

Микробиота респираторного тракта у детей при тяжелой бронхиальной астме

И.А. Федоров, Ю.Э. Пушкарева, О.Г. Рыбакова

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск



Оригинальная
статья

Цель исследования: оценить характер микробиоты бронхиального дерева у детей при бронхиальной астме (БА) тяжелого течения.

Дизайн: исследование по типу поперечного среза.

Материалы и методы. В исследование входили дети с тяжелой БА (основная группа, $n = 63$) и среднетяжелой БА (группа сравнения, $n = 34$) в стадии ремиссии; основная группа была разделена на три возрастные подгруппы: 4–7 лет, 8–11 лет и 12–14 лет. Всем пациентам проводилось микробиологическое и бактериологическое исследование бронхиальных смывов, полученных при диагностической бронхоскопии.

Результаты. При тяжелом течении БА в период ремиссии в бронхиальных смывах выявлялись *Streptococcus pneumoniae* (5,6%) и грам-отрицательные кокки *Acinetobacter* (5,6%), которые отсутствовали при среднетяжелом течении заболевания ($p < 0,05$), а также статистически значимо чаще, чем в группе сравнения, обнаруживались *Chlamydia trachomatis* (74% против 40%; $p < 0,05$). В отличие от детей 8–11 и 12–14 лет, у дошкольников высевался *Staphylococcus saprophyticus* и полностью отсутствовал *S. epidermidis* ($p < 0,05$). В подгруппе 8–11 лет статистически значимо чаще, чем у детей в возрасте 4–7 лет, высевался *S. viridans* ($p < 0,05$).

Заключение. Полученные данные могут свидетельствовать об увеличении колонизации респираторного тракта микрофлорой у детей с тяжелой БА с возрастом.

Ключевые слова: дети, бронхиальная астма, микробиота, бронхиальные смывы.

Для цитирования: Федоров И.А., Пушкарева Ю.Э., Рыбакова О.Г. Микробиота респираторного тракта у детей при тяжелой бронхиальной астме // Доктор.Ру. 2018. № 11 (155). С. 57–60. DOI: 10.31550/1727-2378-2018-155-11-57-60

Respiratory Tract Microbiota in Children with Severe Bronchial Asthma

I.A. Fedorov, Yu.E. Pushkareva, O.G. Rybakova

Yuzhno-Uralsky State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Chelyabinsk



Original
Paper

Study Objective: to assess characteristics of microbiota of the bronchial tree in children with severe bronchial asthma (BA).

Study Design: cross-sectional study.

Material and Methods. The study involved children with severe BA (index group, $n = 63$) and moderate BA (control group, $n=34$) in remission; the index group was split into three age subgroups: aged 4–7, aged 8–11 and aged 12–14 years. All the patients had microbiological and bacteriologic analysis of bronchial swabs received during diagnostic bronchoscopy.

Study Results. In case of severe BA in remission *Streptococcus pneumoniae* (5.6%) and Gram-variable cocci *Acinetobacter* (5.6%) were found in bronchial swabs; they were not found in the moderate course of the disease ($p < 0.05$); they were also identified statistically significantly oftener than in the control group; *Chlamydia trachomatis* were also identified (74% vs 40%; $p < 0.05$). As compared to children aged 8–11 and 12–14 years, the preschool children had *Staphylococcus saprophyticus* and no *S. epidermidis* ($p < 0.05$) in swabs. Subgroup aged 8–11 years had *S. viridans* found in swabs statistically significantly oftener than in children aged 4–7 years ($p < 0.05$).

Conclusion. The received data may testify to increase of respiratory tract conolonization with microflora in children with severe BA with age.

Keywords: children, bronchial asthma, microbiota, bronchial swabs.

For reference: Fedorov I.A., Pushkareva Yu.E., Rybakova O.G. Respiratory Tract Microbiota in Children with Severe Bronchial Asthma. Doctor.Ru. 2018; 11(155): 57-60. DOI: 10.31550/1727-2378-2018-155-11-57-60

В 2017 г. в зарубежной печати появился консенсусный документ PRACTALL, который был сфокусирован на роли микробиома (микробиоты) у пациентов с бронхиальной астмой (БА), атопическим дерматитом и пищевой аллергией [1]. Микробиота человеческого организма ассоциируется прежде всего с ЖКТ, урогенитальным трактом, плацентой, грудным молоком. Между тем термины «микробиота», «дисбиоз микробиоты» применимы и в отношении респираторного тракта (нижних дыхательных путей), где, как оказалось, микробные биопленки существуют как у здоровых людей, так и при патологии. Идентификация флоры нижних дыхательных путей в бронхиальных смывах

у здоровых взрослых испытуемых позволила ученым развеять миф о стерильности нижних дыхательных путей легких [2]. Профессор J.P. Kiley, анализируя передовые тематики исследований в области пульмонологии, подчеркнул, что изучение легочного микробиома — важный рубеж и вызов, ведущий к новому пониманию трендов и путей в интерпретации роли микроорганизмов у здоровых и больных людей [3]. Такие бактерии, как *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, были выделены из индуцированной мокроты пациентов-астматиков в периоды обострения и ремиссии заболевания [1, 2, 4]. Однако роль,

Пушкарева Юлия Эдуардовна — к. м. н., ассистент кафедры факультетской педиатрии им. Н.С. Тюриной ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России. 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, д. 16. E-mail: upush@mail.ru

Рыбакова Ольга Геннадьевна — к. м. н., ассистент кафедры пропедевтики детских болезней и педиатрии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России. 454048, г. Челябинск, ул. Рылеева, д. 10. E-mail: gallo53@mail.ru

Федоров Игорь Анатольевич — д. м. н., доцент, заведующий кафедрой факультетской педиатрии им. Н.С. Тюриной ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России. 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, д. 16. E-mail: ifedorov@mail.ru

которую они играют в респираторном тракте, до сих пор остается неясной.

Новые данные о микробиоте нижних дыхательных путей размывают классические термины «колонизация», «инфекция», побуждая исследователей строить новые научные гипотезы о взаимосвязи микробиоты с заболеваниями, в частности с БА: ее началом, хронизацией и тяжестью течения. Бактериальная микробиота нижних дыхательных путей обсуждается как фактор, провоцирующий обострения БА и/или являющийся причиной сохранения симптомов заболевания. Установлено, что легочная микробиота у пациентов с астмой и ХОБЛ изменена. На основании этого наблюдения выдвинуто предположение, что дисбаланс микробов в легких, или дисбиоз легкого, может играть причинную роль в патогенезе этих заболеваний [1].

Антибактериальная терапия при обострении БА у детей рекомендуется при появлении мокроты гнойного характера, предполагаемой бактериальной этиологии инфекции, проявлениях обструкции, не поддающихся противоастматической терапии [5]. Возникает вопрос: могут ли антибиотики, которые используются при лечении респираторного тракта, влиять на легочный дисбиоз при астме и восстанавливать микробиоту? [2]

Проблема влияния микробных агентов на течение БА, и в частности тяжелой БА, является сложной, неоднозначной и далека от разрешения в астмологии в настоящее время. Спектр представлений об участии флоры в формировании и развитии тяжелой БА у детей был и остается чрезвычайно широким: от полного отрицания ее значения до признания за ней ведущей роли в развитии этого патологического состояния.

Учитывая вышеперечисленные сведения и новый взгляд на легочный микробиом в целом, мы позволили себе в настоящей статье обратиться к собственным данным, полученным в то время, когда использование бронхологических методов исследования у детей с БА было этически возможным [6]¹.

Цель исследования: оценить характер микробиоты бронхиального дерева у детей при бронхиальной астме тяжелого течения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование организовано по типу поперечного среза. Под наблюдением находились 97 детей с БА в стадии ремиссии, которые неоднократно проходили обследование и лечение в городском аллергологическом центре ГKB № 1 г. Челябинска: 63 ребенка с тяжелым течением БА (*основная группа*) и 34 ребенка со среднетяжелым течением заболевания (*группа сравнения*). У детей были исключены врожденные и наследственные болезни бронхолегочной системы.

Основная группа состояла из трех возрастных подгрупп: дети дошкольного возраста (4–7 лет; n = 7); дети младшего школьного возраста (8–11 лет; n = 21) и дети старшего школьного возраста (12–14 лет; n = 35).

Общая продолжительность заболевания у пациентов с тяжелым течением БА была статистически значимо больше, чем со среднетяжелым течением: $6,2 \pm 0,35$ и $4,5 \pm 0,33$ года соответственно ($p < 0,05$). Наибольший стаж заболевания имели дети старшего возраста.

Материалом для микробиологического исследования служили бронхиальные смывы, полученные при проведении диагностической бронхоскопии у пациентов выделенных групп в стадии ремиссии БА. Ингаляционных кортикостероидов дети не получали, так как исследование проводилось в период «вхождения» первой национальной программы «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактики» (1997) в общую педиатрическую практику.

Бактериологическое исследование с целью идентификации возбудителей, определения их диагностического титра и чувствительности выполнялось по общепринятым методикам. Критерием этиологической значимости микроорганизмов являлось выделение бактерий в концентрациях 10^4 КОЕ/мл и более. Следует отметить, что бактериологическое исследование в описываемой работе сопровождало получение основных иммуноморфологических данных респираторного тракта и не имело приоритетного значения.

Все исследования были одобрены локальным этическим комитетом ГKB № 1 г. Челябинска.

Статистический анализ данных выполнен на базе программ Statistica 6.0, SPSS 12.0. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Микробиота бронхиального дерева при тяжелом течении БА в период ремиссии характеризовалась выявлением в бронхиальных смывах *S. pneumoniae* и грамотрицательных кокков *Acinetobacter*, которые отсутствовали при среднетяжелом течении заболевания ($p < 0,05$), а также статистически значимо более частым, чем в группе сравнения, обнаружением *Chlamydia trachomatis* (74,4% против 40%; $p < 0,05$). Эти отличия могли свидетельствовать о снижении противомикробной антиколонизационной резистентности респираторного тракта и опосредоваться низким содержанием антителообразующих клеток в стенке бронхов и IgM в бронхоальвеолярной лаважной жидкости (*табл. 1*) [9].

Анализ типичной бактериальной микрофлоры бронхиального дерева у детей разного возраста с тяжелой БА в период ремиссии заболевания выявил ряд различий, вероятно, связанных как с возрастными особенностями системы антимикробной защиты респираторного тракта, так и с течением БА и ее длительностью. Так, у детей дошкольного возраста было выделено лишь три вида микроорганизмов (*S. aureus*, *S. saprophyticus* и *Candida*), в возрасте 8–11 лет определялось уже десять разновидностей микроорганизмов и их ассоциаций, а в старшем школьном возрасте — одиннадцать видов и ассоциаций микроорганизмов. У детей младшего и старшего школьного возраста стали выявляться более патогенные представители кокковой флоры: *S. pneumoniae*, *S. viridans*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes* и грамотрицательные кокки *Acinetobacter* и *Citrobacter*. В подгруппе дошкольного возраста, в отличие от двух других подгрупп, высевался *S. saprophyticus* и, напротив, полностью отсутствовал *S. epidermidis* (различия с подгруппами 8–11 и 12–14 лет статистически значимы: $p < 0,05$). У детей 8–11 лет статистически значимо чаще, чем у дошкольников, высевался *S. viridans* ($p < 0,05$) (*табл. 2*) [9].

Эти данные могут свидетельствовать об увеличении колонизации респираторного тракта микрофлорой у детей

¹ Сейчас нами применяются неинвазивные методы. В частности, для получения материала из нижних дыхательных путей легких используется модифицированный метод индуцированной мокроты [7, 8]. — Авт.

Таблица 1

Микробиота бронхиального дерева у детей с бронхиальной астмой в период ремиссии в зависимости от степени тяжести заболевания

Микрофлора	Тяжелая БА (n = 63)		Среднетяжелая БА (n = 34)	
	абс.	%	абс.	%
Роста нет	27	42,9	13	38,2
Положительный рост	36	57,1	21	61,8
В том числе				
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2	5,6*	0	0,0
<i>S. viridans</i>	5	13,9	1	4,8
<i>S. pyogenes</i>	3	8,3	3	14,3
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	11,1	5	23,8
<i>S. saprophyticus</i>	1	2,8	2	9,5
<i>S. epidermidis</i>	6	16,7	2	9,5
<i>Acinetobacter</i>	2	5,6*	0	0,0
<i>Candida</i>	7	19,4	5	23,8
<i>Citrobacter</i>	1	2,8	0	0,0
<i>S. epidermidis</i> + <i>Candida</i>	2	5,6	1	4,8
<i>S. pyogenes</i> + <i>Candida</i>	1	2,8	0	0,0
<i>S. viridans</i> + <i>Candida</i>	1	2,8	1	4,8
<i>Candida</i> + <i>Proteus</i>	1	2,8	0	0,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> + <i>Candida</i> + <i>S. epidermidis</i>	0	0,0	1	4,8

Примечания.

1. БА — бронхиальная астма.
2. Знаком (*) отмечены статистически значимые различия между группами: $p < 0,05$.

при тяжелой БА с возрастом на фоне сниженного местного иммунитета, недостаточной противомикробной антиколонизационной резистентности слизистой оболочки бронхов и эозинофильного фенотипа. Очевидно, что бактериальная микробиота может колонизировать подготовленную иммунопатологическими реакциями слизистую бронхов. Микроорганизмы, в свою очередь, могут способствовать воспалению через повреждение бронхиального эпителия, активацию системы комплемента, повышение чувствительности клеток-мишеней к действию гистамина. Таким образом, может создаваться порочный круг взаимного потенцирования воспаления и десенситизации бета-адренергической рецепции, ведущей к развитию и прогрессированию гиперреактивности дыхательных путей, а следовательно, и к утяжелению течения БА [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данные, полученные нами не современными дорогостоящими методами молекулярно-генетического поиска (ПЦР и секвенирование), сопоставимы с зарубежными литературными данными последнего пятилетия [4, 10, 11]. Представляет научный интерес тот факт, что в группе детей, входившей в исследование, не применялись ингаляционные кортикостероиды. В настоящее время такие наблюдения крайне редки и могут служить важной отправной точкой для дальнейших исследований и анализа. Отсутствие терапии ингаляционными кортикостероидами также позволяет исключить у детей наличие вторичных изменений микробиоты, связанных с использованием этих препаратов.

Остаются нерешенными вопросы о том, какое влияние на легочную микробиоту оказывают лекарства, используемые в терапии астмы (такие как ингаляционные кортикостероиды, бронходилататоры), условия внешней среды (в частности, проживание в загрязненных районах), особенности

Таблица 2

Микробиота бронхиального дерева у детей с тяжелым течением бронхиальной астмы в период ремиссии в зависимости от возраста

Микрофлора	4 года – 7 лет (n = 7) [1]		8–11 лет (n = 21) [2]		12–14 лет (n = 35) [3]		P
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Роста нет	4	57,1	8	38,1	14	40,0	–
Положительный рост	3	42,9	13	61,9	21	60,0	–
В том числе							
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0	0,0	1	7,7	1	4,8	–
<i>S. viridans</i>	0	0,0	2	15,4	3	14,3	$p_{1-2} < 0,05$
<i>S. pyogenes</i>	0	0,0	1	7,7	2	9,5	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	33,3	1	7,7	2	9,5	–
<i>S. saprophyticus</i>	1	33,3	0	0,0	0	0,0	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,05$
<i>S. epidermidis</i>	0	0,0	2	15,4	4	19,0	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,05$
<i>Acinetobacter</i>	0	0,0	1	7,7	1	4,8	–
<i>Candida</i>	1	33,3	2	15,4	4	19,0	–
<i>Citrobacter</i>	0	0,0	1	7,7	0	0,0	–
<i>S. epidermidis</i> + <i>Candida</i>	0	0,0	1	7,7	1	4,8	–
<i>S. pyogenes</i> + <i>Candida</i>	0	0,0	0	0,0	1	4,8	–
<i>S. viridans</i> + <i>Candida</i>	0	0,0	0	0,0	1	4,8	–
<i>Candida</i> + <i>Proteus</i>	0	0,0	0	0,0	1	4,8	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> + <i>Candida</i> + <i>S. epidermidis</i>	0	0,0	1	7,7	0	0,0	–

Примечание. В таблице указаны только статистически значимые различия между группами.

питания, а также вирусные инфекции верхних дыхательных путей у людей, не страдающих бронхиальной астмой, и астматиков; возможны ли профилактика и лечение астмы с помощью пробиотиков, пребиотиков или их сочетания и приведет ли применение этих средств к подавлению дисбиотической флоры и восстановлению микробиоты с уче-

том существующей оси «кишечник — легкие»; является ли повреждение легочного микробиома причиной заболевания или это только маркер повреждения и воспаления слизистой оболочки бронхов. Для решения этих вопросов требуются совместные усилия многих научных коллективов [1, 4, 12].

ЛИТЕРАТУРА

- Huang Y.J., Marsland B.J., Bunyavanich S., O'Mahony L., Leung D.Y., Muraro A. et al. The microbiome in allergic disease: Current understanding and future opportunities-2017 PRACTALL document of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology and the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2017; 139(4): 1099–110. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.02.007
- Durack J., Boushey H.A., Lynch S.V. Airway microbiota and the implications of dysbiosis in asthma. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2016; 16(8): 52. DOI: 10.1007/s11882-016-0631-8
- Kiley J.P., Caler E.V. The lung microbiome. A new frontier in pulmonary medicine. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2014; 11(Suppl. 1): S66–70. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201308-285MG
- Huang Y.J., Boushey H.A. The microbiome in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2015; 135(1): 25–30. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.11.011
- Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». 5-е изд., перераб. и доп. М.: Оригинал-макет; 2017. 160 с. [Natsional'naya programma 'Bronkhial'naya astma u detei. Strategiya lecheniya i profilaktika'. 5-e izd., pererab. i dop. M.: Original-maket; 2017. 160 s. (in Russian)]
- Морфологические аспекты патогенеза atopической бронхиальной астмы тяжелого течения у детей. *Педиатрия.* 1997; 5: 4–8. [Morfologicheskie aspekty patogeneza atopicheskoi bronkhial'noi astmy tyazhelogo techeniya u detei. *Pediatriya.* 1997; 5: 4–8. (in Russian)]
- Федоров И.А., Жаков Я.И., Рыбакова О.Г., Минина Е.Е., Медведева Л.В., Петрунина С.Ю. Способ диагностики бронхиальной астмы у детей младшего возраста: патент 2622019 РФ № 2016109306; заявл. 15.03.2016; опубл. 08.06.2017. Бюл. № 16. 14 с. [Fedorov I.A., Zhakov Ya.I., Rybakova O.G., Minina E.E., Medvedeva L.V., Petrunina S.Yu. Sposob diagnostiki bronkhial'noi astmy u detei mladshogo vozrasta: patent 2622019 RF № 2016109306; zayavl. 15.03.2016; opubl. 08.06.2017. *Byul.* № 16. 14 s. (in Russian)]
- Жаков Я.И., Рыбакова О.Г., Бабайлов М.С. Применение метода индуцированной мокроты у детей с впервые выявленной бронхиальной астмой: цито-иммунологические особенности. *Уральский мед. журн.* 2009; 7(61): 34–7. [Zhakov Ya.I., Rybakova O.G., Babailov M.S. Primenenie metoda indutsirovannoi mokroty u detei s vperve vyavlennoi bronkhial'noi astmoi: tsito-immunologicheskie osobennosti. *Ural'skii med. zhurn.* 2009; 7(61): 34–7. (in Russian)]
- Федоров И.А. Клинические особенности и иммуноморфологические аспекты патогенеза тяжелого течения бронхиальной астмы у детей: Дис. ... докт. мед. наук. Челябинск, 1999. 40 с. [Fedorov I.A. Klinicheskie osobennosti i immunomorfologicheskie aspekty patogeneza tyazhelogo techeniya bronkhial'noi astmy u detei: Dis. ... dokt. med. nauk. Chelyabinsk, 1999. 40 s. (in Russian)]
- Dickson R.P., Huffnagle G.B. The lung microbiome: new principles for respiratory bacteriology in health and disease. *PLoS Pathog.* 2015; 11(7): e1004923. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004923
- Chung K.F. Airway microbial dysbiosis in asthmatic patients: A target for prevention and treatment? *J. Allergy Clin. Immunol.* 2017; 139(4): 1071–81. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.02.004
- Huang Y.J. The respiratory microbiome and innate immunity in asthma. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2015; 21(1): 27–32. DOI: 10.1097/MCP.000000000000124

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ / LIST OF ABBREVIATIONS

АД	— артериальное давление	ФЖЕЛ	— форсированная жизненная емкость легких
АЛТ	— аланинаминотрансфераза	ХОБЛ	— хроническая обструктивная болезнь легких
АСТ	— аспартатаминотрансфераза	ЦНС	— центральная нервная система
АТФ	— аденозинтрифосфат	ЧДД	— частота дыхательных движений
ВИЧ	— вирус иммунодефицита человека	ЧСС	— частота сердечных сокращений
ДВСК	— диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови	ЭКГ	— электрокардиография, электрокардиограмма
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота	Эхо-КГ	— эхокардиография, эхокардиограмма
ЖКТ	— желудочно-кишечный тракт	ЭЭГ	— электроэнцефалография, электроэнцефалограмма
ИВЛ	— искусственная вентиляция легких	ВРАР	— англ. variable positive airway pressure (переменное положительное давление в дыхательных путях)
ИМТ	— индекс массы тела	СРАР	— англ. constant positive airway pressure (постоянное положительное давление в дыхательных путях)
ИФА	— иммуноферментный анализ	FiO ₂	— фракция кислорода во вдыхаемом воздухе
КТ	— компьютерная томография, компьютерная томограмма	Ig	— иммуноглобулин
ЛФК	— лечебная физическая культура	pCO ₂	— парциальное давление углекислого газа
МРТ	— магнитно-резонансная томография, магнитно-резонансная томограмма	pO ₂	— парциальное давление кислорода
ОРВИ	— острая респираторная вирусная инфекция	SaO ₂	— насыщение кислородом капиллярной крови
ОФВ ₁	— объем форсированного выдоха за 1-ю секунду	TGF	— англ. transforming growth factor (трансформирующий фактор роста)
ПЦР	— полимеразная цепная реакция	Th	— Т-хелперы
РНК	— рибонуклеиновая кислота		
СОЭ	— скорость оседания эритроцитов		
УЗИ	— ультразвуковое исследование		
ФВД	— функция внешнего дыхания		