

ОСОБЕННОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНИТЕТА И МИКРОБИОТЫ ПОЛОСТИ РТА У ДЕТЕЙ С ПАТОЛОГИЕЙ ГЛОТОЧНОЙ МИНДАЛИНЫ

Алексеева Ю.А.¹, Самоукина А.М.¹, Андреева О.В.¹

¹ФГБОУ ВО «Тверской ГМУ» Минздрава России, Тверь, e-mail: anna_samoukina@mail.ru

В результате проведенного исследования выявлены информативно значимые биомаркеры микробиоты полости рта, отражающие риск снижения уровня здоровья у детей с патологией глоточной миндалины. Проведено бактериологическое и молекулярно-генетическое исследование ротовой жидкости у 129 детей в возрасте от 6 до 12 лет с патологией глоточной миндалины. У детей III группы здоровья с хроническим аденоидитом вирусный компонент и бактериально-вирусные ассоциации встречались достоверно чаще по сравнению с детьми II группы здоровья. При наличии у реципиента бактериально-вирусных ассоциаций отмечена более выраженная реакция иммунной системы в виде повышения содержания в крови IgA, IgM, IgG на 24,6, 27,6 и 10,8% соответственно по сравнению с присутствием только вирусного компонента. Наличие представителей герпесвирусов в ротовой жидкости у детей с патологией глоточной миндалины отражает снижение резистентности организма и позволяет отнести таких детей к группе риска для обоснования системы мониторинга и коррекционно-оздоровительных мероприятий. Полученные данные свидетельствуют о процессах формирования «механизма взаимодействия» между макроорганизмом и его нормо- или патомикробиотой, реализующегося через инфекционный процесс и иммунную систему организма.

Ключевые слова: микробиота, полость рта, дети, патология глоточной миндалины, резистентность.

FEATURES OF IMMUNITY INDICATORS AND THE ORAL CAVITY MICROBIOTA IN CHILDREN WITH THE PATHOLOGY OF THE PHARYNGEAL TONSIL

Alekseeva Y.A.¹, Samoukina A.M.¹, Andreeva O.V.¹

¹Tver State Medical University, Tver, e-mail: anna_samoukina@mail.ru

As a result of the study, informatively significant biomarkers of microbiota of the oral cavity were revealed, which reflect the risk of a decrease in the level of health in children with pharyngeal tonsil pathology. Bacteriological and molecular genetic studies of the oral fluid were performed in 129 children aged 6 to 12 years with pharyngeal tonsil pathology. In children of the 3rd group of health with chronic adenoiditis, the viral component and bacterial-viral associations were found significantly more often in comparison with children of the 2nd group of health. If the recipient has got bacterial-viral associations, a more pronounced reaction of the immune system is observed as increasing of IgA, IgM, IgG levels in blood by 24.6%, 27.6% and 10.8%, respectively, in comparison with the presence of only viral component. The presence of representatives of herpes viruses in the oral fluid in children with pharyngeal tonsil pathology reflects a decrease in the body's resistance and makes it possible to classify such children as a risk group to justify the monitoring system and corrective and health-improving measures. The obtained data indicate the processes of formation of the "mechanism of interaction" between the macroorganism and its normo- or pathomicrobiota, which is realized through the infectious process and the body's immune system.

Keywords: microbiota, oral cavity, children, pharyngeal tonsil pathology, resistance.

Дети с патологией глоточной миндалины составляют от 20 до 70% среди детей с рецидивирующими респираторными заболеваниями. Актуальность данной проблемы связана с высоким риском снижения уровня здоровья у таких детей, сопровождающегося невротическими реакциями, быстрым утомлением, снижением успеваемости. В свою очередь, это приводит к социальной дезадаптации ребёнка, а также к увеличению экономических затрат на лечение и потере трудового времени родителей [1; 2].

Многочисленные исследования последнего десятилетия подтверждают, что микробиота является важным регулятором физиологических процессов, иммунной

резистентности и поведения. Микробиом является интегральной частью, дискретным органом человека, и его состояние может рассматриваться как один из маркеров для оценки состояния здоровья человека, а изменение численности и соотношения микроорганизмов, их биологических свойств могут являться показателями индивидуального адаптогенеза [3-5].

Полость рта - это входные ворота пищеварительной и бронхолегочной систем, и состояние микробиоты данного биотопа определяет колонизационную резистентность и формирование микробиоценозов других биотопов. Кроме того, ротовая жидкость содержит множество биомаркеров, отличающихся стабильностью, точностью обнаружения, включающую высокую чувствительность, специфичность и воспроизводимость анализов, простоту выполнения и экономическую эффективность клинико-диагностических алгоритмов [6-8].

Учитывая не только медицинскую, но и социальную значимость проблемы формирования здоровья детей с патологией глоточной миндалины, представляется важным исследование качественных и количественных параметров микробиоты ротовой полости и показателей резистентности организма у данной категории детей для реализации комплексного подхода к профилактике, лечению и реабилитации [9-11].

Цель исследования: определение объективных и информативно значимых факторов, отражающих риск снижения уровня здоровья и качества жизни детей с патологией глоточной миндалины для обоснования системы мониторинга и коррекционно-оздоровительных мероприятий.

Материал и методы исследования. Под наблюдением находились 129 детей в возрасте от 6 до 12 лет с различным уровнем здоровья. Для решения поставленных задач методом выборочного отбора все дети были разделены на две группы обследования. Основную группу составили 55 детей с хроническим аденоидитом (III группа здоровья), а к группе сравнения были отнесены 74 ребёнка с гипертрофией глоточной миндалины (II группа здоровья). Согласно МКБ 10 хронический аденоидит имеет код J35. Среди обследованных было 68 мальчиков и 61 девочка. Группы были статистически сопоставимы по возрастно-половому составу. Критерием включения в основную группу было наличие хронического аденоидита в стадии ремиссии, а критерием исключения - наличие другой хронической патологии. Методы исследования включали комплексную оценку уровня здоровья (согласно Приказу МЗ РФ № 514н) с использованием инструментальных и лабораторных методов исследования.

Для оценки состояния микробиоты пищеварительного тракта был использован скрининговый метод с определением микрoэкологического варианта нормомикробиоты, характеризующегося определенным сочетанием индигенной и факультативной микрофлоры,

где наиболее оптимальным является первый, а более неблагоприятным – третий вариант нормомикробиоты (патент на изобретение № 2602697 от 03.03.2015 г.).

Для определения вирусного компонента микробиоты полости рта проведено молекулярно-генетическое исследование ротовой жидкости на наличие ДНК представителей герпесвирусов (вируса простого герпеса 1 и 2 типа, вируса Эпштейна-Барр, вируса герпеса 6 типа, цитомегаловируса). Для выделения и амплификации нуклеиновых кислот использовали комплекты реагентов «РибоПреп» и «АмплиСенс® EBV/CMV/HHV6-скрин-FL» (набор реагентов для амплификации ДНК вируса Эпштейна-Барр, цитомегаловируса и вируса герпеса человека 6 типа), «АмплиСенс® HSV-typing-FL» (набор реагентов для амплификации ДНК вирусов простого герпеса и генотипирования 1 и 2 типов) с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора» и амплификатор AppliedBioSystem.

Статистическую обработку результатов клинических и лабораторных исследований проводили с помощью программных пакетов Microsoft Office Excel (2007) и Statistica (10.0) для Windows (Statsoft Inc., USA).

Для оценки состояния иммунной резистентности было проведено количественное определение IgA, IgM, IgG и IgE в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа («Вектор-Бест»).

Научно-исследовательская работа проводилась в рамках реализации государственного задания (№ 056-00150-18-00 от 27.12.2017) с соблюдением основных биоэтических правил (заключение Этического комитета ТГМУ от 21.01.2018 г.). Исследования выполнены в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Тверской государственной медицинской академии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, по адресу: 170036, г. Тверь, Петербургское шоссе, д. 115, корп. 1 (Лицензия на медицинскую деятельность № ФС-69-01-000812 от 15 февраля 2018 года, сроком действия – бессрочно).

Результаты исследования и их обсуждение. На первом этапе работы было проведено определение бактериально-вирусных ассоциаций микробиоты полости рта у детей в двух группах обследования. При исследовании бактериального компонента у детей с гипертрофией глоточной миндалины в 33,7% и 50% случаев были определены первый и второй варианты микробиоценоза. Третий вариант нормомикробиоты, характеризующийся увеличением условно-патогенной микрофлоры на фоне снижения количества представителей облигатной микрофлоры, был выявлен лишь у 16,3% респондентов. Таким образом, у детей со II группой здоровья наблюдалось доминирование оптимального соотношения облигатной и факультативной микрофлоры, тогда как прогностически неблагоприятный третий вариант

нормомикробиоты был выявлен в незначительном количестве. При исследовании вирусного компонента обнаружено, что наиболее часто у детей с гипертрофией глоточной миндалины встречалась ДНК вируса герпеса 6 типа (табл. 1).

Таблица 1

Бактериальный и вирусный компонент микробиоты полости рта у детей с гипертрофией глоточной миндалины (II группа здоровья)

| Вирусный компонент | Вариант нормомикробиоценоза (n=74) | | | | | |
|-------------------------|---------------------------------------|----|------------------------|-------|------------------------|-------|
| | Первый n=25 (33,7%) | | Второй n=37 (50,0%) | | Третий n=12 (16,3%) | |
| | Абс. | % | Абс. | % | Абс. | % |
| Вирусопозитивные | 7 | 28 | 20 | 54,1 | 9 | 75* |
| Ассоциации | 1 | 4 | 6 | 16,2* | 3 | 25* |
| Эпштейна-Барр | 3 | 12 | 8 | 21,6 | 5 | 41,7* |
| Герпеса 6 типа | 5 | 20 | 17 | 45,9* | 6 | 50* |
| Простого герпеса 1 типа | 0 | 0 | 1 | 2,7 | 1 | 8,3* |

Примечание: * $p < 0,05$.

Кроме того, ДНК вируса Эпштейна-Барр, герпеса 6 типа и ассоциации вирусов достоверно преобладали у лиц с третьим микробиологическим вариантом нормомикробиоты по сравнению с более благоприятным первым вариантом. ДНК цитомегаловируса у детей данной группы обследования не выявлено. Следует отметить, что наличие ДНК вируса простого герпеса у детей с гипертрофией глоточной миндалины (II группа здоровья) носило спорадический характер, что соответствует общей тенденции у здоровых людей [12].

В группе детей с хроническим аденоидитом (III группа здоровья) выявлены более выраженные микробиологические изменения полости рта, которые характеризовались изменениями качественных и количественных параметров как бактериального, так и вирусного компонентов (табл. 2).

Таблица 2

Бактериальный и вирусный компонент микробиоты полости рта у детей с хроническим аденоидитом (III группа здоровья)

| Вирусный компонент | Вариант нормомикробиоценоза (n=50) | | |
|--------------------|---------------------------------------|--------|--------|
| | Первый | Второй | Третий |

| | n=3 (6%) | | n=16 (32%) | | n=31 (62%) | |
|-------------------------|----------|------|------------|------|------------|------|
| | Абс. | % | Абс. | % | Абс. | % |
| Вирусопозитивные | 1 | 33,3 | 13 | 81,3 | 27 | 87,1 |
| Ассоциации | 0 | 0 | 4 | 25 | 10 | 32,3 |
| Эпштейна-Барр | 0 | 0 | 6 | 37,5 | 12 | 38,7 |
| Герпеса 6 типа | 1 | 33,3 | 8 | 50 | 18 | 58,1 |
| Простого герпеса 1 типа | 0 | 0 | 1 | 6,3 | 2 | 6,5 |
| Цитомегаловирус | 0 | 0 | 2 | 12,5 | 5 | 16,1 |

*Примечание: * p<0.05.*

Следует отметить, что у 5 детей (9,1%) данной группы наблюдались дисбиотические изменения микробиоты полости рта даже в стадии ремиссии инфекционного процесса. В частности, связанные с наличием условно-патогенной микрофлоры в количестве, превышающем 4 lg КОЕ/мл, у 3 детей (5,4%) в полости рта выявлены *Haemophilus influenzae*. С позиций определения варианта нормомикробиоты в данной группе обследования значительно преобладал третий (62%), менее благоприятный вариант, по сравнению со вторым (32%) и первым (6%) вариантами. У детей данной группы обследования со вторым и третьим микрoэкологическим вариантом нормомикробиоты в большинстве случаев выявлялся вирусный компонент, представленный различными герпесвирусами, включая вирус Эпштейна-Барр, герпеса 6 типа, простого герпеса 1 типа и цитомегаловирус. Следует подчеркнуть, что достоверных различий по качественным и количественным параметрам вирусного компонента у детей со вторым и третьим вариантом не обнаружено. Однако у детей данной группы в вирусопозитивных образцах определялся цитомегаловирус, который отсутствовал у детей с гипертрофией глоточной миндалины и у здоровых детей различных возрастных групп [12]. Таким образом, у детей с III группой здоровья наблюдается изменение качественных и количественных параметров не только бактериального, но и вирусного компонента по сравнению с детьми II группы здоровья.

При сравнении количественного содержания иммуноглобулинов различных классов в сыворотке крови у детей II (с гипертрофией глоточной миндалины) и III (с хроническим аденоидитом) групп здоровья был выявлен ряд особенностей (табл. 3).

Таблица 3

Иммунологические показатели сыворотки крови у детей с патологией глоточной миндалины

| Группы обследования | Концентрация иммуноглобулинов крови (мг/мл) | | | |
|--|---|------------|------------|-------------|
| | IgA | IgM | IgG | IgE |
| Дети с гипертрофией глоточной миндалины (II группа здоровья) | 17,23±1,47* | 2,26±0,17* | 81,27±6,29 | 85,8±41,18 |
| Дети с хроническим аденоидитом (III группа здоровья) | 12,52±0,95* | 1,74±0,10* | 71,32±3,72 | 74,64±10,52 |
| t-критерий Стьюдента | p=0,028 | p=0,028 | p=0,223 | p=0,704 |

Так, у детей с хроническим аденоидитом (МКБ 10: J35) выявлена тенденция к более низкому содержанию иммуноглобулинов, всех определяемых в настоящем исследовании классов, IgA, IgM, IgG и IgE. Однако достоверные различия (t-критерий Стьюдента) были получены только для IgA и IgM (p=0,028), что вполне закономерно, поскольку эти классы иммуноглобулинов участвуют в первичном иммунном ответе и защите слизистых оболочек, в частности полости рта.

При сопоставлении результатов изучения состояния микроэкологии полости рта и содержания отдельных классов иммуноглобулинов сыворотки крови выявлен ряд особенностей. Так, у всех детей, имеющих ДНК вируса герпеса 6 типа, наблюдалось снижение уровня иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG и IgE классов по сравнению со средними значениями этих показателей в группах обследования. Кроме того, повышенное содержание IgE (p=0,031) при втором и третьем микроэкологическом варианте бактериальной флоры может указывать на состояние микробной сенсibilизации организма (табл. 4).

Таблица 4

Взаимосвязь бактериально-вирусных компонентов полости рта и содержания отдельных классов иммуноглобулинов сыворотки крови у детей с патологией глоточной миндалины

| Микроэкология полости рта | Количественное содержание иммуноглобулинов крови (мг/мл) | | | |
|--|--|-----------|------------|---------------|
| | IgA | IgM | IgG | IgE |
| Бактериальный компонент (первый вариант) | 12,19±1,97 | 1,73±0,2 | 82,09±11,9 | 68,91±15,87* |
| Бактериальный компонент (второй, третий вариант) | 14±2,07 | 1,64±0,2 | 72±5,9 | 107,25±36,34* |
| Вирусный компонент (вирус герпеса 6 типа) | 9,48±1,08 | 1,34±0,63 | 59,7±1,65 | 73±37,07* |
| Бактериально-вирусные ассоциации | 12,57±1,47 | 1,85±0,15 | 66,87±3,35 | 65±13,56* |

Примечание: * p<0.05.

Следует отметить, что количественное содержание иммуноглобулинов различных классов имело тенденцию к увеличению при наличии изменений как в бактериальном, так и в вирусном компоненте микробиоты, выявлении бактериально-вирусных ассоциаций. Исключение составил IgE, количество которого снизилось на 12,3% при наличии ассоциаций вирусов и бактерий. Тем не менее выявленное превышение более чем на 30% данного класса иммуноглобулинов в совокупности с IgM при втором и третьем варианте микробиоты позволяет предположить наличие инфекционного процесса и микробной сенсibilизации, как отражение процессов взаимодействия макро- и микроорганизма. Это подтверждается тем, что у детей III группы здоровья, с хроническим аденоидитом, вирусный компонент и бактериально-вирусные ассоциации встречались достоверно чаще ($p=0,02$ U-критерий Манна-Уитни) по сравнению с детьми II группы здоровья. Кроме того, нами отмечена более выраженная реакция иммунной системы при наличии у респондентов бактериально-вирусных ассоциаций. Так, содержание IgA, IgM, IgG при бактериально-вирусных ассоциациях было выше на 24,6, 27,6 и 10,8% соответственно по сравнению с наличием у респондентов только вирусного компонента. Количественное содержание IgG также было на 27,3% выше при оптимальном варианте бактериальной нормомикробиоты по сравнению с наличием только вирусного компонента.

Заключение. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о процессах формирования «механизма взаимодействия» между макроорганизмом и его нормо- или патомикробиотой, реализующегося через инфекционный процесс и иммунную систему организма. Бактериальный и вирусный компоненты микробиоты полости рта находятся между собой в тесном динамическом взаимодействии, а также с общей иммунной резистентностью организма. Результаты исследования подтверждают, что бактериально-вирусные ассоциации полости рта отражают состояние общей резистентности организма у детей с хроническим аденоидитом и гипертрофией глоточной миндалины. Данные биомаркеры могут быть использованы как интегральный показатель для оценки уровня здоровья, формирования групп риска и превентивной коррекции в рамках реализации персонализированного подхода. Кроме того, они могут быть предложены для обоснования системы мониторинга и коррекционно-оздоровительных мероприятий.

Список литературы

1. Самсыгина Г.А., Выжлова Е.Н. Ещё раз о проблемах понятия "часто болеющие дети" // «Педиатрия» им. Г.Н. Сперанского. 2016. № 4. С.209-215.
2. Сапожников В.Г., Холина Ю.А., Лари А.Д. О гипертрофии глоточной миндалины в

педиатрической практике // Вестник новых медицинских технологий. 2017. №1 (Т.24). С.99-102.

3. Червинец Ю.В., Червинец В.М., Самоукина А.М., Михайлова Е.С. Антагонистическая активность пробиотических штаммов // Успехи современного естествознания. 2009. №2. С.73.

4. Самоукина А.М., Михайлова Е.С., Чернин В.В., Алексеева Ю.А. Микробиота пищеварительного тракта как системный фактор оценки здоровья человека и проведения превентивной коррекции // Лечение и профилактика. 2015. № 3 (Т. 15). С. 23-28.

5. Захарова И.Н. Современные представления о микробиоте кишечника. Мифы и факты // Материалы научно-практического семинара кафедры педиатрии ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ (Тверь, 18 января 2018 г.). Москва: Издательство «Тритон», 2018. С. 8-11.

6. Кочурова Е.В., Козлов С.В. Диагностические возможности слюны // Клиническая лабораторная диагностика. 2014. № 1. С. 13-15.

7. Association between living environment and human oral viral ecology / R. Robles-Sikisaka [et al.]. ISME J. 2013. Vol. 7, № 9. P. 1710-1734.

8. Herpesvirus in the oral cavity of children with leukaemia and its impact on the oral bacterial community profile / T.M. Bezerra [et al.]. J. Clin. Pathol. 2015. Vol. 68, № 3. P. 222-230.

9. Евстифеева Е.А., Алексеева Ю.А., Филиппченкова С.И., Денисова Е.В., Мурашова Л.А. Междисциплинарные исследования качества жизни и адаптационного потенциала подростков // Врач-аспирант. 2015. № 1.2. (Т. 68). С. 250-259.

10. Bull M.J. Part 1: the human gut microbiome in health and disease / M.J. Bull, N.T. Plummer. Integr. Med. A Clinician's J. 2014. Vol. 13, № 6. P. 17-22.

11. Sassone-Corsi M., Raffatellu M. No vacancy: how beneficial microbes cooperate with immunity to provide colonization resistance to pathogens. J. Immunol. 2015. Vol. 194, № 9. P. 4081-4088.

12. Самоукина А.М., Алексеева Ю.А., Михайлова Е.С., Денисова Е.В., Жуков С.В. Взаимосвязь микробиоты различных биотопов у детей в норме и при патологических состояниях // Современные проблемы науки и образования. 2018. № 2. URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=27537> (дата обращения: 26.09.2019).