

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «СИБИРСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

на правах рукописи

Соколова Татьяна Сергеевна

**ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КИШЕЧНОЙ И БИЛИАРНОЙ
МИКРОБИОТЫ И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ В ФОРМИРОВАНИИ ПАТОЛОГИИ
НА ФОНЕ ОПИСТОРХОЗНОЙ ИНВАЗИИ У ДЕТЕЙ**

14.01.08 – педиатрия

**Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор О.С. Федорова**

Томск, 2019

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Одной из основных проблем мирового здравоохранения во второй половине XX века является резкий рост хронических неинфекционных заболеваний, что определяет глобальные приоритеты в сфере охраны здоровья населения. Неинфекционные заболевания – группа многофакторных заболеваний, которая включает заболевания сердечно-сосудистой системы, рак, аутоиммунные и аллергические заболевания. Одной из приоритетных областей стратегических действий политики Здоровье-2020 является снижение бремени неинфекционных и инфекционных болезней, в том числе в детском возрасте [Здоровье 2020: Основы европейской политики и стратегия для XXI века, Всемирная организация здравоохранения, 2013]. Изучение факторов риска, разработка профилактических мероприятий и поиск новых терапевтических возможностей неинфекционных заболеваний является актуальной задачей.

В соответствии с гипотезой «старых друзей» микробиота и гельминты, которые сосуществовали с человеком в процессе эволюции, играют важную роль в регуляции иммунной системы хозяина [Fogouzanfar M.H., 2015]. Снижение воздействия гельминтов и микробиотических сообществ на иммунную систему хозяина, как это происходит в промышленно развитых странах, рассматривается как фактор риска развития хронических неинфекционных заболеваний [Maizels R.M., 2005, Maslowski K.M., 2011, Zeissig S., 2004].

Наибольшей актуальностью обладает исследование фундаментальных механизмов влияния гельминтных инвазий на развитие и течение иммунозависимых заболеваний у населения эндемичных регионов. На территории Российской Федерации располагается несколько эндемичных очагов с высокой распространенностью гельминтозов. Одним из наиболее крупных природно-очаговых гельминтозов является описторхоз, вызываемый трематодой *Opisthorchis felineus* (*O. felineus*). В исследованиях показана способность *O. felineus* модифицировать иммунный ответ хозяина в сторону супрессии Th2-зависимых механизмов иммунного ответа за счет повышения экспрессии генов IL10 и TGF- β и снижения уровня провоспалительных маркеров IL-4, IL-5 [Огородова Л.М., 2010, Елисеева О.В., 2011]. В исследованиях с участием пациентов, страдающих аллергическими заболеваниями (атопический дерматит, бронхиальная астма), показано, что содержание CD4+FOXP3+ значимо преобладает у больных, страдающих хронической описторхозной инвазией в сравнении с неинвазированными больными [Огородова Л.М., 2010, Елисеева О.В., 2011].

Предположительно, данные иммуносупрессорные механизмы, с одной стороны, защищают паразитов от иммунного ответа организма хозяина, с другой стороны, модулируют

активность других иммунозависимых патологических процессов [Maizels R.M., 2003]. Одним из механизмов изменения иммунного ответа, возможно, является модификация микробиоты пищеварительного тракта на фоне инвазии *O. felineus*. С появлением современных молекулярно-генетических методов идентификации микроорганизмов стало возможным существенно расширить знания о микробиоте и ее модификации при различных патологических состояниях.

Цель исследования – Установить таксономическое разнообразие микробиоты кишечника у детей в зависимости от наличия и интенсивности инвазии *Opisthorchis felineus* и его значение в формировании клинических особенностей болезни.

Задачи исследования

- 1) Актуализировать данные о распространенности и интенсивности инвазии *Opisthorchis felineus* у детей разных возрастных групп в эндемичном регионе (Томская область, Западная Сибирь);
- 2) Охарактеризовать таксономический состав кишечной микробиоты у детей в зависимости от наличия инвазии *Opisthorchis felineus* и установить его клиническое значение;
- 3) Оценить влияние дегельминтизации празиквантелом на динамику качественного и количественного состава микробиоты кишечника;
- 4) На основании данных оценки таксономического разнообразия микробиоты кишечника предложить практическому здравоохранению рекомендации по оптимизации алгоритмов терапии инвазии *Opisthorchis felineus* у детей.

Научная новизна

Впервые в результате научно-исследовательской работы проведен анализ особенностей видового разнообразия, таксономического и функционального состава микробиоты кишечника у детей с инвазией *Opisthorchis felineus* в сравнении с контрольной группой здоровых детей.

Новыми являются данные о том, что кишечная микробиота у детей, страдающих инвазией *Opisthorchis felineus* сохраняет относительную стабильность состава по высокопредставленным таксонам, демонстрируя при этом ряд существенных различий в отношении низкопредставленных, инвазия не оказывала значимого влияния на α -разнообразие микробиоты. Наличие инвазии и возраст оказывают значимое влияние на β -разнообразие микробиоты кишечника. В свою очередь, дегельминтизация празиквантелом не влияла на таксономическое богатство и β -разнообразие.

Микробиота кишечника при инвазии *O. felineus* характеризуется изменением в представленности микроорганизмов, ассоциированных с патологией гепатобилиарного тракта

(*Parabacteroides distasonis*, *Bacteroides uniformis*) и с развитием хронических неинфекционных заболеваний (бронхиальная астма, целиакия и др.). Дегельминтизация приводит к снижению представленности бактерий, ассоциированных со склерозирующим холангитом (род *Megasphaera*).

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные данные о распространенности и интенсивности инвазии *O. felineus* у детей в эндемичных регионах будут иметь важное теоретическое значение для планирования эпидемиологических исследований в будущем. Указанные данные будут важны для практического здравоохранения в части планирования объемов медицинской помощи детскому населению.

В ходе исследования впервые проведено сравнительное описание состава кишечной микробиоты у детей в зависимости от наличия инвазии. Получены новые фундаментальные знания о влиянии описторхозной инвазии на микробиом пищеварительного тракта человека, применение которых открывает перспективу разработки новых превентивных подходов в отношении ассоциированных с описторхозом состояний, включая болезни желчевыводящих путей и иммунозависимые заболевания.

Методология и методы исследования

В соответствии с поставленными задачами в структуре исследования выделены два основных этапа. Первый этап (эпидемиологический) спланирован в дизайне одномоментного исследования в рандомизированной выборке жителей Томской области. Общая численность выборки жителей подворий 9 сельских населенных пунктов составила 600 человек, в т.ч. были включены 76 детей в возрасте 7–18 лет (средний возраст $10,8 \pm 3,0$ года, соотношение девочек и мальчиков составило 1,3:1).

Второй этап (клинический) был проведен в дизайне одномоментного исследования «случай-контроль», в рамках которого были включены 100 детей. Сформирована группа пациентов, страдающих инвазией *O. felineus* ($n=50$, средний возраст $11 \pm 3,4$ года, соотношение девочек и мальчиков 2,3:1). Контрольную группу составили дети, не имеющие инвазии *O. felineus* по результатам паразитологического исследования, а также не страдающие острыми и хроническими болезнями ($n=50$, средний возраст $10,3 \pm 2,8$ года, соотношение девочек и мальчиков 1,4:1).

Процедуры исследования включали: интервьюирование по клиническому вопроснику, содержащему разделы о демографических, социокультурных, медицинских данных, физикальное обследование, двукратную микроскопию образцов стула с использованием

концентраторов «Parasep» (Diasys Ltd, Великобритания), биохимический анализ крови (Diasys Ltd, GmbH), ультразвуковое исследование (УЗИ) гепатобилиарной системы.

В работе выполнено молекулярно-генетическое исследование бактериального состава образцов стула у пациентов до и после лечения, а также в контрольной группе с использованием метода 16S рРНК секвенирования.

Достоверность полученных данных подтверждена методами математической статистики.

ВЫВОДЫ

1. Распространенность инвазии *O. felineus* у детей, проживающих в эндемичном регионе Западной Сибири (Томская область), составляет 18,4% и имеет тенденцию к увеличению с возрастом (26,3% в группе детей 11–18 лет; 10,5% в группе детей 7–10 лет).
2. При оценке α -разнообразия обнаружена тенденция к росту таксономического богатства при инвазии *O. felineus*. Наличие инвазии оказывает значимое влияние на β -разнообразие кишечной микробиоты, выявлены достоверные различия содержания бактерий на уровне семейств, родов и видов.
3. Микробиота кишечника при инвазии *O. felineus* характеризуется увеличением представленности микроорганизмов, ассоциированных с патологией гепатобилиарного тракта (*Parabacteroides distasonis*, *Bacteroides uniformis*) и с развитием хронических неинфекционных заболеваний (бронхиальная астма, целиакия и др.) - *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides ovatus*, рода *Prevotella*.
4. Через 3 месяца после дегельминтизации празиквантелом не выявлено различий в α - и β -разнообразии микробиоты кишечника по сравнению с контрольной группой. Изменения в представленности бактерий семейства Enterobacteriaceae, родов *Butyricimonas*, *Blautia*, *Lachnospira*, *Escherichia*, видов *Lactobacillus salivarius*, *Roseburia inulinivorans*, *Escherichia coli* ассоциированные с инвазией *O. felineus*, после терапии были сопоставимы с уровнем данных таксонов у лиц контрольной группы. Напротив, изменения в некоторых микробиотических сообществах, выявленных у пациентов с инвазией, сохранялись и через 3 месяца после дегельминтизации (бактерии семейства Barnesiellaceae, род *Bacteroides*, видов *Parabacteroides distasonis*, *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides ovatus*). Терапия приводит к снижению представленности бактерий, ассоциированных со склерозирующим холангитом (род *Megasphaera*).
5. Изменения в таксономическом составе кишечной микробиоты на фоне описторхозной инвазии позволяют рассмотреть возможность коррекции микробиома с использованием трансплантации микробиоты у пациентов с аллергическими заболеваниями.

Апробация работы. Основные положения работы были доложены и обсуждены на XXI Конгрессе педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии», 2019 г.

Публикации: По материалам исследования опубликовано 4 печатных работ, из них 1 статья в журнале, рекомендованном ВАК РФ.

Объем и структура научно-квалификационной работы. Научно-квалификационная работа состоит из введения, обзора литературы, характеристики материалов и клинических групп, глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов и практических рекомендаций, списка литературы, включающего 82 источников. Научная работа изложена на 80 страницах машинописного текста с таблицами и рисунками.