

Галимова И.А.¹, Усманова И. Н.¹, Герасимова Л.П.¹,
Хуснарязанова Р.Ф.¹, Усманов И.Р.¹, Котова Ю.Б.²

Изучение особенностей состояния микробиома и местного иммунитета у пациентов с хроническими рецидивирующими афтами полости рта

1 — ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Уфа, 2 — ГБУЗ РБ Стоматологическая поликлиника, г. Стерлитамак

Galimova I. A., Usmanova I.N., Gerasimova L.P., Khusnarizanova R.F., Usmanov I.R., Kotova Y.B.

The study of the state of the microbiome and local immunity in patients with chronic recurrent aphthae of the mouth

Резюме

Хронические рецидивирующие афты полости рта у жителей проживающих в экологически неблагоприятном регионе характеризуется перманентным течением и затяжным периодом восстановительных процессов регенерации патологических элементов на слизистой оболочке рта. Микробиологическим методом с использованием современных тест систем нами установлено, что на поверхности афта определяется крайне разнообразное состояние микробиома, в пробах ротовой жидкости происходит недостаточность функции гуморальных факторов местного иммунитета полости рта. Полученные нами данные могут служить показанием к разработке современных лечебно-профилактических мероприятий у данной категории лиц.

Ключевые слова: слизистая оболочка рта, рецидивирующие афты, ротовая жидкость, гуморальные факторы местного иммунитета, микробиом полости рта

Summary

Chronic recurrent aphthae of the oral cavity in residents living in an ecologically unfavorable region is characterized by a permanent course and a prolonged period of recovery processes of regeneration of pathological elements on the oral mucosa. By the microbiological method using modern test systems, we found that the diverse state of the microbiome is determined on the surface of the aphthae, in the samples of oral fluid the function of humoral factors of local immunity of the oral cavity is reduced. Our obtained data can serve as an indication for the development of modern therapeutic and preventive measures in this category of persons.

Key words: oral mucosa, recurrent aphthae, oral liquid, humoral factors of local immunity, the microbiome of the oral cavity

Введение

Ведущее значение в этиопатогенезе хронического рецидивирующего афтозного стоматита (рецидивирующих афт полости рта) отводится инфекционно-аллергическим факторам [1,3,4,5,7,8,9,12]. По данным Всемирной Организации Здравоохранения хронический рецидивирующий афтозный стоматит поражает до 20% населения.

Полость рта является местом первого контакта с окружающей средой, вследствие чего она снабжена сложной многокомпонентной системой барьеров, обеспечивающих защиту организма от воздействия чужеродных субстанций. Ответная реакция на влияние различных факторов является естественной функцией слизистой оболочки [2,4,6]. Защита слизистой оболочки

рта осуществляется местными факторами: постоянной микрофлорой, анатомо-физиологическим комплексом слизистой оболочки рта, ротовой жидкостью. Важным защитным барьером организма является смешанная ротовая жидкость, которая реализует свою защитную функцию через систему факторов специфической и неспецифической резистентности, а ее состав и свойства лабильны и регулируются организмом в целом [10,11].

Анализ данных литературы позволил прийти к выводу, что уровень SlgA полноценно отражает статус местного иммунитета полости рта, а увеличение его уровня говорит о развитии адаптивного иммунного ответа, целенаправленного на формирование механизмов адаптации к патогенному инфекционному воздействию.

При изменении качественного и количественного состава микробиоценоза и появлении условно патогенной и патогенной микрофлоры включается механизм активного синтеза SIgA, как важного биологического маркера, который выявляет изменения системы регуляции организма в ответ на агрессивные факторы внешней среды (экологическое неблагополучие, возрастание стрессовых воздействий, неполноценное питание, инфекция, хронические соматические заболевания т.д.) Величина изменений уровня SIgA и лизоцима в слюне полости рта зависит от продолжительности неблагоприятных воздействий на организм в целом. Поэтому определение микробиоты и факторов гуморального иммунитета полости рта имеет существенное значение для диагностики, наблюдения за ходом развития заболевания и контроля лечебно-профилактических мероприятий пациентов с рецидивирующими афтами полости рта. Введение таких исследований позволит развить персонализированную диагностику, обосновать лекарственный мониторинг, и провести качественную оценку эффективности лечения пациента, что и обусловило актуальность и цель нашего исследования.

Целью исследования явилось изучение состава микробиоты с поверхности афтозных элементов различных участков слизистой полости рта, оценка уровня лизоцима и SIgA в пробах ротовой жидкости.

Материалы и методы

Для решения поставленных задач проведено комплексное стоматологическое обследование 250 лиц (средний возраст $32,2 \pm 1,4$ лет) с заболеваниями желудочно-кишечного тракта и методом открытой выборки выделена группа - 90 человек, мужского и женского пола с хроническим гастритом и дуоденитом, хроническим панкреатитом и холециститом с дискинезией желчевыводящих путей, в возрасте от 25 до 45 лет. Контрольная группа (35 пациентов) включала пациентов с заболеваниями желудочно-кишечного тракта без патологии слизистой оболочки рта.

Стоматологическое обследование включало в себя сбор жалоб больных, анамнеза жизни и заболевания, оценка интенсивности болевого симптома и его дальнейшей динамики, выраженности и продолжительности местных симптомов в полости рта. В диагностике стоматологического статуса использовали STEPS-подход (рекомендации ВОЗ, 2013).

Для изучения видового состава микробиоты проводили забор налета с поверхности морфологических элементов (афт) и с полости рта. Часть исходного клинического материала тестировали на ПЦР-анализаторе в режиме реального времени («real time») с использованием тест-системы «Дентоскрин» к 6 пародонтопатогенам: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythensis*, *P. endodontalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*. Параллельно проводили рассев в аэробных и анаэробных условиях оставшейся части материала на дифференциально-диагностические среды

серии HiCrome для дальнейшего культивирования и последующей идентификации микроорганизмов.

Для определения количественного секреторного IgA использовали набор «IgA серкторный – ИФА-БЕСТ» иммуноферментным методом. Концентрацию лизоцима исследовали методом диффузии в агаровом геле.

Статистическую обработку полученных данных проводили на персональном компьютере типа IBM PC/AT с использованием пакета прикладных программ Statistica 7,0 и электронных таблиц Excel 2007. Для сравнения данных использовали t критерий Стьюдента. Уровень достоверной значимости составлял $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На основании проведенного микробиологического исследования по изучению количественного и качественного состава микробиома с поверхности афт установлена крайне разнообразная флора, включающая представителей почти всех видов микроорганизмов от микрофильных стрептококков и облигатных анаэробов до представителей факультативных анаэробов.

Изучение состояния микробиоты у лиц с рецидивирующими афтами полости рта дало возможность выделить доминирующие группы микроорганизмов имеющие большее значение в формировании микрорекосистемы полости рта.

У пациентов с рецидивирующими афтами полости рта в 100% случаев выявлены представители групп *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. В 45,6% случаев у обследованных пациентов выявлено наличие не характерных для полости рта микроорганизмов, как аэробного, так и анаэробного типа дыхания - *Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Bacteroides* spp.

У 20% обследованных лиц в полости рта содержание дрожжеподобных грибов рода *Candida* (*C. albicans*) составило 101-10 2 КОЕ/мл, в 39,2% случаев от 103 до 10 4 КОЕ/мл, и в 40,8% случаев от 103 до 105 КОЕ/мл ($p \leq 0,05$). При микроскопическом исследовании мазков с различных отделов полости рта чаще всего обнаружены дрожжеподобные грибы рода *Candida* (*C. albicans*) в соскобе с языка в 55% случаев, на слизистой переходной складки верхней и нижней челюсти в среднем в 22% случаев исследований (рисунок 1).

По результатам ПЦР-диагностики у обследованных пациентов в 38,9% случаев определяется средне критические титры облигатно-анаэробных микроорганизмов - *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythensis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*.

Средние показатели концентрации секреторного иммуноглобулина А и лизоцима в пробах ротовой жидкости в группе больных хроническими рецидивирующими афтами полости рта составили соответственно $0,115 \pm 0,001$ г/л и $0,146 \pm 0,001$ мкг/мл, что значительно ниже нормальных значений.

В контрольной группе также у всех обследованных выявлены представители групп *Enterococcus* spp.,

Staphylococcus spp., Streptococcus spp., но Escherichia spp., Bacteroides spp., обнаруживались соответственно в 8,6% и 11,4% случаев. Дрожжеподобные грибов рода Candida обнаруживались в 28,5% случаев в количестве 101-10³ КОЕ/мл. У 8,6% случаев определяется низкие титры облигатно-анаэробных микроорганизмов - Porphyromonas gingivalis, Fusobacterium nucleatum, Prevotella intermedia.

Данные проведенных исследований показали, что у лиц с рецидивирующими афтами полости рта наблюдается нарушение естественной микрофлоры полости рта, что проявляется в выявлении критических титров облигатно-анаэробных микроорганизмов и увеличении доли условно-патогенных микроорганизмов, в пробах ротовой жидкости выявлен дефицит гуморальных факторов местного иммунитета.

Заключение

Таким образом, снижение активности гуморальных факторов местного иммунитета взаимосвязано с изменением качественного состава микрофлоры полости рта, что в комплексе создает благоприятные условия для более стойкой задержки условно-патогенных и патогенных микроорганизмов на поверхности афтозных элементов. ■

Галимова Ирина Александровна (Galimova I. A.) - аспирант кафедры терапевтической стоматологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, г. Уфа, **Усманова Ирина Николаевна (Ustanova I. N.)** - д.м.н., профессор кафедры терапевтической стоматологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава Рос-

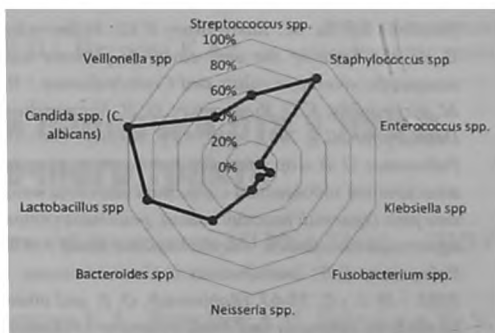


Рисунок 1. Состав микрофлоры с поверхности афтозных элементов

сии, г. Уфа, **Герасимова Лариса Павловна (Gerasimova L. P.)** д.м.н., профессор, зав. кафедрой терапевтической стоматологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, г. Уфа, **Хуснарзанова Рауза Фазыловна (Khusnarizanova R. F.)** - к.б.н., доцент кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, г. Уфа, **Усманов Ирек Рамимович (Ustamov I. R.)** - к.м.н., доцент кафедры ортопедической стоматологии и ЧЛХ с курсами ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, г. Уфа, **Котова Юлия Борисовна (Kotova Y.B.)** заведующая отделением терапевтической стоматологии №1, врач-стоматолог-терапевт ГБУЗ РБ Стоматологическая поликлиника, 453126, Российская Федерация, Республика Башкортостан, г. Стерлитамак, Автор, ответственный за переписку — Галимова Ирина Александровна, г. Уфа, ул. Ленина, 3, E-mail: iraa1982@mail.ru.

Литература:

1. Борисова Э.Г., Никитенко В.В. Хронические болевые синдромы полости рта – важная проблема современной стоматологии // Стоматолог–практик. - 2016. - № 2. - С. 21–23. (Borisova E. G., Nikitenko V. V. Chronic pain syndromes of the oral cavity – an important problem of modern dentistry // Dentist-practitioner. - 2016. - № 2. - P. 21-23.)
2. Виха, Г.В., Папазов, И.П., Воложин, А.И. и др. Секреторный иммуноглобулин А (slgA) в доказательной лабораторной диагностике / Г.В. Виха, И.П. Папазов, А.И. Воложин и др. // Сб. «Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты». – 2005. - № 13. – С. 89-102. (Viha, G. V., Papazov, I. P., Volozhin, A. I. And others Secretory immunoglobulin A (siga) in the evidential laboratory diagnostics / G. V. Viha, I. P. Papazov, A. I. Volozhin, etc. // SB. "Unconventional natural resources, innovative technologies and products". – 2005. - № 13. – P. 89-102.)
3. Гажва, С.И., Лесков, А.С., Шкаредная, О.В. и др. Особенности стоматологического статуса пациентов с гастроудоденальной патологией / С.И. Гажва, А.С. Лесков, О.В. Шкаредная и др. // Обзорные. - 2012. - № 1(75). - С. 4950. (Gava, S. I., Leskov, A. S., Schkaredny, O. V., Etc. features of the dental status of patients with gastroduodenal pathology / S. I. Gava, A. S. Leskov, O. V. Schkaredny etc. // Display. - 2012. - № 1(75). - P. 4950.)
4. Дроботко, Л.Н., Страхова, С.Ю. Хронический рецидивирующий афтозный стоматит / Л.Н. Дроботко, С.Ю. Страхова // Российский Медицинский Журнал. – 2006. - № 29. - С. 2096-2098. (Drobotko, L. N., Strakhova, S. Yu. Chronic recurrent aphthous stomatitis / L. N. Drobotko, S. Yu. Strakhova // Russian Medical Journal. – 2006. - № 29. - P. 2096-2098.)
5. Заболевания слизистой оболочки полости рта и губ/ Под ред. проф. Е.В. Боровского, проф. А.Л. Машкиллеясона. – М.: МЕДпресс. - 2001. - 320с. (Diseases of the mucous membranes of the mouth and lip/ Under the editorship of Professor E. V. Borovsky, Professor A. L. Mashkilleyson. – M.: Medpress. - 2001. - 320c.)
6. Максимовский, Ю.М., Румянцев, В.Г., Мдинаридзе, Г.Н. Состояние полости рта у больных неспецифическим язвенным колитом и болезнью Крона / Ю.М. Максимовский, В.Г. Румянцев, Г.Н. Мдинаридзе // Стоматология для всех. – 2005. - №2. – С. 18-21.

- (Maximovsky, Yu. M., Rumyantsev, V. G., Mdinardze, G. N. *The State of the oral cavity in patients with nonspecific ulcerative colitis and Crohn's disease* / Yu. M. Maximovsky, V. G. Rumyantsev, G. N. Mdinardze // *Dentistry for all*. – 2005. – №2. – Pp. 18-21.)
7. Рабинович, О.Ф. и др. Методы диагностики и местного лечения заболеваний слизистой оболочки полости рта (красный плоский лишай, рецидивирующий афтозный стоматит, декубитальные язвы) / О.Ф. Рабинович, Е.Л. Эпельдимова // *Стоматология*. – 2005. – № 3. – С. 58-63. (Rabinovich, O. F. and others *Methods of diagnosis and local treatment of diseases of the mucosa of the mouth (lichen planus, recurrent aphthous stomatitis, ulcer ulcus decubitalis)* / O. F., Rabinovich, E. L. *Ependymoma* // *Dentistry*. – 2005. – № 3. – P. 58-63.)
 8. Рабинович, И.М., Рабинович, О.Ф., Вахрушина, Е.В. Рецидивирующий афтозный стоматит – классификации, клинические формы и лечение (часть II) / И.М. Рабинович, О.Ф. Рабинович, Е.В. Вахрушина // *Стоматология*. – 2010. – № 3. – С. 76-80. (Rabinovich, I. M., Rabinovich O. F., Vahrushina, E. V. *Recurrent aphthous stomatitis – classification, clinical forms and treatment (part II)* / *Dentistry*. – 2010. – № 3. – Pp. 76-80.)
 9. Рабинович, И.М., Рабинович, О.Ф., Панфилова, Е.Л., Вахрушина, Е.В. Рецидивирующий афтозный стоматит – этиология, патогенез (часть I) / И.М. Рабинович, О.Ф. Рабинович, Е.Л. Панфилова, Е.В. Вахрушина // *Стоматология*. – 2010. – № 1. – С. 71-74. (Rabinovich, I. M., Rabinovich O. F., Panfilova, E. L., Vahrushin, E. V. *Recurrent aphthous stomatitis – etiology, pathogenesis (part I)* / *Dentistry*. – 2010. – № 1. – P. 71-74.)
 10. Рединанова Т.Л. и др. Диагностика в терапевтической стоматологии // *Медицина для всех*. – Ростовна-Дону, 2006. – С. 11-12. (Redinova T. L., etc. *Diagnosis in dentistry // health care for all*. Rostov-on-don. 2006. – P. 11-12.)
 11. Campisi, G., Di Liberto, C., Iacono, G. et al. *Oral pathology in untreated coeliac disease* / G. Campisi, C. Di Liberto, G. Iacono et al // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2007. – № 11-12. – P.26.
 12. Chattopadhyay, A., Setty, K.V. *Reccurent aphthous stomatitis* / A. Chattopadhyay, K.V. Setty // *Otolaryngol. Clin. N. Am.* – 2011. – № 4. – P.79-88.
 13. Mancini Y., Carbonarae A., Ibremansy. *Immuno chical guamtitation of antigens by temple radial Immuno chiffision immunochimytry* – 1965.-2 – 235-254.