

О.В. Бухарин¹, О.Е. Челпаченко¹, Е.И. Данилова², И.Н. Чайникова^{1,2}, Н.Б. Перунова¹,
Е.В. Иванова¹, И.А. Никифоров¹, Л.П. Федотова¹, Т.А. Бондаренко¹, А.В. Салгина¹

МИКРОСИМБИОЦЕНОЗ КИШЕЧНИКА У ДЕТЕЙ С РЕАКТИВНЫМ АРТРИТОМ

¹Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза, Оренбург; ²Оренбургский государственный медицинский университет

Цель. Изучить состояние кишечного микросимбиоза у детей с реактивным артритом (РеА) с оценкой биопленкообразования (БПО) микросимбионтов и способности изменять уровень цитокинов (их антицитокиновую активность) в условиях *in vitro*. **Материалы и методы.** Проведено исследование кишечного микросимбиоза бактериологическим методом 34 детей с РеА и 25 условно здоровых детей от 3 до 16 лет. Идентификация микроорганизмов осуществлялась с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии, антицитокиновая активность (АЦА) микросимбионтов — по методике Бухарина О.В. с соавт. (2011), биопленкообразование — по O'Toole G.A., Kolter R. (1998). **Результаты.** На основании различий видового состава кишечной микробиоты сконструирована дискриминантная модель, позволившая отделить группу детей с РеА от здоровых лиц. Микросимбиоз пациентов с РеА характеризовался увеличением численности условно патогенных микроорганизмов (УПМ) (энтеробактерий, кластридий, бактериоидов, грибов рода *Candida*), повышением их БПО и уровня АЦА. **Заключение.** Полученные данные вносят вклад в расшифровку механизмов развития спондилоартритов и раскрывают роль микробного фактора при данной патологии. Гиперколонизация кишечника человека УПМ, обладающих выраженной способностью к БПО и регулирующих уровень цитокинов, способствует усилению артритогенного потенциала и служит дополнительным маркером риска развития артрита у детей.

Журн. микробиол., 2016, № 6, С. 41—48

Ключевые слова: микросимбиоз кишечника, антицитокиновая активность, биопленкообразование, реактивный артрит, дети

О.В. Bukharin¹, О.Е. Chelpanchenko¹, Е.И. Danilova², И.Н. Chainikova^{1,2}, Н.В. Perunova¹,
Е.В. Ivanova¹, И.А. Nikiforov¹, Л.П. Fedotova¹, Т.А. Bondarenko¹, А.В. Salgina¹

GUT MICROSymbiOCENOSIS IN CHILDREN WITH REACTIVE ARTHRITIS

¹Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg; ²Orenburg State Medical University, Russia

Aim. To study the state of gut microsymbiocenosis in children with reactive arthritis (RA), with the assessment of biofilm formation (BFF) of microsymbiotics and the ability to change cytokine levels (their anticytokine activity) *in vitro*. **Materials and methods.** The investigation of gut microsymbiocenosis by means of bacteriological method was conducted in 34 children with RA and 25 relatively healthy 3 — 16 year- old children. Microorganisms were identified with the help of MALDI-TOF mass-spectrometry, anticytokine activity (ACA) of microsymbiotics — according to Bukharin O.V. et al. (2011), biofilm formation — according to O'Toole G.A., Kolter R. (1998). **Results.** On the ground of species composition differences of gut microbiota discrimination model was created which allowed to separate the group of children with RA from healthy individuals. Microsymbiocenosis of patients with RA was characterized by increasing number of opportunistic microorganisms (OM) (enterobacteria, clostridia, bacteroides, and *Candida*), BFF and ACA level. **Conclusion.** The obtained data greatly contribute to the deciphering of spondyloarthritis and disclose the role of microbial factor under given pathology. Hypercolonisation of human gut with OM, having pronounced ability to BFF and regulating cytokine level, promotes strengthening of arthritogenic potential and serves as additional marker of arthritis development risk in children.

Key words: gut microsymbiocenosis, anticytokine activity, biofilm formation, reactive arthritis, children

ВВЕДЕНИЕ

Реактивные артриты (ReA), входящие в группу спондилоартритов, занимают лидирующее положение в структуре ревматических воспалительных заболеваний и ассоциируются с острой или персистирующей кишечной, носоглоточной и урогенитальной инфекцией [5]. Наряду с генетической предрасположенностью (ассоциация ReA с антигеном HLA-B27), антигенной мимикрией [7, 8, 15] в последние годы в качестве одного из патогенетических механизмов формирования патологии суставов рассматриваются нарушения состояния микросимбиоза толстого кишечника [6 — 8]. В настоящее время активно изучается участие нормобиоты в поддержании стабильности локального, так называемого кишечного гомеостаза (gut homeostasis, термин широко используемый зарубежными исследователями) [10]. Структурными и функциональными компонентами этого гомеостаза являются: доминантная и ассоциативная микрофлора, продукты ее метаболизма, разновидности эпителиальных, миелоидных, лимфоидных клеток кишечника, компоненты муцина, ферменты, белки, антимикробные пептиды и другие молекулы и клетки [9]. В этом аспекте интерес представляют цитокины, являющиеся той организующей системой, которая формирует и реализует весь комплекс защитных реакций при внедрении патогенов, в том числе иммунную толерантность к нормальной микробиоте, проницаемость кишечного барьера, колонизационную резистентность, мукозальный иммунитет и воспаление [7, 9, 10]. При определенных условиях (высокая микробная нагрузка, особенности генотипа хозяина и др.) патогены и условно патогенные микросимбионты (УПМ) способны модифицировать цитокины (деградация, нейтрализация, блокирование с помощью синтеза белков, имитирующих цитокины или их рецепторы, связывание цитокинов белками наружной мембраны), а также использовать их в качестве ростовых факторов, благодаря наличию у бактерий рецепторов к цитокинам [11, 12], регулируя тем самым иммунный гомеостаз.

Альтернативой кишечной микробиоте в условиях эубиоза являются изменения в составе и функции кишечной микрофлоры (дисбиоз). Одним из диагностических критериев выявления дисбиотических состояний толстого кишечника служит снижение содержания доминантных анаэробных симбионтов — бифидобактерий, которым принадлежит ключевая функция в распознавании «свой-чужой» на основе оппозитного феномена усиление/подавление важнейших физиологических характеристик выживания микросимбионтов пары «доминант-ассоциант» [2]. Предполагается, что первичная дискриминация чужеродного материала бифидофлорой — инициальный этап последующего «сигналинга» в регуляции иммунных механизмов гомеостаза хозяина через дендритные клетки [1]. На формирование оптимального цитокинового баланса в биотопе кишечника влияют количественные изменения уровня и профиля секреции цитокинов при контакте клеток микробиоты и их метаболитов с эффекторами врожденного и адаптивного иммунитета, а также за счет прямого взаимодействия их с цитокинами (антицитокиновая активность, АЦА) [3]. Поддерживаемый микробиотой цитокиновый баланс обеспечивает оптимальное функционирование кишечного биотопа в условиях высокой антигенной нагрузки [9, 13]. При дисбиозе кишечника, стрессе и иммунной недостаточности условно патогенные представители

кишечной микробиоты могут реализовывать артритогенный потенциал, способствуя формированию артритов [7, 8].

В поддержании и сохранении кишечного гомеостаза наряду с участием цитокиновой сети важная роль принадлежит и межмикробному взаимодействию кишечных микросимбионтов, в частности, биопленкообразованию (БПО), обеспечивающему стратегию выживания в биотопе хозяина [2]. БПО, защищая УПМ от иммунных механизмов, предоставляет возможность беспрепятственного проникновения микробов в сосудистый кровоток с последующей транслокацией в синовиальную оболочку суставов, где формируются стойкие очаги эндогенной инфекции, трудно поддающиеся лечению антимикробными средствами из-за неспособности разрушать бактериальную биопленку ассоциантов — возбудителей воспалительного процесса. Отсюда хронизация и рецидивирующее течение инфекционного процесса; требующие индивидуальной этиотропной терапии [4, 10].

Учитывая сложные межмикробные взаимоотношения под влиянием иммунорегуляторных механизмов и триггерной роли микроорганизмов и их антигенов в формировании РеА, целью работы явилось изучение состояния кишечного микросимбиоза у детей, страдающих РеА, с оценкой БПО и способности микросимбионтов изменять уровень цитокинов (их антицитокиновую активность) в условиях *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе получены данные обследования 59 человек, разделенных на 2 группы. Первая обследуемая группа была представлена 34 детьми (от 3 до 16 лет) с РеА, вторую группу (группа сравнения) составили 25 условно здоровых детей. Для постановки диагноза РеА использовали критерии Международного совещания по РеА (Берлин, 1996). Исследование микробиоценоза кишечника осуществлялось в соответствии с «Методическими рекомендациями по применению бактериальных биологических препаратов в практике лечения больных кишечными инфекциями. Диагностика и лечение дисбактериоза кишечника» (М., 1986). Выделение и идентификация анаэробных микроорганизмов проводились в соответствии с руководством «Wadsworth-KTL anaerobic bacteriology manual» (2002). Для верификации результатов идентификации все изоляты были дополнительно идентифицированы по их белковым профилям с использованием MALDI-TOF масс-спектрометра «Microflex» («Bruker Daltonics», Германия). Оценка состояния кишечного микробиоценоза по степеням проводилась в соответствии с приказом МЗ РФ от 9 июня 2003 года № 231.

Антицитокиновая активность (АЦА) в отношении провоспалительных (TNF- α , INF- γ , IL-6) и противовоспалительного (IL-10) цитокинов определяли путем соинкубирования экзометаболитов бактерий и грибов с рекомбинантными цитокинами по методике [3] и выражали в пг/мл и в % — изменения количества цитокинов в опыте по сравнению с исходным уровнем в контроле. Способность микроорганизмов к БПО определяли по методике [14]. БПО выражали в условных единицах, рассчитывая коэффициент биопленкообразования ($K_{\text{БПО}}$): $K_{\text{БПО}} = \text{ОДк} / \text{ОДб}$, где ОДк — оптическая плотность опытных проб и проб группы сравнения, а ОДб — оптическая плотность питательного бульона.

Полученные результаты были обработаны параметрическими и непараметрическими методами в компьютерной оболочке Windows с помощью Microsoft Excel и программы «Биостат» с использованием программы STATISTICA 10 и определением критерия Хи-квадрат; достоверность различий между показателями составляла $p < 0,05$. Для выявления этиологической значимости микроорганизмов в формировании РеА был проведен дискриминантный анализ данных бактериоло-

гического исследования кишечного микросимбиоза здоровых детей в сравнении с детьми с РеА.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для выявления особенностей состояния микросимбиоза дистального отдела толстого кишечника у детей с РеА по результатам бактериологического исследования была сконструирована дискриминантная модель двух групп пациентов — больных реактивным артритом и условно здоровых. Для этого была сформирована презентативная клиническая выборка, информационно описывающая 21 случай больных РеА и 10 случаев здоровых детей. Все тесты включали значения логарифмов КОЕ для каждого из 51 микроорганизмов, выступающих в роли независимых переменных. Средствами комплекса STATISTICA 10 по этим данным был проведен пошаговый дискриминантный анализ исследуемого микробного разнообразия. В итоге была построена дискриминантная модель, включающая только 22 из 51 микроорганизмов, чьи независимые вклады в общую дискриминацию выборки определены как наиболее значимые. Значения полученной дискриминантной функции уверенно разде-

Таблица 1. Факторная структура дискриминантного корня к рисунку

<i>Escherichia coli</i> Lac ±	-0.077
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	-0.038
<i>Bacteroides vulgatus</i>	-0.035
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-0.033
<i>Actinomyces israelii</i>	-0.032
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	-0.032
<i>Bacteroides caccae</i>	-0.032
<i>Bacillus</i> spp.	-0.017
<i>Propionibacterium acnes</i>	-0.016
<i>Enterococcus faecalis</i>	-0.014
<i>Clostridium indolis</i>	-0.014
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-0.012
<i>Escherichia coli</i> Lac+	-0.007
<i>Actinomyces oris</i>	-0.006
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.002
<i>Bifidobacterium longum</i>	0.004
<i>Cronobacter</i> spp.	0.013
<i>Staphylococcus arletae</i>	0.015
<i>Proteus</i> spp.	0.015
<i>Kocuria varians</i>	0.015
<i>Escherichia coli</i> Lac-	0.016
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	0.021
<i>Bacteroides uniformis</i>	0.022

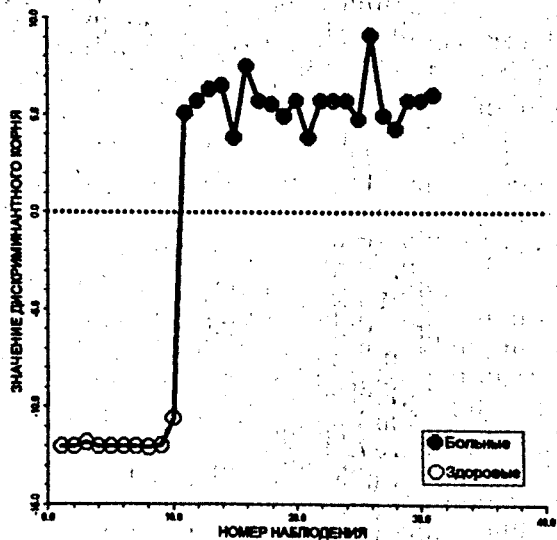


График дискриминантного корня клинической выборки.

Примечание. Всего 31 наблюдение (10 здоровых, 21 больной).

ляли сравниваемые множества больных и здоровых детей. Отсортированная по собственным значениям факторная структура канонического дискриминантного корня и его график представлены на рис. и в табл. 1. Дискриминантный корень с приведенной на рис. структурой точно разделяет здоровых детей и больных РеА. Все фигуративные точки графика с положительными значениями этого корня относятся к случаям болезни, а отрицательные значения характеризуют здоровых детей. Интерпретируя представленный график, следует отметить, что его отрицательные значения связаны с повышением роли: *Escherichia coli* лактозопозитивной (Lac+), *Bifidobacterium bifidum*, *Bacteroides vulgatus*. Положительные значения корня

свидетельствуют об увеличении КОЕ *Bacteroides uniformis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *E.coli* лактозонегативной (Лас-). Числовые значения каждого корня соответствовали микроорганизмам, отсортированным по факторным нагрузкам. Это позволило оценить роль конкретных микросимбионтов кишечника в процедуре дискриминации наблюдений по двум сравниваемым группам. Из рис. видно, что корень ROOT1 (99% общей дисперсии) абсолютно точно разделяет здоровых детей и больных реактивным артритом. Все фигуративные точки диаграммы со значениями этого корня меньше четырех относятся к случаям РеА, тогда как остальные характеризуют здоровых детей.

Исследование состояния микросимбиоза кишечника детей обследуемых групп показало, что у детей с РеА эубиоз выявлялся у 23,5±7,2% детей, дисбиоз I степени — у 11,7±5,6%, дисбиоз II степени — у 47,1±8,6%, дисбиоз III степени — у 17,7±6,6% больных. В группе сравнения отмечалось преобладание детей с эубиозом — 41,2±9,8%, дисбиоз I степени, равно как и дисбиоз II степени был выявлен у 29,4±6,2% обследуемых. Таким образом, у большинства детей с РеА выявлялись существенные нарушения микросимбиоза толстого кишечника.

Анализ частоты выделения микросимбионтов показал увеличение случаев высеваемости у детей с РеА по сравнению со здоровыми *Clostridium perfringens* (41,2±7,7% против 11,7±7,7%, $p<0,05$) и бактероидов (68,1±8,1% против 12,5±6,5%, $p<0,05$). Что касается факультативно-анаэробного спектра кишечного микросимбиоза детей с РеА, то по сравнению с группой здоровых детей отмечалось повышение частоты встречаемости гиперколонизации дистального отдела толстого кишечника условно патогенной грамотрицательной бактериальной флоры: *E. coli* Лас- (соответственно 35,3±8,2% против 4,0±3,9%, $p<0,05$), бактерий рода *Citrobacter* (29,4±7,8% против 4,0±3,9%, $p<0,05$), протея (8,8% против 0%, $p<0,05$). Представители кронобактерий и буркхольдерии высевались только у больных РеА с одинаковой частотой — 3,0±2,9%. Наряду с этим, у пациентов с РеА, по сравнению со здоровыми, также отмечено увеличение количества грампозитивной флоры: стафилококков (40,0±8,4% у больных против 12±6,5% у здоровых), стрептококков (3,0±2,9% — выделялись только у больных), бацилл (11,7±5,4% — высевались только у больных) и значительный рост высеваемости грибов рода *Candida* (соответственно 61,8±8,4% против 8,0±5,4%, $p<0,05$).

Анализ данных по сравнительной характеристике К_{БПО} микроорганизмов, выделенных из кишечника детей обеих групп, показал, что наиболее высокая способность к БПО выявлена для штаммов бифидобактерий, являющихся представителями доминантной микрофлоры кишечного микросимбиоза. Характерно, что выраженность К_{БПО} бифидобактерий, выделенных от здоровых детей, была значительно выше, чем у детей с РеА (18,0±0,25 против 11,03±0,98 у.е., $p<0,05$). Вместе с тем, для большинства УПМ, выделенных от детей с РеА, по сравнению со здоровыми, выявлено увеличение К_{БПО} с наибольшими значениями показателя для штаммов клебсиелл (9,35±0,21 против 1,14±0,04 у.е., $p<0,05$), *E.coli* Лас- (4,08±0,18 против 0,80±0,001 у.е., $p<0,05$), *Candida* spp. (5,20±0,90 против 0,96±0,02 у.е., $p<0,05$), а также изолятов *Cronobacter* spp., *Bacillus* spp., которые высевались из кишечника только детей с РеА (соответственно 12,1±0,10 и 5,20±0,9 у.е.). У представителей облигатно-анаэробной флоры (*Clostridium* spp., *Bacteroides* spp.), выделенных от детей с РеА, по сравнению со здоровыми, К_{БПО} был также значительно выше (соответственно 9,50±0,80 против 3,30±0,01 у.е., $p<0,05$ и 9,61±0,80 против 6,60±0,02 у.е., $p<0,05$). В то же время, способность к БПО существенно снижалась для штаммов актиномицетов и пропионибактерий от больных детей, по сравнению со здоровыми (соответственно 0,31±0,60 против 2,51±0,01 у.е., $p<0,05$ и 1,41±0,90 против 2,81±0,02 у.е., $p<0,05$).

Таблица 2. Влияние экзометаболитов микросимбионтов толстого кишечника, выделенных у детей обследуемых групп, на уровень провоспалительных и противовоспалительного цитокинов (АЦА)

Цитокины / Микроорганизмы	АЦА (пг/мл, %)							
	TNF-α		INF-γ		IL-6		IL-10	
	Здоровые	РеА	Здоровые	РеА	Здоровые	РеА	Здоровые	РеА
<i>Bifidobacterium</i> spp.	8,1±0,2 (44,2%)	3,7±0,2 (51,0%)	45,2±0,62 (86,0%)	23,6±0,4 (32,4%)*	6,4±0,3 (42,0%)	4,0±0,3 (25,0%)*	15,6±0,4 (57,2%)	15,4±0,4 (52,6%)
<i>Lactobacillus</i> spp.	7,5±0,15 (76,0%)	7,2±0,3 (73,0%)	10,1±0,18 (20,0%)	30,1±0,6 (60,1%)*	1,6±0,12 (9,8%)	8,75±0,25 (54,7%)*	7,7±0,24 (38,3%)	14,7±0,37 (73,0%)*
<i>E. coli</i>	7,2±0,3 (73,0%)	6,8±0,09 (70,0%)	49,2±0,7 (98,1%)	29,4±0,5 (59,0%)*	15,8±0,4 (98,8%)	7,7±0,23 (48,0%)*	13,5±0,34 (67,6%)	11,1±0,28 (40,3%)*
<i>Citrobacter</i> spp.	5,7±0,18 (58,0%)	8,1±0,2 (83,0%)*	27,7±0,5 (55,0%)	49,5±0,7 (98,4%)*	2,6±0,13 (16,2%)	2,0±0,21 (12%)	8,9±0,27 (44,5%)	16,6±0,49 (82,7%)*
<i>Staphylococcus</i> spp.	4,7±0,2 (48,0%)	6,4±0,08 (65,0%)*	7,0±0,26 (14,0%)	47,7±0,4 (95,0%)*	7,3±0,17 (45,2%)	13,1±0,34 (81,5%)*	16,0±0,51 (80,0%)	12,5±0,3 (61,2%)*
<i>Candida</i> spp.	4,4±0,21 (45,0%)	6,1±0,3 (62,0%)*	10,0±0,19 (20,0%)	25,8±0,43 (51,3%)*	5,9±0,2 (37,0%)	5,6 ± 0,29 (35,0%)	11,4±0,2 (56,8%)	9,8±0,19 (49,3%)

Примечание. * Наличие достоверных различий между показателями АЦА у детей обследуемых групп при $p < 0,05$.

Учитывая взаимодействие микробиоты с эффекторными молекулами и клетками иммунной системы с последующим включением сигнальных путей регуляции иммунного гомеостаза [9, 10], мы провели сравнительный анализ способности экзометаболитов микросимбионтов, выделенных от детей обеих групп, изменять концентрацию про- и противовоспалительных цитокинов после контакта *in vitro* с рекомбинантными цитокинами. Результаты исследования АЦА микросимбионтов представлены в табл. 2. Оказалось, что независимо от источника выделения (здоровые, дети с РеА), экзометаболиты бифидобактерий снижали уровень провоспалительных цитокинов (особенно в отношении INF-γ) с большей степенью выраженности для штаммов бифидобактерий, выделенных от здоровых детей. Вместе с тем, у представителей ассоциативной микрофлоры (лактобациллы, стафилококки, цитробактеры и грибы рода *Candida*), изолированных из фекалий детей с артритом, выявлено увеличение значений АЦА для большинства исследуемых провоспалительных цитокинов по сравнению с уровнем АЦА штаммов, выделенных от здоровых детей. Наконец, в отношении IL-10 среди всех исследуемых микроорганизмов различия выявлялись для лактобацилл, цитробактеров (увеличение уровня АЦА для изолятов, выделенных от больных детей) и стафилококков (снижение значений АЦА для штаммов от детей с артритом). Следует отметить, что доминантные анаэробы — бифидобактерии, независимо от источника выделения, наряду со способностью влиять на содержание провоспалительных цитокинов, существенно снижали (в среднем на 78% от исходного уровня цитокина) и уровень IL-10, что характеризует их достаточно высокий иммунорегуляторный потенциал, позволяющий координировать соотношение цитокинов в микроокружении при непосредственном контакте с ними.

Суммируя результаты анализа уровня АЦА экзометаболитов кишечных микросимбионтов, выделенных от детей с РеА, в отношении про- и противовоспалительных цитокинов, отметили существенное изменение выраженности и направленности АЦА, определяющей, наряду с другими факторами, локальный цитокиновый баланс, который регулирует взаимодействие в системе «комменсал-хозяин» [9, 13]. Это дает основание рассматривать выявленные особенности АЦА штаммов микросимбионтов от детей с РеА как маркер наличия данного заболевания.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования позволили оценить особенности состояния кишечного микросимбиоза детей с РеА, которые свидетельствуют о существенном вкладе микробиоты кишечника в развитие указанного вида артрита. Во-первых, выявленные у детей с РеА нарушения кишечного микросимбиоза, которые, по сравнению со здоровыми детьми, встречаются значительно чаще и характеризуются гиперколонизацией кишечного биотопа отдельными представителями УПМ: энтеробактерии, клостридии, бактероиды и грибы рода *Candida*. Не исключено вовлечение в повреждение суставных тканей, обнаруженных в микробиоте толстого кишечника детей с РеА, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Citrobacter* spp., *Burkholderia glumae*, *Cronobacter* spp., *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., *Candida* spp. с высоким уровнем колонизации, поскольку для них характерен феномен «антигенной мимикрии» в отношении клеток синовиальной оболочки суставов, а также влияние на индукцию и репертуар Тreg с усилением воспалительного процесса [7, 9, 13]. Указанные изменения в составе микробиоты детей с РеА могут приводить к ослаблению контроля хозяина над комменсальной микрофлорой, способствуя развитию аутоиммунной патологии.

Во-вторых, как было отмечено, при формировании РеА установлено ослабление БПО у доминантной микрофлоры — бифидобактерий и, напротив, увеличение уровня БПО у выявленных в достаточно высоком количестве ассоциантов-комменсалов от детей с РеА. Известно, что для УПМ способность к БПО рассматривается как важнейший механизм выживания и проявления их патогенного потенциала [2, 4].

В-третьих, определенное значение в развитии артрита могут иметь выявленные у детей с РеА особенности непосредственного воздействия экзометаболитов кишечных микросимбионтов на уровень цитокинов. Используемый в настоящей работе метод сокультивирования экзометаболитов бактерий и грибов с рекомбинантными цитокинами позволил количественно оценить суммарную способность компонентов, входящих в состав экзометаболитов (пептиды, белки, ферменты, кислоты, полисахариды), изменять концентрацию цитокинов в среде и, вероятно, в окружении дендритных клеток, участвующих в инициальном «сигналинге» регуляции иммунитета [9]. Формирование же определенного цитокинового баланса в кишечнике человека под влиянием микроорганизмов создает соответствующее микроокружение как для кишечной микрофлоры, так и для энтероцитов, выполняющих важнейшую роль в колонизационной резистентности. Выявленная способность экзометаболитов штаммов бифидобактерий, независимо от источника выделения (состояние зубиоза/дисбиоза у здоровых и детей с РеА), изменять в условиях сокультивирования концентрацию цитокинов, оппозитных по регуляции воспаления, свидетельствует о возможности опосредованного влияния бифидобактерий на дендритные клетки и процессы реализации эффекторного звена врожденного и адаптивного иммунитета за счет формирования оптимального цитокинового микроокружения (цитокинового баланса). Установленное в нашей работе значительное увеличение уровня АЦА в отношении как противовоспалительного цитокина IL-10 (для представителей родов *Citrobacter*, *Lactobacillus*), так и провоспалительных цитокинов практически для всех выделенных УПМ подтверждает существенное значение влияния их метаболитов на локальный и системный иммунный гомеостаз [2] и опосредованное участие в патогенезе воспалительных заболеваний суставов.

Таким образом, в соответствии с существующей гипотетической моделью патогенеза спондилоартрита, включающего РеА [7, 15], оказалось, что выявленные в данной работе нарушения кишечного микросимбиоза с гиперколониза-

цией УПМ, обладающих выраженной способностью к БПО и влиянием на уровень цитокинов, могут усиливать их артротогенный потенциал и служить в качестве дополнительных маркеров риска развития артрита у детей.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Оренбургской области в рамках научного проекта №16-44-560553 «р_а» и фонда РГНФ — проект № 16-16-56004.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бухарин О.В., Иванова Е.В., Перунова Н.Б., Чайникова И.Н. Роль бифидобактерий в формировании иммунного гомеостаза человека. Журн. микробиол. 2015, 6: 98-104.
2. Бухарин О.В., Перунова Н.Б. Микросимбиоз. Екатеринбург, УрО РАН, 2014.
3. Бухарин О.В., Перунова Н.Б., Чайникова И.Н., Смолягин А.И., Иванова Е.В. Антицитокиновая активность микроорганизмов. Журн. микробиол. 2011, 4: 56-61.
4. Малафеева Э.В., Гульнева М.Ю., Носков С.М., Романов В.А. Формирование биопленок условно патогенными микроорганизмами, выделенными у больных с ревматическими заболеваниями. Клиническая лабораторная диагностика. 2014, 11: 53-55.
5. Насонов Е.Л. Клинические рекомендации. Ревматология. Под ред. Е.Л. Насонова. М., ГЭОТАР-Медиа, 2008.
6. Челпаченко О.Е., Бухарин О.В., Данилова Е.И., Федотова Л.П. Современные представления о роли микробного фактора в развитии воспалительных ревматических заболеваний. Вестник уральской медицинской академической науки. 2015, 3 (54): 73-80.
7. Asquith M., Elewaut D., Lin P. et al. The role of the gut and microbes in the pathogenesis of spondyloarthritis. Best. Pract. Res. Clin. Rheumatol. 2014, 28 (5): 687-702.
8. Diamanti A.P., Rosado M.M., Laganà B. et al. Microbiota and chronic inflammatory arthritis: an interwoven link. Transl. Med. 2016, 14 (1): 233. doi: 10.1186/s12967-016-0989-3.
9. Maynard C.L., Elson C.O., Robin D. et al. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. Nature. 2012, 489 (7415): 231-241.
10. Ohland C.L., Jobin C. Microbial activities and intestinal homeostasis: A delicate balance between health and disease. Cell. Mol. Gastroenterol. Hepatol. 2015, 1 (1): 28-40.
11. Okuda J., Hayashi N., Tanabe S. et al. Degradation of interleukin 8 by the serine protease MucD of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Infect. Chemother. 2011, 17 (6): 782-792.
12. Oleksy A., Banbula A., Bugno M. et al. Proteolysis of interleukin-6 receptor (IL-6R) by *Porphyromonas gingivalis* cysteine proteinases (gingipains) inhibits interleukin-6-mediated cell activation. Microb. Pathog. 2002, 32 (4): 173-181.
13. Omenetti S., Pizarro T.T. The Treg/Th17 axis: a dynamic balance regulated by the gut microbiome. Front. Immunol. 2015, 6: 639. doi: 10.3389/fimmu.2015.00639.
14. O'Toole G.A., Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. Mol. Microbiol. 1998, 28 (3): 449-461.
15. Rashid T., Ebringer A. Autoimmunity in rheumatic diseases is induced by microbial infections via crossreactivity or molecular mimicry. Autoimmune Dis. 2012, 2012: 539282. doi: 10.1155/2012/539282.

Поступила 23.02.16

Контактная информация: Бухарин Олег Валерьевич, д.м.н., проф., 460000, Оренбург, ул. Пионерская, 11, р.т. (3532)77-54-17