

З.В. Лалиева,
аспирант кафедры стоматологии

О.Н. Рисованная,
д.м.н., профессор кафедры стоматологии
факультета повышения квалификации
и профессиональной переподготовки
специалистов

КубГМУ

Влияние психоэмоционального стресса на состояние микробиоты десневой борозды у лиц молодого возраста

Резюме. В исследовании приняли участие 67 выпускников школ в возрасте 16–19 лет. В качестве модели острого психоэмоционального стресса была использована ситуация сдачи важного экзамена. Осуществляли микробиологическое исследование общей микробной обсемененности десневой борозды и ее колонизации отдельными видами микробиоты методами аэробного и анаэробного культивирования. В состоянии относительного покоя у 100% лиц без заболеваний зубов и десен обнаружили зубиотическое состояние микробиоты десневой борозды, у 100% лиц с катаральным гингивитом и кариесом — микробиота десневой борозды находилась в состоянии дисбиоза. Влияние стрессора на фоне нарушения баланса микробного гомеостаза зубодесневой щели вызывает усиление дисбаланса микробных ассоциаций в виде уменьшения комменсальной микрофлоры и увеличения условно-патогенной.

Ключевые слова: микробиота, психоэмоциональный стресс, гингивит, дисбиоз

Summary. The study involved 67 school leavers 16–19 years old. As a model of acute psychoemotional stress was used the situation of passing an important exam. A microbiological study was made of the general microbial contamination of the gingival furrow and its colonization by individual microbiota species using aerobic and anaerobic cultivation methods. In the state of relative dormancy, 100% of people without dental and gum disease were found to have an eubiotic condition of the gingival microbiota, 100% of persons with catarrhal gingivitis and caries—the microbiota of the gingival groove were in a state of dysbiosis. The influence of the stressor on the disorder of the balance of the microbial homeostasis of the dental gingival slit causes an increase in the imbalance of microbial associations in the form of a decrease in the comensal microflora and an increase in the opportunistic pathogenicity.

Key words: microbiota, psychoemotional stress, gingivitis, dysbiosis

Совокупность симбионтных микроорганизмов, населяющих открытые биотопы макроорганизма, составляют его микробиом, обеспечивают колонизационную резистентность и имеют большое влияние на состояние здоровья и развитие патологических процессов в организме человека [1].

В полости рта находится один из самых разнообразных микробиомов в организме человека, включая бактерии, грибы, простейшие, вирусы. Ротовая полость, как биологическая ниша, делится на несколько биотопов: слизистая оболочка рта, зубная бляшка, десневая жидкость, зона десневой борозды и др. Уникальность биотопа десневой борозды заключается в том, что количественные и качественные изменения микробных сообществ этой микроэкологической системы могут привести к развитию основных стоматологических заболеваний — гингивита, пародонтита и кариеса. Структурно-функциональные нарушения биопленки десневой борозды приводят к патологическим изменениям, которые имеют не только локальное, но и системное значение [2, 3].

Темп современной жизни насыщен стрессогенными ситуациями, на которые организм реагирует совокупностью психологических, физиологических и биохимических реакций, характеризующих состояние

психоэмоционального напряжения или стресса. В частности, высокая доля психоэмоциональных воздействий наблюдается в жизни выпускников, которые подвергаются воздействию высоких учебных нагрузок и новых социально-бытовых условий. Во время выпускных экзаменов нервно-эмоциональная нагрузка многократно возрастает, достигая уровня психоэмоционального стресса.

Влияние психоэмоционального стресса на микробиом организма подавляющее большинство исследователей изучали на примере кишечной микробиоты. Показано, что стрессорные факторы способствуют развитию дисбаланса кишечной микробиоты и активации роста патогенной микрофлоры [4]. Изучению влияния стресса на микробиоту полости рта посвящено ограниченное количество работ [5]. Важно изучить степень эффектов психоэмоциональных факторов на участки полости рта, которые ответственны за развитие наиболее распространенных стоматологических заболеваний, таких как воспалительные заболевания тканей пародонта и кариес. Изучение изменений микробиоты десневой борозды при различной микроэкологической ситуации в полости рта позволит более полно проанализировать взаимодействие между бактериями и иммунным ответом в условиях стресс-реакции организма.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 67 выпускников школ в возрасте 16–19 лет без соматических заболеваний. Первую группу составили 22 человека (поровну мужчин и женщин), у которых клинически не обнаружено поражений тканей пародонта и зубов. Вторую группу сформировали из 45 человек (29 мужчин, 16 женщин), у которых был диагностирован хронический катаральный гингивит и кариозное поражение твердых тканей зубов.

В качестве модели острого психоэмоционального стресса нами была использована естественная социально значимая в жизни молодого человека ситуация сдачи важного экзамена. Обследование проводили непосредственно перед сдачей экзамена, т.е. в состоянии психоэмоционального напряжения. В качестве контрольных показателей были использованы показатели, полученные в состоянии относительного покоя, т.е. в период обычных занятий в середине весны. Для определения уровня личностной и реактивной тревожности использовали шкалу С.Д. Spielberger, адаптированную Ю.Л. Ханиным. Показатель, который не достигает 30 баллов, свидетельствует о низкой тревожности, от 30 до 45 баллов — умеренной, выше 45 баллов — высокой [6].

Осуществляли микробиологическое исследование общей микробной обсемененности десневой борозды и ее колонизации отдельными видами микробиоты, используя методы аэробного и анаэробного культивирования [7]. Взятие содержимого десневой борозды проводили утром натощак с помощью стерильного бумажного эндодонтического штифта стандартного размера (№ 30) длиной 1 см, который после пропитывания вносили в стерильный физиологический раствор и тщательно отмывали. Проводили посев стандартных разведений на специальные, селективные и дифференциально-диагностические среды: кровяной агар, желточно-солевой агар, среду Сабуро, среду Эндо, сахарный агар с последующим культивированием в аэробных и анаэробных условиях. На посевах, полученных в аэробных условиях культивирования, определяли микробную обсемененность десневой жидкости аэробными и факультативно-анаэробными бактериями (в дальнейшем условно называли аэробами). На посевах в анаэробных условиях культивирования определяли микробную колонизацию факультативных и облигатных анаэробов (в дальнейшем называли анаэробами).

Идентификацию выделенных чистых культур проводили по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим признакам. Результаты количественного исследования выражали через десятичный логарифм колониеобразующих единиц на 1 мл — lg КОЕ/мл. Определяли также частоту выявления отдельных представителей колонизирующей микрофлоры у лиц исследуемых групп.

Общую выборку анализировали параметрическими методами после предварительной проверки на наличие нормального распределения с помощью теста Колмогорова — Смирнова. Наличие различий между исследуемыми показателями оценивали по критерию Стьюдента. Частоты выявления отдельных микроорганизмов сравнивали по ϕ -критерию Фишера [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследования определили как характеризуется состояние микробиома десневой борозды (зубиоз или дисбиоз) у лиц молодого возраста с различным стоматологическим статусом в состоянии относительного покоя.

Микробный гомеостаз биопленки десневой борозды у лиц с гингивитом и кариесом отличался от его характеристик у лиц с интактными зубами и деснами (табл. 1). В состоянии относительного покоя микробная нагрузка биопленки десневой борозды пациентов второй группы была выше, чем у лиц первой группы. Как показали наши исследования, колонизация десневой борозды аэробной и анаэробной микрофлорой у лиц с гингивитом и кариесом в состоянии относительного покоя достоверно ($p < 0,05$) превышала эти показатели у молодых людей с интактными зубами и деснами в 3,4 и 8,3 раза соответственно.

Качественный состав микробиоты десневой борозды в условиях относительного покоя также зависел от стоматологического статуса. Так, частота колонизации десневой борозды *S. viridans spp.* у лиц с гингивитом и кариесом была достоверно ($p < 0,05$) на 63,9% меньше, чем у лиц без заболеваний зубов и десен (табл. 2 и 3). Также при развитии стоматологических заболеваний в 3 раза снижалась плотность колонизации десневой борозды *S. viridans spp.*

Наблюдали тенденцию к снижению частоты колонизации *Corynebacterium spp.* у лиц с воспалением десен и кариесом, хотя эти изменения не были достоверными. Плотность колонизации десневой борозды γ -гемолитическими стрептококками, к которым относится *S. mutans*, во II группе в 3,5 раза больше, чем в I группе; *Neisseria spp.* — на 37,3% чаще выявляли у пациентов II группы, также плотность колонизации нейсериями в этой группе обследованных была в 28,2 раза выше по сравнению с I группой.

Плотность колонизации эпидермального стафилококка во II группе в 3,2 раза больше, чем в I группе.

Во II группе чаще высевались условно-патогенные микроорганизмы: *Bacillus spp.* — на 20,4%,

Таблица 1. Влияние психоэмоционального напряжения на общую микробную колонизацию десневой борозды (lg КОЕ/мл)

	I группа		II группа	
	Состояние покоя	Стресс	Состояние покоя	Стресс
Колонизация аэробами	7,26±0,04	7,40±0,03	7,79±0,03	7,85±0,03
Колонизация анаэробами	6,81±0,04	7,07±0,08	7,73±0,03	7,76±0,03

S. aureus — на 21,1%, *S. β-haemolyticus spp.* — на 19,0%, *Actinomyces spp.* — на 8,8%, *Enterobacteriaceae* и *Candida spp.* — на 26,3%. Нами выявлено снижение частоты колонизации *Lactobacillus spp.* у пациентов II группы на 18,6%.

Если использовать классификацию дисбиоза полости рта В.В. Хазановой [18], то у 100% лиц с интактными деснами и зубами в состоянии относительного покоя наблюдался эубиоз, у 100% лиц с катаральным гингивитом и кариесом — дисбиоз (у 42,1% обнаружили дисбиотический сдвиг, у 57,9% — дисбиоз I—II степени). Таким образом, дальнейшее исследование заключалось в изучении влияния психоэмоционального экзаменационного стресса на характеристики микробиома десневой борозды, находящегося в состоянии эубиоза и дисбиоза.

Объективным критерием наличия экзаменационного стресса у обследованных служили показатели уровня

реактивной тревожности. В I группе обнаружили рост уровня реактивной тревожности на 24,6%, у пациентов II группы — на 14,3%, что подтвердило наличие стрессорной ситуации.

Изучение влияния стрессорных агентов на состояние микробиоты десневой борозды показало изменение биологических характеристик резидентной микрофлоры. При психоэмоциональном напряжении общая микробная обсемененность десневой борозды у лиц с эубиозом увеличилась для аэробных микроорганизмов в 1,4 раза, для анаэробных — в 1,8 раза. У лиц с дисбиозом общая микробная нагрузка десневой борозды достоверно не изменилась и осталась на высоком уровне.

Рассмотрим, каким образом изменилась микробиота десневой борозды в состоянии эубиоза и дисбиоза у лиц, подвергавшихся воздействию психоэмоционального стресса. В I группе (в состоянии относительного покоя обнаружено эубиотическое состояние микробиоты) *Lactobacillus spp.* высевали на 18,2% реже, *Corynebacterium spp.* — на 27,3% реже. В то же время наблюдали увеличение микробного числа *S. epidermidis* в 4,6 раза и *Neisseria spp.* в 15,4 раза.

У лиц, у которых в состоянии относительного покоя было обнаружено дисбиотическое состояние микробиоты (II группа), на 19,3% реже высевали *S. viridans spp.*, на 17,5% — *Corynebacterium spp.*, на 19,3% — *S. epidermidis*; чаще на 15,8% выявляли *Neisseria spp.* и *Enterobacteriaceae*; плотность колонизации *Neisseria spp.* повышалась в 1,9 раза, *Bacillus spp.* — в 6,6 раза.

Характеризуя изменения микробиоценоза зубодесневой щели при психоэмоциональном стрессе следует отметить, что среди 22 человек I группы у 2 выпускников обнаружили появление дисбаланса микробных популяций, которое характеризовалось как дисбиотический сдвиг. У всех лиц II группы, подвергшихся действию стрессорных факторов на фоне уже имеющихся дисбиотических изменений микробиоты, наблюдали увеличение дисбаланса микробных ассоциаций. Среди 45 обследованных дисбиотический сдвиг обнаружили у 18 (31,6%) человек, дисбиоз I—II степени — у 27 (68,4%).

Таким образом, наше исследование показало, что психоэмоциональный стресс оказывал влияние на количественные и качественные характеристики биопленки десневой борозды обеих исследуемых групп, однако это влияние было более значительным во II группе. Биопленка, которая уже имела дисбаланс микробных популяций, на действие стрессорного фактора реагировала более интенсивным нарушением соотношения симбионтной и условно-патогенной микрофлоры. Частота колонизации симбионтных *S. viridans spp.* у лиц с дисбиозом биопленки десневой борозды была ниже на 69,5% по сравнению с лицами с эубиозом. Во II группе достоверно чаще в десневой биопленке встречались условно-патогенные микроорганизмы *Bacillus spp.*, *Actinomyces spp.*, *S. aureus*, *Enterobacteriaceae*, *Candida spp.* Наиболее часто у лиц

Таблица 2. Влияние психоэмоционального напряжения на состав микробиоты десневой борозды в I группе

Микроорганизм	Состояние относительного покоя		Стресс	
	Ig КОЕ/мл	% лиц	Ig КОЕ/мл	% лиц
<i>S. viridans spp.</i>	6,91±0,09	95,5	6,79±0,05	81,8
<i>S. γ-haemolyticus spp.</i>	6,81±0,10	81,8	7,08±0,06	95,5
<i>S. β-haemolyticus spp.</i>	5,80±0,30	9,1	6,51±0,39	9,1
<i>Neisseria spp.</i>	5,88±0,26	36,4	7,07±0,10	36,4
<i>Corynebacterium spp.</i>	5,84±0,25	31,8	5,30	4,5
<i>Lactobacillus spp.</i>	5,30±0,10	27,3	5,25±0,25	9,1
<i>S. epidermidis</i>	4,99±0,13	31,8	5,65±0,23	31,8
<i>Bacillus spp.</i>	5,28±0,19	18,2	5,50±0,20	9,1
<i>Actinomyces spp.</i>	0			
<i>S. aureus</i>				
<i>Enterobacteriaceae</i>				
<i>Candida spp.</i>				

Таблица 3. Влияние психоэмоционального напряжения на состав микробиоты десневой борозды во II группе

Микроорганизм	Состояние относительного покоя		Стресс	
	Ig КОЕ/мл	% лиц	Ig КОЕ/мл	% лиц
<i>S. viridans spp.</i>	6,43±0,14	31,6	6,74±0,14	12,3
<i>S. γ-haemolyticus spp.</i>	7,35±0,05	89,5	7,34±0,04	96,5
<i>S. β-haemolyticus spp.</i>	6,39±0,21	28,1	6,68±0,20	21,1
<i>Neisseria spp.</i>	7,33±0,08	73,7	7,62±0,04	89,5
<i>Corynebacterium spp.</i>	5,24±0,21	19,3	5,70	1,8
<i>Lactobacillus spp.</i>	4,86±0,22	8,7	5,43±0,29	5,3
<i>S. epidermidis</i>	5,50±0,19	42,1	5,47±0,29	22,8
<i>Bacillus spp.</i>	5,58±0,22	38,6	6,40±0,13	56,1
<i>Actinomyces spp.</i>	5,24±0,10	8,8	5,82±0,48	8,8
<i>S. aureus</i>	5,00±0,20	21,1	5,02±0,13	26,3
<i>Enterobacteriaceae</i>	5,12±0,16	26,3	5,36±0,10	42,1
<i>Candida spp.</i>	4,61±0,10	26,3	4,66±0,13	28,1

II группы обнаруживали *Bacillus spp.* (на 47,0% чаще, чем в I группе), *S.aureus* — в 26,3% случаев, *Actinomyces spp.* — в 8,8%, *Enterobacteriaceae* — в 42,1%, *Candida spp.* — в 28,1% случаев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резидентная микрофлора каждого биотопа выполняет многочисленные функции не только по поддержанию его функционирования, но и гомеостаза организма в целом. Нами показано, что микробиота является высокочувствительной индикаторной системой, реагирует количественными и качественными сдвигами под влиянием факторов внешней и внутренней среды. Во время сдачи экзамена психоэмоциональная нагрузка многократно увеличивается, достигая уровня психоэмоционального стресса. Субъективная оценка значимости экзамена может превратить его в сильный эмоциональный стрессор.

Проведенные исследования показали, что психоэмоциональный стресс влияет на состояние микробиоты десневой борозды, хотя уровень этого влияния зависит

от исходного состояния баланса микробных ассоциаций. В условиях зубиоза десневая биопленка — важный компонент системы естественной противoinфекционной защиты тканей пародонта, обеспечения постоянства микроэкологического гомеостаза и колонизационной резистентности этой биологической ниши. В условиях дисбиоза — начальный дисбаланс микробных популяций увеличивает восприимчивость к вторжению патогенов [9—11].

Развитие психоэмоционального напряжения у молодых лиц, по нашим данным, приводит к уменьшению уровня и частоты колонизации десневой биопленки стабилизирующей микрофлорой. Снижение антагонистического действия этих бактерий способствует заселению десневой борозды условно-патогенными микроорганизмами и усилению проявлений дисбиоза, что наиболее интенсивно проявляется у лиц с начальным дисбалансом микробных популяций. Нарушение баланса представителей резидентной микрофлоры со сдвигом в сторону условно-патогенной микрофлоры является предпосылкой развития инфекционно обусловленной патологии полости рта.

ЛИТЕРАТУРА:

1. **Бондаренко В.** Микрофлора человека: норма и патология. — *Наука в России*. — 2007; 1 (157): 28—35.
2. **Цыган В.Н., Скальный А.В., Мокеева Е.Г.** Спорт, иммунитет, питание. — СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2011.
3. **Быков И.М., Ладутько А.А., Есауленко Е.Е., Еричев И.В.** Биохимия ротовой и десневой жидкости. — Краснодар, 2008.
4. **Захаревич Н.В., Даниленко В.Н.** Серин-треониновые протеинкиназы бактерий — потенциальная мишень для регуляции состава микробиоты человека. — *Вестник РГМУ*. — 2017; (2): 20—9.
5. **Цепов Л.М., Николаев А.И., Нестерова М.М., Наконечный Д.А.** Проблема этиологии воспалительных генерализованных заболеваний пародонта. — В сб.: Современная стоматология — эффективность профилактики и лечения. Нанотехнологии в стоматологии. Материалы конференции, посвященной 60-летию ТГМА. — Тверь, 2014. — С. 310—319.
6. **Михайлов Б.В., Сердюк А.И., Федосеев В.А.** Психотерапия в общесоматической медицине: Клиническое руководство. — Харьков: Прапор, 2002.
7. **Пименова М.Н., Гречушкина Н.Н., Азова Л.Г., Нестрцова А.И.** Руководство к практическим занятиям по микробиологии. Учебное пособие. — М.: МГУ, 1995.
8. **Сидоренко Е.В.** Методы математической обработки в психологии. — СПб.: Речь, 2007.
9. **Razzouk S.** Regulatory elements and genetic variations in periodontal diseases. — *Arch Oral Biol*. — 2016; 72: 106—5. doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.08.015.
10. **De Iulii V., Ursi S., Di Tommaso L.M., Caruso M., Marino A., Ercole S., Caputi S., Sinjari B., Festa F., Macri M., Martinotti S., Vitullo G., Toniato E.J.** Comparative molecular analysis of bacterial species associated with periodontal disease. — *Biol Regul Homeost Agents*. — 2016; 30 (4): 1209—15.
11. **Макеева И.М., Булгаков В.С., Никольская И.А.** Влияние психоэмоционального состояния пациента на течение заболевания пародонта. — *Здоровье и образование в XXI веке*. — 2008; 1: 140—1.