

УДК 616.31-002.152+612.017.1+616-053.4

Г. М. Гришакова¹, В. Я. Скіба, д. мед. н.², Т. В. Чабан, д. мед. н.¹,Одеський національний медичний університет¹,
Державна установа «Інститут стоматології
Національної академії медичних наук України»²**ЗМІНИ У СКЛАДІ МІКРОФЛОРИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПОРОЖНИНИ РОТА
ІЗ БОКУ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ПРИ ГОСТРОМУ ГЕРПЕТИЧНОМУ
СТОМАТИТІ У ДІТЕЙ**

Обстежено 159 дітей віком до 3 років з гострим герпетичним стоматитом. Встановлено дисбіоз мікрофлори слизової оболонки порожнини рота, порушення продукції IFN- γ , IL-4 і IL-10, ступінь вираженості яких залежав від тяжкості перебігу захворювання. Встановлені порушення є одним з механізмів зниження протиінфекційного захисту і подальшого прогресування інфекції.

Ключові слова: гострий герпетичний стоматит, мікрофлора, цитокіни.

А. Н. Гришакова¹, В. Я. Скіба, д. мед. н.², Т. В. Чабан, д. мед. н.¹Одесский национальный медицинский университет¹
Государственное учреждение «Институт стоматологии
Национальной академии медицинских наук Украины»²**ИЗМЕНЕНИЯ В СОСТАВЕ МИКРОФЛОРЫ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ
ПОЛОСТИ РТА И СО СТОРОНЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ОСТРОМ
ГЕРПЕТИЧЕСКОМ СТОМАТИТЕ У ДЕТЕЙ**

Обследованы 159 детей в возрасте до 3 лет с острым герпетическим стоматитом. Установлен дисбиоз микрофлоры слизистой оболочки полости рта, нарушения продукции IFN- γ , IL-4 и IL-10, степень выраженности которых зависела от тяжести хода заболевания. Установленные нарушения являются одним из механизмов снижения противоинойфекционной защиты и последующего прогресса инфекции.

Ключевые слова: острый герпетический стоматит, микрофлора, цитокины.

A. N. Grishakova¹, B. Ja. Skiba², T. V. Chaban¹Odessa National Medical University¹,
State Establishment «The Institute of Stomatology of the
National academy of medical science of Ukraine»²**THE CHANGES OF COMPOSITION IN THE MICROFLORA OF ORAL MUCOSA
AND BY IMMUNE SYSTEM IN ACUTE HERPETIC STOMATITIS
OF CHILDREN**

Local mucosal immunity provided by oral complicated cascade of reactions involvement of immunoglobulins, cytokines, phagocytes and other components of the immune system. Occur violations in the human immune system that taking place, in acute herpetic stomatitis always impact on the status of the protective mechanisms of the oral cavity on the composition of microflora of the mouth, which contributes the dysbiosis.

The aim of research was to explore violations of microflora changes in immune status and clinical manifestations of acute herpetic stomatitis in the complex.

Materials and methods. 159 children 3 years old with acute herpetic stomatitis were investigated. Microbiological composition of the oral cavity was examined by bacteriological method. To determine the level of cytokines laser flow cytometry was used which included paramagnetic parts.

The Results. Conclusions. Dysbiosis of microflora of the oral mucosa, breach products IFN- γ , IL-4, IL-10 was tested on children. The power of their identity depends on the severity of the course of the disease. Detected disorders are just one of the mechanisms for reduce anti-infectious protection and subsequent progress of infection.

Key words: acute herpetic stomatitis, microflora, cytokines.

Стан здоров'я людини багато в чому визначається його мікрофлорою. Саме тому в сучасній стоматології пильна увага приділяється проблемі дисбіозу і дисбактеріозу порожнини рота. Дисбаланс мікробних асоціацій ротової порожнини, за даними дослідників, являється причиною багатьох захворювань або супроводжує їх, призводячи до метаболічних розладів і порушень гуморальної регуляції макроорганізму. Зсув бактеріального угруповання в аеробний або анаеробний бік, супроводжується змінами фізико-хімічних і біохімічних показників цього біотопу, характеризує різні прояви патологічного стану порожнини рота [1, 2, 3].

Гострий герпетичний стоматит (ГГС), збудником якого є вірус простого герпесу (HSV) 1/2 типу являється одним з найбільш поширених вірусних захворювань дитячого віку. Ураження слизової оболонки порожнини рота у таких хворих перебігають іноді у тяжкій формі та супроводжуються виникненням частих рецидивів і розвитком асоційованих форм захворювання [4, 6].

Формування імунних реакцій людини у відповідь на втручання і реплікацію вірусів являється складним, багатокомпонентним механізмом. Роботами багатьох дослідників доведено, що різні вірусні інфекції, в т.ч. й інфекція, спричинена HSV 1/2 типу супроводжуються зниженням активності клітинного і гуморального імунітету, призводячи до вторинного імунодефіциту [4, 5, 7].

Місцевий імунітет слизової оболонки рота забезпечується складним каскадом реакцій за участю імуноглобулінів, цитокінів, фагоцитів і інших компонентів імунної системи. Порушення, що відбуваються в імунній системі людини незмінно відображаються на стані захисних механізмів порожнини рота, складі мікрофлори ротової порожнини, сприяє виникненню дисбактеріозу [1, 2, 6].

Ціль дослідження. Вивчення порушень мікрофлори, зміни імунного статусу і клінічні прояви ГГС у комплексі, де роль пускового механізму належить будь-якій з цих складових.

Матеріали і методи дослідження. Під нашим спостереженням знаходилися 159 дітей з гострим герпетичним стоматитом віком до 3-х років. Серед обстежених дітей були 76 хлопчиків і 83 дівчаток. З урахуванням тяжкості перебігу ГГС всі діти розділені на три групи: I група - 13 дітей, у яких діагностовано легкий перебіг ГГС, II група – 81 дитина, у яких відзначений середньотяжкий перебіг ГГС, III група – 65 дітей з тяжким перебігом ГГС.

Діагноз ГГС встановлювали на підставі даних анамнезу, клінічних проявів хвороби,

підтверджували знайденням у слині вірусу простого герпесу (HSV) 1/2 типу.

Контрольну групу склали 30 здорових дітей віком до 3-х років, у яких протягом 3-х місяців до обстеження інфекційні захворювання не спостерігали.

Мікробіологічний склад порожнини рота досліджували бактеріологічним методом. У день забору матеріалу діти мали втримуватися від чистки зубів, застосування лікарських препаратів і полоскання порожнини рота. Забір матеріалу для дослідження здійснювали натще або через 2-3 години після їжі. Проводили посів отриманого матеріалу на спеціальне живильне середовище. Ідентифікацію виділених мікроорганізмів здійснювали загальноприйнятими методами з урахуванням морфологічних, культуральних і біохімічних властивостей.

Визначали 4 ступеня дисбіозу мікрофлори порожнини рота [1, 6]:

1 – дисбіотичний зсув - незначна зміна кількості одного виду умовно-патогенного мікроорганізму при збереженні нормального видового складу мікрофлори рота (латентна або компенсована форма);

2 – дисбактеріоз I-II ступеня (субкомпенсована форма), на фоні помірного зниження титру лактобактерій виділяють 2–3 патогенних види;

3 – дисбактеріоз III ступеня (субкомпенсований), знайдення патогенної монокультури при значному зниженні кількості або повній відсутності представників нормальної мікрофлори;

4 – дисбактеріоз IV ступеня (декомпенсований), наявність асоціацій патогенних видів бактерій з дріждеподібними грибами.

Для визначення рівня цитокінів використовували проточну лазерну цитометрію із застосуванням парамагнітних часток. Дослідження проводили на проточному лазерному цитофлюорометрі FACS Calibur™ System (виробник Becton Dickinson), користуючись тест-системами виробника.

Статистичну обробку одержаних результатів здійснювали на персональному комп'ютері ASUS A7V8X-X/LAN за допомогою Microsoft Office 2010, Stat Plus 2009. Бази даних формувалися в таблицях Microsoft Excel. Для кожного варіаційного ряду розраховували середню арифметичну (M), середнє квадратичне відхилення (σ), середню помилку середньої арифметичної (m). За допомогою критерію Ст'юдента-Фішера (t) оцінювали вірогідність різниці середніх величин у групах порівняння (p).

Результати дослідження та їх обговорення. У результаті проведених досліджень встановлено суттєві відмінності складу мікрофлори ро-

тової порожнини здорових дітей від показників дітей з ГГС. До того ж, мали місце відмінності й залежно від тяжкості перебігу ГГС. Так, у складі мікрофлори ротової порожнини здорових дітей (таблиця 1) найбільшу питому вагу склали факультативні анаероби – *Streptococcus mitis* (100 %) і *Lactobacillus* (90 %). У 7 (23,3 %) дітей знаходили непатогенних представників роду *Corynebacterium*: дифтероїди і паличка Гофмана у 6 (20 %) дітей – *Candida albicans*; у 5 (16,7 %) дітей – *Staphylococcus aureus*; у 2 (6,7 %) дітей – *Staphylococcus epidermidis*.

У дітей з ГГС склад мікрофлори ротової порожнини був іншим (табл. 1) і залежав від ступеня тяжкості герпетичної інфекції. Слід відмітити, що при легкому перебігу ГГС зміни були незначними і характеризувалися переважно зменшенням вмісту *Streptococcus mitis*, *Lactobacillus* і *Candida albicans*. На слизовій оболонці у таких дітей спостерігали лише поодинокі везикули з ободком гіперемії навколо висипань. Прояви інтоксикації і больовий синдром у цій групі обстежених були незначними.

Таблиця 1

Склад мікрофлори ротової порожнини обстежених дітей

Мікроорганізми	Діти з ГГС						Здорові діти (n=30)	
	легкий перебіг (n=13)		середньотяжкий перебіг (n=81)		тяжкий перебіг (n=65)		абс.	%
	абс.	%	абс.	%	абс.	%		
<i>Streptococcus mitis</i>	11	84,6	44	54,3	19	29,2	30	100
<i>Streptococcus pyogenes</i>	-		3	3,7	8	12,3	-	
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	15,4	35	43,2	38	58,5	5	16,7
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-		14	17,3	31	47,7	2	6,7
<i>Corynebacterium</i>	3	23,1	15	18,5	6	9,2	7	23,3
<i>Candida albicans</i>	1	7,8	24	29,6	27	41,5	6	20
<i>Lactobacillus</i>	10	76,9	19	23,4	7	10,8	27	90
<i>Clostridium</i>	-		2	2,5	3	4,6	-	

Однак, і при середньотяжкому, і при тяжкому перебігу ГГС мало місце значне зменшення вмісту *Streptococcus mitis* і *Lactobacillus*. Якщо при середньотяжкій формі ГГС *Streptococcus mitis* зустрічався в 54,3 % випадків, то при тяжкій формі – лише у 29,2 % дітей. Більш значні відмінності частоти виявлення відзначені при дослідженні *Lactobacillus*. Так, ці молочнокислі бактерії знайдено у 23,4 % дітей з середньотяжким перебігом і лише у 10,8 % дітей з тяжким перебігом ГГС, що було, відповідно, в 3,8 і 8,3 рази менше, ніж у здорових дітей. Такі зміни й обумовили, на наш погляд, подальші порушення біоценозу ротової порожнини, зростання питомої ваги гнильної мікрофлори.

Привертає до себе увагу поява такого представника кокової флори як *Streptococcus pyogenes* – у 3,7 % дітей з ГГС середньої тяжкості і 12,3 % дітей з ГГС тяжкого перебігу, а також значне збільшення частоти знайдення *Staphylococcus aureus* і *Staphylococcus epidermidis*. В цих групах дітей спостерігали субфебрильні або високі цифри температури тіла, ознаки інтоксикаційного синдрому, прояви виразкового гінгівіту, кровоточивість ясен, значну кількість герпетичних висипань не лише на слизовій оболонці рота, але й на шкірі навколоротової області, вушних раковин, кон'юнктиві очей та ін. Але, слід відмітити, що гнійні ураження, які ви-

кликаються означеними збудниками у обстежених дітей діагностовані не були.

Зниження частоти виявлення непатогенних *Corynebacterium* супроводжувалося одиничними випадками появи представників анаеробної флори – *Clostridium* (у 2,5 % дітей з середньотяжким і 4,6 % дітей з тяжким перебігом ГГС). Слід зазначити, що у таких дітей спостерігали каріозні порожнини.

Цікавим є й той факт, що не дивлячись на достатньо високу частоту знайдення *Candida albicans*, клінічні прояви кандидозу діагностували лише у 1 дитини з тяжким перебігом ГГС.

Отримані дані щодо особливостей порушення мікробіоценозу слизової оболонки порожнини рота стали підставою для розподілу за ступенем дисбіозу (табл. 2).

Отже, якщо у дітей з легким перебігом ГГС переважали ознаки дисбіотичного зсуву (61,5 %), за умов тяжкого перебігу хвороби в 72,3 % випадках відзначено прояви III або IV ступеня дисбіозу, що негативно відображалось на клінічних симптомах хвороби. У дітей з тяжким перебігом ГГС відзначали, що слизова оболонка рота була гіперемована, набрякла, спостерігали виражені прояви катарального або виразково-некротичного гінгівіту. Множинні герпетичні везикули виникали на слизовій оболонці рота, губ, язика, у 43 (66,1 %) дітей - на щоках, у 36

(55,4 %) дітей – на яснах. Також елементи висипу спостерігали на шкірі носо-губного трикутника у 32 (49,2 %) дітей, вушних раковин, пальців рук, вії, на кон'юнктиві очей – у 12 (18,5 %) обстежених дітей. При зливанні везикул

виникали крупні елементи, після відкриття яких формувалися крупні ерозії. Відзначали різкий гнильний запах із рота, надлишкову саливацію із домішками крові.

Таблиця 2

Розподіл дітей з ГГС за ступенем тяжкості дисбіозу слизової оболонки порожнини рота (n=159)

Ступінь дисбіозу	Легкий перебіг ГГС (n=13)		Середньотяжкий перебіг ГГС (n=81)		Тяжкий перебіг ГГС (n=65)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
дисбіотичний зсув	8	61,5	25	30,9	6	9,2
I-II	5	38,5	27	33,3	12	18,5
III	-		23	28,4	26	40,0
IV	-		6	7,4	21	32,3

Таблиця 3

Рівень IFN- γ , IL-4 і IL-10 у дітей з ГГС залежно від тяжкості перебігу хвороби (M \pm m)

Тяжкість ГГС \ Цитокини	IFN- γ , пг/мл	IL-4, пг/мл	IL-10, пг/мл
Легкий перебіг	12,27 \pm 1,03*	37,14 \pm 1,21*	26,63 \pm 1,47*
Середньотяжкий перебіг	9,42 \pm 0,28*	60,94 \pm 5,57*	52,65 \pm 3,07*
Тяжкий перебіг	6,72 \pm 0,13*	75,83 \pm 2,21*	61,50 \pm 3,28*
Здорові діти	16,74 \pm 2,18	18,65 \pm 2,46	17,02 \pm 1,23

Примітка: * – вірогідна різниця порівняно з показниками здорових дітей (p<0,05).

Також нами досліджений вміст деяких представників цитокинової мережі: IFN- γ , IL-4 і IL-10 (табл. 3). Як відомо, фізіологічні ефекти IFN- γ спрямовані як на підтримку неспецифічного запалення, так й на регуляцію адаптивної імунної відповіді. Високий рівень продукції IFN- γ асоціюється з ефективною імунною відповіддю організму людини [3, 9].

Як видно з представлених даних у всіх обстежених дітей з ГГС спостерігали суттєве зниження продукції IFN- γ (див. табл. 3). Найменше значення рівня цього цитокину встановлено у дітей з тяжким перебігом ГГС. Так, отриманий результат в 2,5 рази був нижче показника здорових дітей (p<0,05).

IL-4 разом з IL-10 гальмує виділення IFN- γ Th1-лімфоцитами. За сучасними даними саме IL-4 (разом з IFN- γ) являється ключовим фактором, що визначає тип імунної відповіді, потенціює експресію секреторного компонента IgA. IL-10 є антагоністом IFN- γ : обидва цитокини інгібують не лише продукцію, але й біологічну активність один одного. Надлишок IL-10 сприяє зниженню протиінфекційного захисту і формуванню хронічних форм інфекційних захворювань [3, 8, 9].

Як видно з таблиці 3, в слині дітей з ГГС встановлено підвищення вмісту протизапальних

цитокинів – IL-4 і IL-10. Так, кратність збільшення рівня IL-4 складала 2,0 у дітей з легким перебігом ГГС, 3,3 – при середньотяжкому і 4,1 – тяжкому перебігу ГГС (p<0,05). Ступінь підвищення IL-10 також залежав від тяжкості перебігу ГГС, найвищий показник вмісту IL-10 встановлений у дітей з тяжким перебігом хвороби.

На наш погляд, встановлені зміни у цитокиновій мережі є одним з факторів, що перешкоджають формуванню Th1-залежної імунної відповіді, сприяють розвитку дефектної реакції імунної системи організму дитини у відповідь на проникнення і подальшу реплікацію вірусу простого герпесу.

Висновки. У дітей з гострим герпетичним стоматитом спостерігаються виражені зміни у складі мікрофлори порожнини рота, вираженість яких залежить від ступеня тяжкості захворювання. При гострому герпетичному стоматиті встановлено зниження синтезу IFN- γ , яке обумовлено високою продукцією IL-4 і IL-10, що призводить до зниження протиінфекційного захисту організму дитини, можливого подальшому прогресуванню дисбіозу мікрофлори ротової порожнини і формуванню хронічних форм інфекції. Встановлені порушення потребують подальшого вивчення і розробки адекватних методів корекції.

Список літератури

1. **Рабинович И. М.** Применение имудона в комплексной терапии дисбактериозов полости рта / И. М. Рабинович, О. Ф. Рабинович, Н. А. Дмитриева [и др.] // Клиническая стоматология. – 2001. – № 3. – С. 70-72.
2. **Микрофлора полости рта: норма и патология :** учебное пособие / Е. Г. Зеленова, М. И. Заславская, Е. В. Салина, С. П. Рассанов. – Нижний Новгород : НГМА, 2004. – 158с.
3. **Кетлинский С. А.** Цитокины / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев. – СПб : ООО «Издательство Фолиант», 2008. – 552 с.
4. **Кравченко Л. С.** Зміни біохімічних та імунологічних показників факторів захисту ротової рідини при захворюваннях слизової оболонки порожнини рота / Л. С. Кравченко, Н. О. Бас // Український стоматологічний альманах. – 2011. – № 6. – С. 38-41.
5. **Мікробіологія з основами імунології** / В. В. Данилейченко, Й. М. Федечко, О. П. Корнійчук [та ін.]. – К. : Медицина, 2009. – 392 с.
6. **Павленко Л. Г.** Применение пробиотиков в комплексном лечении острого герпетического стоматита у детей / Л. Г. Павленко, М. Ю. Бабанина // Здоров'я України. – 2008. – № 23-24. – С. 80-81.
7. **Роль микрофлоры в патологии слизистой оболочки полости рта** / И. М. Рабинович, Г. В. Банченко, О. Ф. Рабинович [и др.] // Стоматология. 2002. – № 5. – С. 48-50.
8. **Dinarello C.** Role of pro- and anti-inflammatory cytokines during inflammation: experimental and clinical findings / C. Dinarello // J. Biol. Regul. Homeost. Agents. – 2008. – Vol. 11 (3). – P. 91-103.
9. **Maher J. J.** Cytokines: overview / J. J. Maher // Seminars in Liver Diseases. – 2009. – Vol. 19, № 2. – P. 109-115.

Надійшла 25.02.15

