

Федеральное государственное образовательное учреждение
высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

на правах рукописи

Прокопьева Валерия Дмитриевна

КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПИЩЕВОЙ
АЛЛЕРГИИ И РОЛЬ МИКРОБИОТЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ В ЕЕ
ФОРМИРОВАНИИ

3.1.21. Педиатрия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
доцент, О. С. Федорова

Томск 2023

Введение

Пищевая аллергия (ПА) является одной из основных проблем общественного здравоохранения, что связано с риском развития анафилактических реакций на фоне пищевой аллергии и снижением качества жизни пациентов (*European Academy of Allergy and Clinical immunology*, 2014). Согласно, данным экспертов Всемирной организации здравоохранения проявления ПА встречаются, в среднем, у 2,5% населения. При этом, наиболее часто ПА манифестирует в младенческом и раннем детском возрасте, достигая распространенности до 17,3% (*European Academy of Allergy and Clinical immunology*, 2014). Также ПА представляет дебют atopического марша и дальнейшее развитие аллергических заболеваний (бронхиальная астма, аллергический ринит, atopический дерматит) в старшем возрасте (Zneng T. et al, 2014). Согласно данным экспертов Всемирной аллергологической организации, потенциальная роль в развитии ПА отводится наследственной предрасположенности (World Allergy Organization 2011-2012).

За последние десятилетия в мире проведено более 20 когортных исследований, демонстрирующих, что риск ПА у детей, рожденных от родителей без аллергических заболеваний составляет 12-18%, если в семье болен один родитель, риск достигает 28-36%, если оба родителя - 43-56% (Lozinsky AC et al, 2015; John Penders et al, 2007; Lau S, 2018; Osterballe M, 2015; Пампура А.Н., 2011).

По данным одного из первых многоцентровых когортных проспективных исследований (Германия, 1990 г., n= 1314), симптомы аллергии проявились у 38,2 % детей, рожденных в семьях с двумя больными аллергическими заболеваниями родителями. В выборке детей, у которых был болен лишь один родитель, в результате наблюдения у 25% развилась аллергия, и, наконец, у детей, рожденных от здоровых родителей, лишь у 10% развилась аллергия (Lau S, 2018). В другом исследовании (Великобритания, 2008-2009 гг., n=969) в когорте детей продемонстрировано наличие симптомов ПА у 14,2% обследуемых в возрасте 3 месяцев, 9,1%- 6 месяцев и 7,2%-12 месяцев. При этом в возрасте 1 года по результатам плацебо - контролируемых провокационных проб ПА выявлена у 3,2% (Venter C., 2008). В когортном исследовании, проведенном в Дании (n=486),

включавшем оценку уровня специфического IgE, установлено, что пищевая сенсibilизация выявлена у 2,3% детей, достигших возраста 3 лет, и 1% - у детей старше 3 летнего возраста % (Osterballe M,2015).

В свою очередь, реализация генетического риска и развитие аллергии реализуется в процессе онтогенеза под воздействием ряда триггерных факторов, в первую очередь, оказывающих воздействие на индивида впервые 1000 дней жизни, включая внешнесредовые (Sicherer H.A., 2018). Так, показано, что дети, рожденные путем кесарева сечения, в несколько раз чаще проявляют аллергические реакции на пищевые продукты (Parathoma E.,2016). Данное наблюдение исследователи связывают с тем, что ребенок не проходит через естественные родовые пути и не контактирует с естественной микрофлорой матери. Такие дети отличаются более длительным формированием микробиоценозов и развитием ПА.

В Швеции проведено общенациональное когортное исследование, в котором изучали факторы риска развития ПА у детей, рожденных путем кесарева сечения (n=1086378). В течение 13-летнего наблюдения выявлено, что дети, рожденные путем кесарева сечения, имеют выше риск развития ПА (2,5%), чем дети, рожденные естественным путем в плановом или экстренном порядке (1,9%) (Mitselou N et al, 2018).

Другие исследования подтверждают, что риск развития ПА в значительной мере зависит от влияния факторов внешней среды. Так, была установлена ассоциация между составом кишечной микробиоты у новорожденных детей и микробиомом жилых помещений (Konya T. et al, 2014). Данное проспективное исследование было проведено с длительностью наблюдения в течение 1 года (Канада, n=20). Данные образцов стула и пыли были получены у 20 новорожденных детей. Результаты показали значительно разные микробные сообщества в образцах стула и пыли. В обоих образцах доминировали бактерии рода Actinobacteria, Firmicutes и Proteobacteria, в образцах пыли дополнительно отмечалось большое содержание цианобактерий.

В рамках когортного проспективного исследования с периодом наблюдения на протяжении 2 лет (Нидерланды, n=957) изучали взаимосвязь изменения состава кишечной микробиоты при влиянии факторов окружающей среды, а также и риск развития аллергических заболеваний. В результате были получены данные, что наличие в анализе фекалий у детей *E. Coli* (88,6%), *B. fragilis* (81,6%) определяют высокий риск развития аллергических реакций. Данное исследование подтверждает, что более чем у 50% детей, имеющих родителей с установленными аллергическими заболеваниями по одному родителю к возрасту двух лет имели симптомы проявления аллергологических заболеваний (J. Penders et al, 2007).

Многие средовые факторы также могут модифицировать микробиотический ландшафт окружающей среды и/или организма-хозяина и, таким образом, оказывать влияние на реализацию атопической конституции. Показано, что особенности гигиены жилых помещений также оказывают влияние на состав микробиоты: при частой (2 или более эпизодов в неделю) уборке дома с использованием пылесоса наблюдаются изменения в составе кишечной микробиоты на когорте 2х-летних детей и их матерей (Avershina et al, 2015).

Таким образом, накопленные данные указывают на то, что ПА является мультифакторным заболеванием, для понимания основ которого требуется анализ влияния дополнительных факторов, связанных с риском реализации атопической конституции. В связи с этим чрезвычайно актуально установить взаимосвязь развития аллергических заболеваний с учетом микробиоты внешней среды.

Конкретной задачей, на решение которой направлено данное диссертационное исследование, является идентификация ключевых внешне средовых факторов, в частности микробной природы, модификация которых позволит управлять реализацией наследственной предрасположенностью к ПА.

Цель исследования:

Установить клинико-эпидемиологическую характеристику пищевой аллергии у детей раннего возраста и значение микробиотического сообщества

окружающей среды в ее формировании для разработки превентивных мероприятий в группах риска.

Задачи:

1. В ходе когортного проспективного исследования изучить распространенность ПА у детей на протяжении 18 месяцев жизни, в зависимости от наличия или отсутствия аллергических заболеваний у родителей.

2. Изучить клинические особенности ПА и структуру сенсibilизации у детей на протяжении первых 18 месяцев жизни.

3. Охарактеризовать таксономический состав микробиоты жилых помещений в семьях детей, рожденных от родителей, страдающих аллергическими заболеваниями, и от родителей, не имеющих аллергических заболеваний.

4. Охарактеризовать таксономический состав микробиоты кишечного тракта у детей, рожденных от родителей, страдающих аллергическими заболеваниями, и от родителей, не имеющих аллергических заболеваний.

5. Изучить факторы риска развития ПА у детей, рожденных от родителей, страдающих аллергическими заболеваниями, и от родителей, не имеющих аллергических заболеваний, включая: таксономический состав кишечной микробиоты и микробиоты домашней пыли.

6. На основании результатов исследования предложить рекомендации по оптимизации алгоритмов профилактики ПА у детей в группах риска.

Научная новизна

Впервые в мире будет организовано и проведено когортное проспективное исследование, объединяющее эпидемиологические, аллергологические, биоинформатические методы исследования, что позволит получить уникальные данные о развитии ПА у детей раннего возраста при взаимодействии наследственных и средовых факторов.

Впервые в Российской Федерации будут получены эпидемиологические данные о формировании пищевой сенсибилизации и естественном течении ПА у предрасположенных лиц в динамике на протяжении 18 месяцев жизни.

Впервые будут получены уникальные данные о развитии ПА и роли микробиотических сообществ в ее формировании.

Теоретическая и практическая значимость работы

В ходе проспективного когортного исследования будут получены актуальные данные о клинических особенностях течения ПА у детей, рожденных от родителей с документально подтвержденной атопией.

Будут изучены возможные патогенетические механизмы влияния микробиоты окружающей среды на изменение таксономического разнообразия микробиотических сообществ кишечника и формирование пищевой аллергии у детей.

Практическими результатами исследования будут рекомендации по оптимизации алгоритмов профилактики аллергических заболеваний у детей в группах риска.

Результаты будут использованы в сфере здравоохранения, а также организации здравоохранения, медицинском образовании и академической науке.

Дизайн исследования:

Проспективное когортное исследование в дизайне случай-контроль в выборке детей, рожденных от родителей с документально подтвержденными аллергическими заболеваниями и от родителей, не имеющих аллергических заболеваний. Для исследования будет сформировано 2 выборки:

Методы исследования:

- Клинико-anamnestические: сбор медицинского анамнеза, физикальное обследование пациентов и заполнение индивидуальной регистрационной карты.

- Эпидемиологические методы:

Будет разработан протокол эпидемиологического когортного проспективного исследования с участием выборки детей с отягощенным наследственным анамнезом по аллергическим заболеваниям. Будет разработан вопросник по оценке факторов риска ПА и факторов, сопряженных с формированием микробиоты помещений. Будут разработаны и утверждены стандартные операционные процедуры и методология исследования. Будет проведен расчет размера выборки, необходимого для достижения поставленных задач.

- Аллергологические методы:

Диагностика ПА будет проводиться в соответствии с алгоритмами, рекомендованными Европейской Академией Аллергии и Клинической Иммунологии (Food allergy and anaphylaxis guidelines, 2014). При мониторинге симптомов будут учитываться возможные кожные, гастроинтестинальные, респираторные симптомы, а также генерализованные реакции, и связь их возникновения с употреблением пищевых продуктов. Образцы сыворотки крови для аллергологического обследования будут взяты в возрасте 3, 6 и 18 месяцев. Оценка уровня общего IgE будет проводиться с помощью набора "ИФА-Общий IgE" (Алкор-Био, Россия). Иммуноферментное определение аллергенспецифического IgE в сыворотке крови пациентов планируется проводить наборами "АллергоИФА-специфические IgE" (Алкор-Био, Россия) с использованием набора наиболее распространенных пищевых, бытовых, пыльцевых аллергенов производства той же фирмы.

- Секвенирование - идентификация кишечных микробиотических сообществ с помощью методов 16S рРНК секвенирования. Исследование микробиотического состава с использованием технологии секвенирования 16S рРНК бактерий. После получения прочтений с секвенатора будет выполнена их предобработка - биоинформатический анализ для определения таксономического состава бактерий в образцах по последовательности 16S рибосомальной РНК, оценка альфа и бета разнообразия, и статистический анализ для поиска различий в таксономическом составе микробиоты фекалий

- Идентификация микробиоты домашней пыли.

Для отбора проб микробиоты жилого помещения будут использованы стерильные вискозные зонды-тампоны. Отбор проб будет осуществляться внутренних стенок детской кровати в течении трех минут. Каждый образец будет взят в трех образцах. Тампон после сбора материала будет помещен в пробирку с транспортной средой Эймса и доставлен в лабораторию на хладагентах для хранения при -80С до проведения выделения метагеномной ДНК. Выделение метагеномной ДНК будет осуществляться с использованием наборов MoBio Powersoil DNA isolation kit.

Статистическая обработка данных с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows version 10.0».

Выводы.

1. Распространенность пищевой аллергии у детей с отягощенным аллергоанамнезом выше, чем у детей без отягощенного аллергоанамнеза. Распространенность симптомов ПА прогрессивно увеличивается к 12 месяцам преимущественно за счет кожных проявлений у детей в обеих группах (42,5% и 29,2% соответственно, $p=0,06$)
2. Среди клинических проявлений пищевой аллергии у детей ведущее значение имеют эритематозные высыпания, сопровождающиеся зудом и выраженной сухостью кожных покровов. Реже встречаются симптомы поражения дыхательных путей – заложенность носа, насморк, одышка и гастроинтестинального тракта - тошнота, боли в животе, диарея. Особенностью поражения кожи у детей с отягощенным анамнезом является более высокая частота папулезных высыпаний (23,4% и 9,2%, $p=0,01$). Распространенность гастроинтестинальных проявлений, напротив, к возрасту 12 уменьшается независимо от наследственной предрасположенности.
3. В структуре сенсibilизации у детей по результатам оценки содержания

специфического IgE преобладает сенсibilизация к аллергенам белка коровьего молока и белка куриного яйца.

4. Факторами риска пищевой аллергии у детей являются наличие: смешанного вскармливания без использования лечебной гипоаллергенной смеси, а также прием антибактериальных препаратов на первом году жизни. Также установлено, что наличие домашних животных (кошек) сопряжено с меньшим риском развития ПА у детей из групп риска является протективным фактором в развитие ПА

5. Реакции, связанные с употреблением пищевых продуктов чаще регистрировались среди детей с отягощенным аллергоанамнезом (48,9% и 32,3%, выборках 1 и 2 соответственно, $p=0,01$).

Апробация работы. Основные результаты исследования представлены в виде докладов и публикаций тезисов на VI Дальневосточном медицинском молодежном форуме с международным участием (г. Хабаровск 03.10.2022 - 15.10.2022), Четвертом Всероссийском педиатрическом форуме с международным участием (г. Москва 16.05.2023), XXIV Конгрессе педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (г. Москва 03.03.2023-05.03.2023). Внедрение результатов исследования. Результаты работы внедрены в учебный процесс кафедры факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, а также в практическую деятельность детской клиники ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (г. Томск).

Публикации. По теме диссертации опубликованы 11 печатных работ, из них шесть публикаций в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, в том числе четыре полнотекстовых статьи. Две статьи опубликованы в журналах, входящих в международные реферативные базы данных Scopus и Web of Science.

Объем и структура научно-квалификационной работы. Научно-квалификационная работа состоит из введения, обзора литературы, характеристики материалов и клинических групп, результатов, обсуждения

результатов, выводов, списка литературы, включающего 163 источника. Научная работа изложена на 83 страницах машинописного текста с таблицами и рисунками.