

УДК 616.5-002

РОЛЬ КОЖНОГО МИКРОБИОЦЕНОЗА В ДИСФУНКЦИИ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО БАРЬЕРА И РАЗВИТИИ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА ИЗ ГРУППЫ РИСКА

Мигачёва Н.Б.

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России;
Российская Федерация, 443096, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89

Ключевые слова: атопический дерматит, кожный микробиоценоз, дисфункция эпидермального барьера

Обоснование. Нарушение кожного микробиоценоза и колонизация кожи *S. aureus* при атопическом дерматите (АтД) является широко распространенным феноменом и фактором, осложняющим течение заболевания. В настоящее время не вполне понятно, какую роль играет *S. aureus* в реализации АтД у детей из группы риска по развитию аллергических заболеваний.

Цель. Изучение состава кожного микробиоценоза у детей раннего возраста из группы риска, а также роли *S. aureus* в дисфункции кожного барьера и реализации АтД.

Материалы и методы. Проведен анализ 12-месячного наблюдения за 37 детьми из группы риска по развитию аллергических заболеваний, включающий общеклиническое обследование, проведение микробиологического исследования кожи в возрасте 1 и 6 мес и изучение функции эпидермального барьера путем определения показателя трансэпидермальной потери влаги (ТЭПВ) в возрасте 1; 3; 6 и 12 мес. В качестве исхода рассматривалось формирование АтД в течение периода наблюдения.

Результаты. Частота выявления *S. aureus* на коже детей в возрасте 1 мес составила 45,9%, в возрасте 6 мес — 29,7%. Корреляционный анализ выявил ассоциацию между колонизацией кожи *S. aureus* и снижением показателей ТЭПВ ($p=0,004$), а также частотой развития у них АтД ($p<0,001$).

Заключение. Обнаружение *S. aureus* в кожном микробиоценозе детей из группы риска ассоциировано с дисфункцией эпидермального барьера и является значимым фактором риска реализации у них АтД.

Кожа человека является многофункциональным органом, участвующим в осуществлении как сложной межклеточной кооперации, так и во взаимодействии между клетками и находящимися на ее поверхности микроорганизмами. В течение многих лет специалисты в области микробиологии и дерматологии активно изучают их видовой состав, особенности колонизации, а также значение в реализации основных функций кожи и развитии патологических состояний [1]. Не вызывает сомнения высокая вариабельность микробной колонизации здоровой кожи, которая зависит от множества экзогенных и эндогенных факторов [2]. В мировой литературе накоплены сведения о зависимости состава кожного микробиома от пола и возраста, особенностей

климата и географического расположения, питания, профессии, стиля жизни и особенностей личной гигиены [3, 4]. В то же время сегодня значительно расширились представления о роли некоторых условно патогенных и патогенных микроорганизмов в этиопатогенезе кожных заболеваний [5, 6]. Более того, во многих исследованиях показана возможность положительного влияния на микробиоту кожи путем использования различных средств ухода (эмо-лентов) как у здоровых людей [7], так и у пациентов с атопическим дерматитом (АтД) [8].

Особенное значение в поддержании экосистемы кожи в свете современных исследований человеческого микробиома в норме и патологии придается роли популяции стафилококков, в особенности колонизации кожи *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) при АтД [9]. Показано, что *S. aureus* выделяется с кожи у 80–100% пациентов с АтД, в том числе с интактных участков [10], однако степень колонизации на поврежденной коже выше, чем на неповрежденной,

Адрес для корреспонденции

Мигачёва Наталья Бегиевна
E-mail: nbmigacheva@gmail.com

и коррелирует с тяжестью течения заболевания [11]. Метагеномные исследования подтвердили наличие связи обострений АТД с инфицированием *S. aureus*, негативная роль которого обусловлена его протеолитической активностью, способностью вызывать активацию Т-лимфоцитов, стимулировать дегрануляцию базофилов и тучных клеток [12].

Более того, именно инфицирование и колонизация кожи пациентов *S. aureus* являются одной из важнейших проблем лечения АТД, поскольку стафилококковые суперантигены известны своей способностью не только индуцировать гиперпродукцию IgE, но и вызывать и поддерживать воспаление при АТД. Большое внимание исследователей привлекает изучение факторов, способствующих повышению колонизации кожи пациентов с АТД стафилококками, среди которых особо выделяют несостоятельность барьерной функции кожи, связанной с нарушением сальной и потовой секреции; снижение уровня секреторного IgA на поверхности кожи; влияние провоспалительных цитокинов, являющихся адгезинами для стафилококков [13]. В то же время показано, что при АТД происходит перераспределение соотношения числа и разнообразия бактерий нормального кожного микробиоценоза, снижается генетическое разнообразие микробиома, что сопровождается преобладанием *S. aureus* [14]. Такое нарушение кожного микробиоценоза при АТД является одним из факторов, поддерживающих иммунное воспаление и усиливающих вторичную дисфункцию кожного барьера [15].

Таким образом, в настоящее время остается нерешенным вопрос причинно-следственных отношений между дефектом эпидермального барьера при АТД и колонизацией кожи пациентов золотистым стафилококком. Кроме того, не вполне понятно, какую роль играет нарушение кожного микробиоценоза и инфицирование кожи *S. aureus* в реализации АТД у детей из группы риска по развитию аллергических заболеваний.

Целью настоящего исследования являлось изучение состава кожного микробиоценоза у детей раннего возраста из группы риска, а также роли *S. aureus* в дисфункции эпидермального барьера и реализации АТД.

Материалы и методы

Проведено рандомизированное контролируемое исследование, в которое были включены 80 здоровых детей первого месяца жизни с отягощенным семейным анамнезом по аллергическим заболеваниям. После рандомизации дети были разделены на основную (n=38) и контрольную (n=42) группы. Все дети получили общепринятые рекомендации по профилактике АТД в соответствии с международными и российскими согласительными документами. Дети основной группы помимо общепринятых

рекомендаций получали комбинированное профилактическое вмешательство в виде специального ухода за кожей 2 раза в день в течение первых 6 мес, а также приема синбиотика в возрасте с 3 до 6 мес. Наблюдение за детьми продолжалось в течение 1 года с визитами в 1; 3; 6 и 12 мес с комплексным клиническим обследованием, двукратным проведением микробиологического исследования кожи (в 1 и в 6 мес) и исследованием функции эпидермального барьера путем определения показателя трансэпидермальной потери влаги (ТЭПВ). В конце наблюдения (в возрасте 12 мес) проводилось заключительное обследование пациентов с уточнением исхода — формирования АТД с определением степени тяжести заболевания (подсчет индекса SCORAD). В данной статье представлен анализ результатов наблюдения только за детьми контрольной группы, поскольку он отражает естественное развитие процесса реализации АТД у детей из группы риска, не подвергавшихся каким-либо специальным методам профилактики.

Сбор материала для микробиологического исследования осуществляли с кожи передней поверхности правого предплечья и кожи правой щеки двукратно (в возрасте 1 и 6 мес) стерильным ватным одноразовым тампоном, смоченным в стерильном физиологическом растворе. Материал в течение 2 ч после сбора в изотермических условиях доставлялся в лабораторию, где осуществлялся его посев на плотные питательные среды: кровяной агар, универсальные хромогенные среды, агар Сабуро. После культивирования проводили подсчет выросших колоний на каждой среде и рассчитывали среднее значение. Все выделенные культуры идентифицировались с использованием коммерческих тест-систем, а также с использованием метода MALDI-TOF спектрометрии.

Определение трансэпидермальной потери влаги (ТЭПВ) проводили методом теваметрии по давлению водяного пара над поверхностью кожи, влажности рогового слоя — методом корнеометрии с использованием прибора DermaLabCombo (CORTEX, Дания).

Результаты исследования анализировали с применением современных методов параметрической и непараметрической статистики. Проверяли гипотезы о подчинении выборки нормальному закону распределения. Переменные, подчиняющиеся нормальному закону распределения, анализировали с использованием современных методов дескриптивного, корреляционного, регрессионного, дисперсионного анализов. Качественные признаки представлены в виде долей (%), абсолютного числа. Описание количественных признаков, соответствующих нормальному распределению, представлено в виде среднего значения \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$); признаков, отличающихся от нормального распределения, — в виде медианы и

квартилей. Для сравнения количественных признаков использовали критерии Манна–Уитни–Вилкоксона (для независимых групп). Анализ групп пациентов в динамике наблюдения выполняли, используя парный критерий t Стьюдента и парный критерий Вилкоксона. Исследование взаимосвязей производили посредством расчета коэффициентов корреляции Пирсона и Спирмена. Статистическая обработка данных проведена с использованием IBM SPSS Statistics 21. Полученные результаты оценивали как статистически значимые при уровне вероятности $p < 0,05$.

Результаты

В течение 12 мес наблюдения 5 детей контрольной группы выбыли из исследования в связи с несоблюдением протокола, таким образом, в окончательный анализ были включены результаты наблюдения за 37 участниками.

При первичном микробиологическом исследовании в возрасте 1 мес у детей контрольной группы было выделено и идентифицировано 88 штаммов микроорганизмов с первой точки и 71 штамм – со второй точки. Микробиоценоз кожи был представлен сообществами, состоящими от 1 до 5 различных видов микроорганизмов. Видовой состав микроорганизмов, выделенных с первой и второй точек, был однороден: преобладали различные виды стафилококков, при этом *S. aureus* был выделен у 17 детей (в 45,9% случаев). Также были выделены условно патогенные стрептококки (у 34 детей – 91,9%) и лактобактерии (у 21 ребенка – 56,8%). Энтеробактерии были представлены *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* (у 6 детей – 16,2%). В небольшом количестве случаев выделялись неферментирующие грамотрицательные бактерии рода *Acinetobacter*: у 9 детей (24,3%) – *A. pittii*, у 5 (13,5%) детей – *A. ursungii*. Среднее значение показателя ТЭПВ в этом возрасте составило $25,96 \pm 4,46$ г/м²/ч.

При проведении повторного микробиологического исследования (в 6 мес) было выделено и идентифицировано 79 штаммов микроорганизмов с первой точки и 61 штамм – со второй точки. Видовой состав микроорганизмов, выделенных с первой и второй точек, был однороден. При этом отличия заключались в количествах колониеобразующих единиц на единицу площади – со второй точки количество выделенных колоний было меньше в среднем в 2 раза. Микробиоценоз, состоящий из 2 микроорганизмов, был выявлен у 24 (64,9%) детей, из 3 микроорганизмов – у 13 (35,1%) детей. Среди них преобладающими остались различные виды стафилококков, из которых *S. aureus* сохранялся у 11 (29,7%) детей. Условно патогенные стрептококки сохранили широкое распространение (выявлялись у 27 детей – 72,9%). Среди неферментирующих грамотрицательных бактерий рода *Acinetobacter*

остались преобладающими и были выделены у 14 (37,8%) детей. Представителей лактобактерий и энтеробактерий у наблюдаемых детей в возрасте 6 мес выделено не было. Однако у 4 (10,8%) детей были выделены представители рода *Enterococcus* (*E. faecalis*), у 7 (18,9%) детей – микрококки, у 4 (10,8%) детей – бациллы.

Как видим, по сравнению с первым исследованием (в возрасте 1 мес) видовое разнообразие кожного микробиоценоза у наблюдаемых детей уменьшилось, представители транзитной микрофлоры стали встречаться значительно реже.

Важным наблюдением стала особенность распространности у детей изучаемой группы стафилококков различных видов. Так, почти у половины наблюдаемых (в 48,6% случаев) микробиота кожи состояла из двух видов стафилококков, тогда как у 6 (16,2%) детей *S. aureus* был выделен как единственный представитель стафилококков в микробиоценозе кожи. Вместе с ним были выделены различные виды стрептококков и энтерококки. Интересно, что у всех этих детей в течение периода наблюдения появились клинические проявления АТД.

Таким образом, частота выявления *S. aureus* на коже детей в наблюдаемой группе в возрасте 1 мес составила 37,8% в ассоциации и 8,1% в монокультуре, тогда как в возрасте 6 мес – 16,2% в ассоциации и 16,2% в монокультуре. При этом статистически значимых изменений в процессе наблюдения в общей частоте его обнаружения не выявлено ($p = 0,503$), однако частота выявления *S. aureus* в монокультуре достоверно увеличилась ($p = 0,002$).

Важной характеристикой, отражающей состояние эпидермального барьера у наблюдаемых пациентов, являлся показатель ТЭПВ, среднее значение которого статистически значимо не менялось в течение всего периода наблюдения, оставаясь на уровне 25–26 г/м²/ч (рис. 1).

Анализ клинических исходов у детей из группы риска по развитию аллергических заболеваний показал, что в возрасте 3 мес АТД выявлялся у 4 (10,8%) пациентов, в возрасте 6 мес – у 9 (24,3%) пациентов, к концу периода наблюдения (в 12 мес) – у 14 (37,8%) пациентов. Оказалось, что у детей, у которых развился АТД, значения ТЭПВ статистически значимо ($p < 0,01$) превышали таковые у здоровых детей на всех этапах наблюдения (рис. 2), что согласуется с имеющимися в настоящее время представлениями о патогенетической роли дефекта эпидермального барьера в развитии АТД.

Мы проанализировали взаимосвязь присутствия *S. aureus* в кожном микробиоценозе наблюдаемых пациентов (в монокультуре и в ассоциации) со значениями ТЭПВ как одного из показателей функции эпидермального барьера. Проведенный корреляционный анализ подтвердил наличие ассоциации между этими признаками ($p = 0,004$). Все дети, не

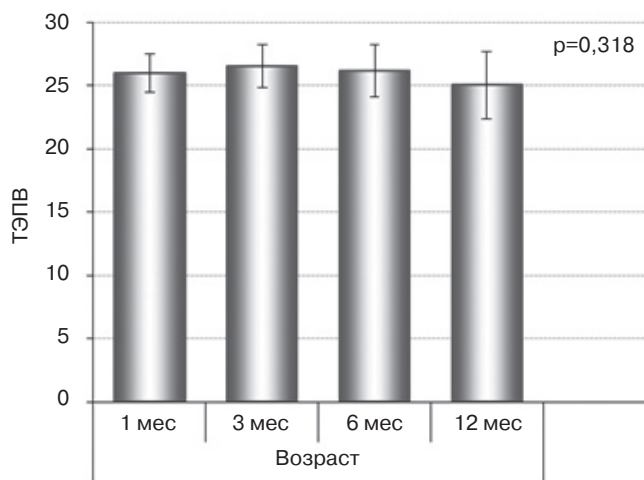


Рис. 1. Динамика показателей ТЭПВ у наблюдаемых детей

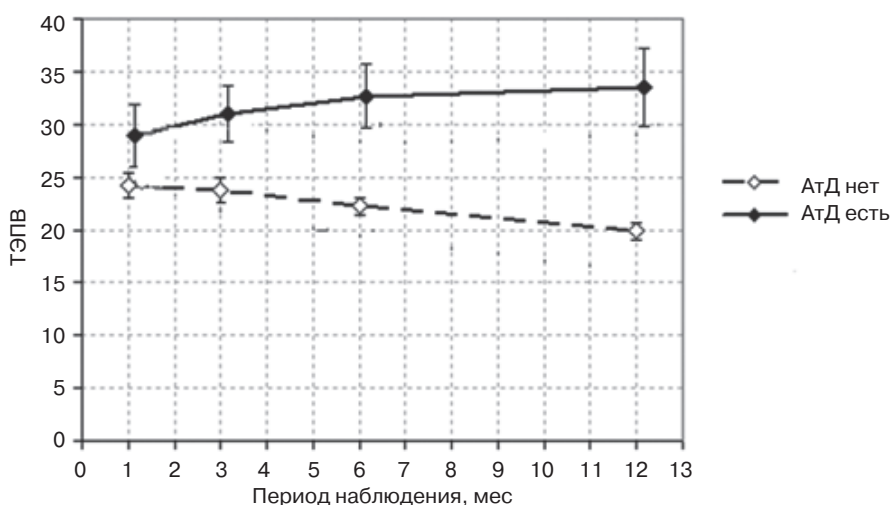


Рис. 2. Динамика ТЭПВ у детей наблюдаемой группы в зависимости от наличия или отсутствия АтД

имевшие *S. aureus* на коже в возрасте 1 мес, на 15,6% снизили чрескожную потерю влаги к 6 мес, чего не произошло у детей, имевших стафилококк на коже в начале наблюдения.

Мы провели оценку влияния раннего выявления *S. aureus* на коже детей из группы риска (в возрасте

1 мес) на частоту развития у них АтД к концу периода наблюдения (см. таблицу). Оказалось, что у детей, не имевших на коже стафилококков, АтД на первом году жизни развивался в 7,1% случаев, а у детей, на коже которых *S. aureus* выявлялся в ассоциации или монокультуре, АтД возникал в 92,9% случаев

Таблица. Частота развития АтД у детей из группы риска на первом году жизни в зависимости от выявления у них на коже *S. aureus* в возрасте 1 мес

		АтД в 12 мес				хи ²	р	р попарно
		Нет		Да				
		Абс.	%	Абс.	%			
<i>S. aureus</i> на коже в 1 мес	Нет	19	82,6%	1	7,1%	20,8	<0,001	<0,001
	В ассоциации	4	17,4%	10	71,4%			0,003
	Монокультура			3	21,5%			0,090
<i>S. aureus</i> на коже в 6 мес	Нет	22	95,7%	3	21,4%	22,2	<0,001	<0,001
	В ассоциации	1	4,4%	5	35,7%			0,012
	Монокультура			6	42,9%			0,001

($p < 0,001$). Выявление такой тесной взаимосвязи подтверждает, что обнаружение на коже стафилококков, как в монокультуре, так и в ассоциации, уже в раннем возрасте является фактором риска развития АТД.

Кроме того, изучение ассоциации между присутствием *S. aureus* в кожном микробиоценозе детей, у которых развивался АТД, и степенью тяжести заболевания подтвердило более высокую частоту среднетяжелого и тяжелого течения АТД у детей с наличием стафилококка ($p = 0,005$). Более того, ни у одного ребенка с выявлением на коже *S. aureus* в монокультуре не наблюдалось легкого течения АТД.

Обсуждение

Анализируя результаты проведенного исследования, можно сделать вывод о том, что обнаружение *S. aureus* (как в монокультуре, так и в ассоциации) в кожном микробиоценозе детей с наследственной предрасположенностью к развитию аллергических заболеваний сопряжено со снижением у них показателей ТЭПВ. Проведенный корреляционный анализ Спирмена подтвердил наличие ассоциации между этими признаками, хотя причинно-следственная связь в данном случае неоднозначна, поскольку как первичное снижение защитных свойств кожи, сопровождаемое высокими показателями ТЭПВ, может способствовать контаминации кожи *S. aureus*, так и, напротив, присутствие стафилококков может приводить ко вторичному дефекту эпидермального барьера.

Таким образом, представленные результаты подтверждают, что *S. aureus* является, с одной стороны, фактором риска развития АТД у детей раннего возраста из группы риска и, с другой стороны, фактором его более тяжелого течения у детей, реализовавших заболевание.

Понимание выявленных взаимосвязей является серьезным основанием для разработки и внедрения в реальную клиническую практику профилактических мероприятий не только для пациентов, страдающих АТД, но и для здоровых новорожденных детей из группы риска. Так, раннее использование специальных средств ухода за кожей (эмолентов) у таких детей может обеспечить не только улучшение ее физико-химических характеристик (влажность рогового слоя, pH, ТЭПВ), но и положительно влиять на состав кожного микробиоценоза, создавая препятствия для колонизации кожи *S. aureus*.

Информация об источниках финансирования

Финансовой поддержки в настоящей статье не было.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kong HH, Segre JA. Skin microbiome: looking back to move forward. *J Invest Dermatol.* 2012;132(3):933-939. DOI: 10.1038/jid.2011.417.
2. Grice E, Segr J. The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol.* 2011;9(4):244-253. DOI: 10.1038/nrmicro2537.
3. Аравийская ЕР, Соколовский ЕВ. Микробиом: новая эра в изучении здоровой и патологически измененной кожи. *Вестник дерматологии и венерологии.* 2016;(3):102-109 [Aravijskaya ER, Sokolovskij EV. Mikrobiom: novaya ehra v izuchenii zdorovoj i patologicheski izmenennoj kozhi. *Vestnik dermatologii i venerologii.* 2016;(3):102-109 (In Russ.)].
4. Prescott SL, Larcombe DL, Logan AC, West C, Burks W, Caraballo L. The skin microbiome: impact of modern environments on skin ecology, barrier integrity, and systemic immune programming. *World Allergy Organ J.* 2017;22;10:29. DOI: 10.1186/s40413-017-0160-5.
5. Джораева СК, Гончаренко ВВ, Щеголева ЕВ, Щербакоева ЮВ, Безрученко АА. Состав и функции микробиоценозов различных биотопов макроорганизма и клиническая значимость их нарушений. *Дерматология и венерология.* 2015;2:5-19 [Dzhoraeva SK, Goncharenko VV, Schegoleva EV, Scherbakova YuV, Bezruchenko AA. Sostav i funkcii mikrobiocenozov razlichnyh biotopov makroorganizma i klinicheskaya znachimost' ih narushenij. *Dermatologiya i venerologiya.* 2015;2:5-19 (In Russ.)].
6. Сергеев АЮ, Бурцева ГН, Сергеев ВЮ. Стафилококковая колонизация кожи, антибиотикорезистентность и противомикробная терапия при распространенных дерматозах. *Имунопатология, аллергология, инфектология.* 2014;4:42-55 [Sergeev AYU, Burceva GN, Sergeev VYU. Stafilokokkovaya kolonizaciya kozhi, antibiotikorezistentnost' i protivomikrobnaya terapiya pri rasprostranennyh dermatozah. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya.* 2014;4:42-55 (In Russ.)].
7. Lee HJ, Jeong SE, Lee S, Kim S, Han H, Jeon CO. Effects of cosmetics on the skin microbiome of facial cheeks with different hydration levels. *Microbiology Open.* 2018;7:e557. DOI: org/10.1002/mbo3.557.
8. Seite S, Flores G, Henley J, Martin R, Zelenkova H, Aguilar L. Microbiome of affected and unaffected skin of patients with atopic dermatitis before and after emollient treatment. *J Drugs Dermatol.* 2014;13(11):1365-1372.
9. Biedermann T. Dissecting the role of infections in atopic dermatitis. *Acta Derm Venerol.* 2006;86(2):99-109.
10. Pascolini C. Molecular and immunological characterization of *Staphylococcus aureus* in pediatric atopic dermatitis: implications for prophylaxis and clinical management. *Clin Dev Immunol.* 2011;2011:718708. DOI: 10.1155/2011/718708.
11. Bieber T. Atopic dermatitis. *Ann Dermatol.* 2010;22(2):125-137. DOI: 10.5021/ad.2010.22.2.125.
12. Стукова ЕИ, Кениксфест ЮВ. Патогенетическое значение золотистого стафилококка при атопическом дерматите. *Фундаментальные исследования.* 2013;7(3):680-687 [Stukova EI, Keniksfest YuV. Patogeneticheskoe znachenie zolotistogo stafilokokka pri atopicheskom dermatite. *Fundamental'nye issledovaniya.* 2013;7(3):680-687 (In Russ.)].
13. Кудрявцева АВ. Нарушение кожного барьера как ведущий фактор формирования местного воспалительного процесса при атопическом дерматите. *Вестник дерматологии*

- и венерологии. 2017;4:82-89 [Kudryavceva AV. Narushenie kozhnogo bar'era kak veduschij faktor formirovaniya mestnogo vospalitel'nogo processa pri atopicheskom dermatite. Vestnik dermatologii i venerologii. 2017;4:82-89 (In Russ.)].
14. Baviera G, Leoni MC, Capra L, Cipriani F, Longo G, Maiello N. Microbiota in healthy skin and in atopic eczema. Biomed Res Int. 2014;2014:436921. DOI: 10.1155/2014/436921.
15. Wollina U. Microbiome in atopic dermatitis. Clin Cosmet Investig Dermatol. 2017;10:51-56. DOI: 10.2147/CCID.S130013.

Статья поступила 14.12.2018 г., принята к печати 30.01.2019 г.
Рекомендована к публикации Е.С. Феденко

Информационная страница

Мигачёва Наталья Бегиевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры педиатрии ИПО СамГМУ, зам. директора ИПО СамГМУ. «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Дополнительные утверждения

Автор согласна на публикацию представленной работы.

Автор подтверждает, что данная рукопись в настоящее время не представлена для публикации в другие издания и не была принята для публикации в других изданиях.

ROLE OF SKIN MICROBIOME IN EPIDERMAL BARRIER DYSFUNCTION AND DEVELOPMENT OF ATOPIC DERMATITIS IN HIGH RISK INFANTS

Migacheva N.B.

Samara State Medical University; 89, Chapayevskaya str., Samara, 443096, Russia

Key words: atopic dermatitis, skin microbiome, epidermal barrier dysfunction

Background. Colonization of skin with *S. aureus* in atopic dermatitis (AD) patients is a widespread phenomenon and a factor complicating the course of the disease. At present, it is not quite clear the role of *S. aureus* in the development of AD in children at risk.

The aim of our study was to describe the skin microbiome composition in young children at risk, as well as to investigate the role of *S. aureus* in skin barrier dysfunction and the development of AD.

Material and methods. 12 months follow-up study of 37 infants at risk has been performed. It included a general clinical examination, a microbiological investigation of skin microbiome (at 1 and 6 months), and investigation of epidermal barrier function by determining the transepidermal water loss (TEWL) at 1, 3, 6 and 12 months. Realization of AD during the observation period was considered as main outcome.

Results. The prevalence of *S. aureus* colonization of infants aged 1 month was 45.9%, at the age of 6 months – 29.7%. Correlation analysis revealed an association between the skin colonization with *S. aureus* and a decrease of TEWL ($p = 0.004$), as well as the cumulative incidence of AD ($p < 0.001$).

Conclusion. The detection of *S. aureus* as a part of skin microbiocenosis in AD infants at risk is associated with dysfunction of the epidermal barrier and is a significant risk factor for the AD development.