД, превышающих 15 и/или 12 мм рт. ст. соответственно, ВАД расценивали как повышенную. Согласно полученным данным, ИММЛЖ в группе больных АГ с нормальными циркадными колебаниями АД был существенно ниже, чем в группе с повышенной ВАД (110,3 ± 3,1 и 125,3 ± 2,1 г/м<sup>2</sup> соответственно,  $p < 0,05$ ). ХМ ЭКГ в покое выявило бессимптомное смещение сегмента ST на 1 мм или более в течение 1 мин. или более у 3 (13%) пациентов. Частота эпизодов безболевого ишемии миокарда (БИМ) колебалась от 4 до 7 в течение суток, наиболее часто они возникали в период пробуждения, утренние и поздние вечерние часы. Глубина депрессии ST составляла от 1 до 2 мм (1,45 ± 0,07 мм). При сопоставлении с данными СМАД отмечалась прямая корреляция по времени большинства эпизодов БИМ с подъемами САД и variability АД. Установлено, что у 85% больных первой группы Мг не превышал границ нормы. Напротив, у 36% пациентов второй группы наблюдалось повышение Мг до 80-140 нг/мл. Это повышение Мг регистрировалось в 6-ти часовом интервале после эпизодов БИМ по данным ХМ ЭКГ или повышения САД по данным СМАД. ЭКГ признаки БИМ при ЧПСП выявлены у 1 (8,3%) из первой группы больных и у 3 (25%) - второй. Процент положительного результата ЧПСП возрастал параллельно с увеличением ИММЛЖ, наиболее высокий процент БИМ отмечен у лиц с концентрическим типом ГЛЖ. После ЧПСП при ХМ ЭКГ во всех группах возрастало как число случаев БИМ – 9 (37,5%), количество эпизодов (29), так и их суммар-

ная продолжительность (65 мин.), длительность депрессии сегмента ST прямо пропорционально коррелировала с ММЛЖ ( $r=0,88$ ,  $p<0,01$ ). Уровень Мг через 6-12 часов после ЧПСП повышался у больных с эпизодами БИМ или после резких подъемов САД, что позволяет связать эти повышения с ишемическим повреждением миокарда. При этом, группа больных с повышением Мг после ЧПСП достоверно отличалась количеством эпизодов БИМ (12,5 2,7 против 5,7 0,9,  $p<0,002$ ) и их продолжительностью (4,1 1,0 против 2,5 0,4 мин.,  $p<0,001$ ). Полученные данные свидетельствуют о клинической значимости гипертрофии ЛЖ в генезе развития коронарной недостаточности у больных артериальной гипертонией (АГ) с ожирением. Повышенная ВАД является независимым дополнительным фактором, способствующим повреждению миокарда у данных больных.

#### **Особенности субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток периферической крови при бруцеллезе**

Попов П.Н., Павлова О.М.  
*Ставрополь*

Рост заболеваемости, хроническое рецидивирующее течение, недостаточная эффективность существующих методов лечения и профилактики ставит бруцеллез в ряд наиболее актуальных проблем инфекционной патологии человека. Данные литературы свидетельствуют о ведущей роли в патогенезе бруцеллеза нарушений нейро-гуморальной регуляции, сосудисто-трансовой проницаемости, а также изменений ультраструктуры полиморфоядерных лейкоцитов, ведущих к незавершенности фагоцитоза бруцелл. В то же время многие аспекты иммунологических механизмов, лежащих в основе хронического течения бруцеллеза, до настоящего времени изучены недостаточно, что не позволяет в полной мере пользоваться иммунокорректирующей терапией в лечении этого заболевания.

В связи с этим нами был изучен субпопуляционный состав иммунокомпетентных клеток периферической крови у 30 больных острым и 30 больных хроническим бруцеллезом с использованием моноклональных антител к кластерам их дифференцировки.

Было установлено, что по сравнению со здоровыми донорами в периферической крови больных острым бруцеллезом наблюдается достоверное ( $p<0,001$ ) снижение абсолютного количества моноцитов ( $0,23\pm 0,02 \times 10^9/\text{л}$ ), CD3 ( $1,13\pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$ ) и CD4 лимфоцитов ( $0,80\pm 0,04 \times 10^9/\text{л}$ ), при одновременном увеличении количества CD16 лимфоцитов ( $0,17\pm 0,01 \times 10^9/\text{л}$ ) и CD21 ( $0,31\pm 0,02 \times 10^9/\text{л}$ ).

У больных хроническим бруцеллезом прогрессирует снижение абсолютного количества моноцитов ( $0,11\pm 0,02 \times 10^9/\text{л}$ ), CD3 ( $1,04\pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$ ) и CD4 лимфоцитов ( $0,71\pm 0,04 \times 10^9/\text{л}$ ) и сохраняется повышенное содержание CD21 лимфоцитов ( $0,26\pm 0,02 \times 10^9/\text{л}$ ,  $p<0,001$ ). В то же время, в отличие от больных острым бруцеллезом у больных хроническим наблюдается достоверное снижение абсолютного количества нейтрофилов ( $2,61\pm 0,16 \times 10^9/\text{л}$ ) и CD8 лимфоцитов

( $0,19\pm 0,02 \times 10^9/\text{л}$ ), при нормальном количестве CD16 лимфоцитов ( $0,14\pm 0,01 \times 10^9/\text{л}$ ).

Таким образом, полученные данные позволяют утверждать, что у больных острым бруцеллезом наблюдается повышение активности неспецифической реактивности организма за счет естественных киллеров. В то же время у этих пациентов отмечается снижение активности Т-клеточного иммунитета за счет снижения количества Т-хелперов и нарушение дифференцировки зрелых В-лимфоцитов в плазматические клетки, на что указывает увеличение их количества в периферической крови. В процессе хронизации бруцеллеза снижение активности Т-клеточного иммунитета, как и нарушение дифференцировки В-лимфоцитов, прогрессирует. При этом у больных хроническим бруцеллезом наблюдается снижение неспецифической реактивности иммунной системы, на что указывает снижение количества нейтрофилов и естественных киллеров по сравнению с больными острым бруцеллезом.

#### **Особенности обмена отдельных цитокинов при бруцеллезе**

Попов П.Н., Павлова О.М.  
*Ставрополь*

Открытие биологически активных веществ – цитокинов, регулирующих пролиферацию и уровень функциональной активности клеток как в норме, так и при патологии, позволяет с новых позиций оценить механизм формирования воспалительных реакций, аллергических и иммунных состояний и разработать схемы патогенетической иммунной коррекции заболевания. Между тем, в доступной литературе роль нарушений обмена цитокинов при бруцеллезе, в том числе отражающих активность макрофагов, ведущая роль которых при этой инфекции была показана в большом количестве научных исследований, не получила достаточного освещения.

В связи с этим нами была изучена в изолированной культуре мононуклеарных клеток периферической крови *in vitro* у 20 больных острым и 20 больных хроническим бруцеллезом спонтанная и стимулированная ФГА продукция фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО $\alpha$ ) как цитокина, отражающего прямую цитотоксичность макрофагов и интерлейкина  $1\beta$  (ИЛ $1\beta$ ) как цитокина характеризующего активность макрофага на этапе активации Т-хелпера.

Уровень спонтанной продукции ФНО $\alpha$  в норме составляет  $1187\pm 30,63$  пкг/мл, у больных острым бруцеллезом отмечается достоверное увеличение продукции этого цитокина ( $2602\pm 199,4$  пкг/мл,  $p<0,001$ ), при хроническом бруцеллезе продукция ФНО $\alpha$  от нормы не отличается ( $1050\pm 90,13$  пкг/мл).

Продукция стимулированной продукции ФНО $\alpha$  в норме составляет  $3366\pm 237,3$  пкг/мл, у больных острым бруцеллезом продукция ФНО $\alpha$  возрастает почти в два раза, что составляет ( $5003\pm 199,6$  пкг/мл,  $p<0,001$ ).

Продукция ИЛ $1\beta$  в норме составляет  $156,1\pm 8,10$  пкг/мл, у больных острым бруцеллезом отмечается