

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПЕРСИСТЕНЦИИ *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* В СИНОВИАЛЬНОЙ ОБОЛОЧКЕ СУСТАВОВ

Белорусская медицинская академия последипломного образования,
г. Минск

В основу существующих классификаций заболеваний суставов положен клинико-анатомический признак, согласно которому все поражения суставов разделяются на две большие группы: воспалительные (артриты) и невоспалительные (дегенеративно-дистрофические, или артрозы) заболевания суставов. В настоящее время общепризнано, что *Chlamydia trachomatis* является одним из основных триггеров при ревматоидном артрите. Имеются также немногочисленные сообщения об обнаружении в суставах жизнеспособных *C. trachomatis*, но с измененными биологическими свойствами [1]. Молекулярно-биологические методы исследования, в том числе полимеразная цепная реакция (ПЦР), широко используются в практическом здравоохранении, позволяют не только установить этиологию воспалительного процесса и оценить эффективность проведенного этиотропного лечения, но и получить диагностическую информацию о количественной нагрузке изучаемого возбудителя в биологическом материале [2]. В настоящее время особое внимание исследователей стали привлекать методы амплификации РНК, к которым относится транскрипционный метод ампли-

фикации, в ходе которого определяется РНК рибосом микроорганизмов, при этом данный метод является наиболее чувствительным по сравнению с классической ПЦР и позволяет определять жизнеспособные формы данного возбудителя [3].

Цель исследования: определить значения концентраций ДНК *S. trachomatis* и оценить наличие жизнеспособных форм данного возбудителя в различном биологическом материале пациентов с воспалительными и невоспалительными заболеваниями суставов.

Материалы и методы

В исследование были включены 200 пациентов с воспалительными и невоспалительными заболеваниями суставов, группу контроля составили 40 практически здоровых лиц. Пациенты были разделены на следующие группы: группа 1 — пациенты с ревматоидным артритом ($n = 40$), группа 2 — пациенты с реактивным артритом ($n = 40$), группа 3 — пациенты с псориатическим артритом ($n = 40$), группа 4 — пациенты с подагрическим артритом ($n = 40$), группа 5 — пациенты с остеоартрозом ($n = 40$), группа 6 — контрольная группа. Отбор пациентов проводился в соответствии с критериями включения и исключения пациентов из исследования. Средний возраст пациентов на момент включения в исследование составил $55,9 \pm 12,3$ лет, продолжительность заболевания — $18,7 \pm 12,0$ недель. В группу контроля практически здоровых лиц были включены 20 женщин и 20 мужчин, средний возраст которых составил $42,5 \pm 7,1$ года.

Проведение молекулярно-биологических исследований по определению концентраций ДНК *S. trachomatis* в исследуемом биологическом материале осуществлялось с использованием разработанных калибраторов ДНК *S. trachomatis* в диапазоне концентраций от 10^2 до 10^5 копий/мл и гена *NAGK* человека в этих же концентрациях для стандартизации исследований. Оценка наличия жизнеспособных форм возбудителя *S. trachomatis* проводилась методом транскрипционной амплификации в режиме реального времени с использованием тест-систем АмплиСенс *S. trachomatis*-РИБОТЕСТ (производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, РФ).

Статистическая обработка проводилась при помощи стандартного статистического пакета программ «SPSS версия 16» (SPSS Inc.). Для количественных параметров, распределение которых не подчинялось нормальному закону (при использовании критерия Колмогорова–Смирнова), вычислялись медиана Me и (25/75) процентиля. Для решения задачи сравнения двух независимых групп количественных переменных применялся критерий Манна–Уитни (U-тест). Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез принят уровень $p < 0,05$ [4].

Результаты и обсуждение

Выявление ДНК *S. trachomatis* в соскобах эпителиальных клеток из урогенитального тракта обследуемых групп пациентов проводилось мето-

дом ПЦР-РВ. При этом установлено, что возбудитель выявлялся в 52,5 % (n = 21) пациентов группы 1; 75 % (n = 30) группы 2; 7,5 % (n = 3) группы 3; 5 % (n = 2) группы 4; 2,5 % (n = 1) группы 5 и 5 % (n = 2) группы 6. При проведении аналогичных исследований в образцах синовиальной жидкости возбудитель выявлялся в 32,5 % (n = 13) пациентов группы 1 и 85,5 % (n = 33) группы 2 и не выявлялся в биологическом материале пациентов 3–6 групп.

Проведение ПЦР-исследований с количественным форматом детекции проводилось в биологическом материале пациентов, у которых методом ПЦР-РВ была выявлена ДНК *S. trachomatis*.

При сравнении концентрационных уровней возбудителя в соскобах эпителиальных клеток и синовиальной жидкости пациентов исследуемых групп были получены следующие данные: для группы 1 значение Me (25/75 процентиля) составило 6,4 (5,8/7,5)×10⁴ и 1,5 (1,1/2,1)×10⁴ копий/мл, для группы 2 — 7,0 (6,2/8,3)×10⁴ и 3,3 (2,6/3,9)×10⁴ копий/мл соответственно. Концентрации ДНК *S. trachomatis* в соскобном материале пациентов группы 3 (n = 3) составили 2,9×10⁴, 3,6×10⁴, 2,8×10⁴ копий/мл, группы 4 (n = 2) — 2,3×10⁴, 3,1×10⁴ копий/мл, группы 5 (n = 1) — 2,5×10⁴ копий/мл, группы 6 (n = 2) — 2,8×10⁴, 3,1×10⁴ копий/мл.

При проверке гипотезы о достоверности полученных результатов по определению концентраций ДНК *S. trachomatis* в соскобах эпителиальных клеток урогенитального тракта и образцах синовиальной жидкости пациентов с использованием критерия Манна–Уитни было установлено следующее: для групп 1–2 Z = -2,381, p = 0,017 и Z = -5,840, p = 0,000 соответственно, что указывает на достоверность полученных различий концентраций. Сравнение по данному параметру между другими группами является невозможным в связи с недостаточностью выборки.

Из 59 образцов соскобов эпителиальных клеток из урогенитального тракта, положительных в отношении *S. trachomatis*, только 84,7 % (n = 50) характеризовалось наличием жизнеспособных форм возбудителя, тогда как 100 % (n = 46) образцов синовиальной жидкости содержали рРНК данного патогена.

Полученные нами данные достоверно (точный критерий Фишера, p = 0,0003) свидетельствуют о том, что возбудитель *S. trachomatis*, находясь в эпителии урогенитального тракта, способен проникать в полость сустава, не теряя при этом способности к репликации, и оказывать свое патогенное действие, персистируя в полости сустава.

Выводы

Концентрации ДНК *S. trachomatis* статистически достоверно различаются в зависимости от вида исследуемого биологического материала, а также нозологической формы заболевания. Определение генетических маркеров жизнеспособности *S. trachomatis* в синовиальной жидкости па-

циентов с артропатиями дает возможность установить, что «занос» данного возбудителя в полость сустава осуществляется гематогенным путем из урогенитального очага, что служит подтверждением ее инфицирования даже в тех случаях, когда данный патоген не обнаруживается в урогенитальном тракте.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ивашкин, В. Т.* Болезни суставов. Пропедевтика, дифференциальный диагноз, лечение / В. Т. Ивашкин, В. К. Султанов. М. : Литтера, 2005. 544 с.
2. *Полуян, О. С.* Генетические маркеры жизнеспособности *Chlamydia trachomatis* при артропатиях / О. С. Полуян, С. А. Костюк, Н. А. Мартусевич // Медицинские новости. 2010. № 9. С. 96–100.
3. *Полуян, О. С.* Реакция транскрипционной амплификации как новый этап в развитии технологий клинико-лабораторного молекулярно-биологического исследования / О. С. Полуян, С. А. Костюк, Т. В. Глинкина // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2011. № 3. С. 119–123.
4. *Наследов А. Д.* SPSS 15: профессиональный статистический анализ данных. СПб. : Питер, 2008. 416 с.

Poluyan O. S., Kostiuk S. A.

Molecular genetic markers of *Chlamydia trachomatis* persistence in synovial joints shell

In the course of verified molecular-biological researches of the biological material (urogenital tract epithelial cells swabs and synovial fluid samples) of the patients with inflammatory and non-inflammatory arthritis there were determined the *Chlamydia trachomatis* DNA' values and also it was done the estimation of this pathogen's viable forms presence in different biological material of the examined patients.