



ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Минск, Республика Беларусь

# Современные возможности молекулярной микробиологии для оценки риска развития дивертикулярной болезни ободочной кишки, ее осложнений и рецидивов

Полуян О.С., Костюк С.А., Воробей А.В.

# Актуальность

- ▶ Дивертикулярная болезнь – распространенное комплексное заболевание, характеризующееся выпячиванием слизистой оболочки стенки толстой кишки в местах относительной слабости мышечных слоев, близких к проникающим кровеносным сосудам.
- ▶ Заболеваемость достигает 50% среди лиц старше 60 лет, при этом наблюдается значительный рост заболеваемости и частоты госпитализаций и в более молодых возрастных группах.
- ▶ У 10-25% пациентов возникают осложнения (острый дивертикулит, абсцесс, образование свищей, кровотечение, перфорация), вызывая прирост ежегодной смертности 1 на 100000 населения вследствие необходимости стационарного лечения и проведения резекции сигмовидной кишки при рецидивах заболевания.
- ▶ Патогенез дивертикулярной болезни включает факторы образа жизни, **микробный фактор**, структурно-функциональные изменения стенки толстой кишки, старение и **генетическую предрасположенность**.

# Цель исследования

- ▶ установить **микробиологические факторы риска** развития дивертикулярной болезни, ее осложнений и рецидивов на основе оценки транслокации микрофлоры ободочной кишки в слизистую оболочку и лимфоузлы мезоколона;
- ▶ установить **уровни нормализованной экспрессии генов** коллагена *COL6A1*, кальций-связывающего белка *S100A10*, эластина *ELN*, тахикинина *TAC1*, участвующих в формировании соединительной ткани, в биоптатах тканей ободочной кишки пациентов с осложненной дивертикулярной болезнью.

# Материалы и методы

## Микробиологические исследования

Выявление:

ДНК условно-патогенной флоры аэробной этиологии (*Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus species*, *Streptococcus species*);

ДНК метициллин-чувствительного (МЧ) и метициллин-резистентного (МР) *Staphylococcus aureus*, метициллин-резистентных коагулазонегативных (МР КН) *Staphylococcus species*;

ДНК *Herpes simplex virus* I, II типов, *Cytomegalovirus*, *Epstein-Barr virus*;

биоптаты слизистой оболочки патологического участка неосложненного дивертикула

биоптаты слизистой оболочки патологического участка осложненного дивертикула

биоптаты инфильтратов брыжейки

биоптаты лимфоузлов мезоколона

биоптаты слизистой оболочки здоровой стенки кишки

## Определение уровней нормализованной экспрессии *COL6A1*, *S100A10*, *ELN*, *TAC1*

Биоптаты неосложненных дивертикулов

Биоптаты без дивертикулов

Биоптаты осложненных дивертикулов

Контрольный материал

# Полученные результаты

## Микробиологический статус исследуемого клинического материала

	Неосложненный дивертикул (n=35)	Осложненный дивертикул (n=19)	Инфильтрат брыжейки (n=25)	Лимфоузлы мезоколона (n=55)	Стенка здоровой кишки (n=45)
Enterobacteriaceae	54,28±6,63%	68,42±7,71%	48,00±6,50%	-	-
Streptococcus spp.	48,57±6,35%	63,16±6,00%	40,00±6,00%	-	-
Staphylococcus spp.	40,00±5,86%	57,89±7,18%	20,00±4,36%	-	-
MRSA	МЧ 33,33±5,71%; МР 66,67±8,00%	МЧ 9,09±3,00% МР 18,18±4,22% МРКН 72,73±8,18%	МРКН 20,00±4,36%	-	-
HSV I, II	2,86±1,68%	42,10±6,22%	-	21,82±4,38%	-
CMV	-	26,31±5,00%	-	12,72±3,44%	-
EBV	2,86±1,68%	26,31±5,00%	-	14,55±3,66%	-

## Влияние вида инфицирования на риск развития осложнений и рецидивов

	Относительный риск	Критерий $\chi^2$	Критерий $\phi$	Отношение шансов	ДЧ	ДС	ПЦ+	ПЦ-
Микст-инфекция → осложнение	15,658 (p<0,05)	34,301 (p<0,001)	0,838	140,250 (p<0,05)	85,00%	94,28%	89,47%	94,28%
Вирусы → рецидив	13,200 (p<0,05)	33,444 (p<0,001)	0,817	102,667 (p<0,05)	91,67%	90,32%	88,00%	93,33%

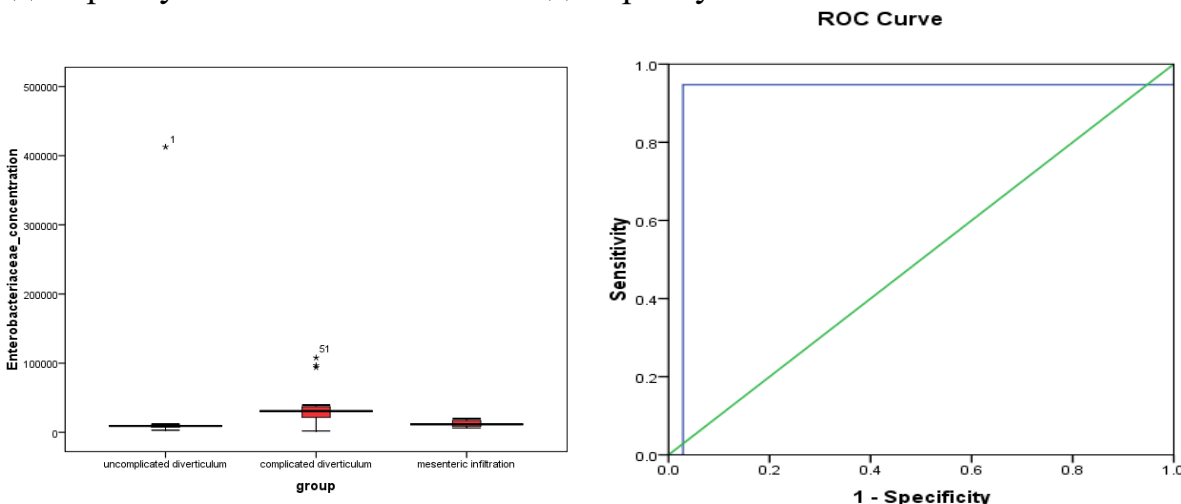
# Полученные результаты

## Количественные исследования

Биологический материал	Концентрация ДНК <i>Enterobacteriaceae</i> Ме (Q25/75) копий/мл	Концентрация ДНК <i>Streptococcus species</i> Ме (Q25/75) копий/мл	Концентрация ДНК <i>Staphylococcus species</i> Ме (Q25/75) копий/мл
Неосложненный дивертикул	<b>9232 (7341/10761)</b>	9296 (7671/11159)	8438 (6804/10908)
Осложненный дивертикул	<b>30678 (18996/37073)</b>	9413 (8460/11074)	10601 (9289/11171)
Инфильтрат брыжейки	<b>11577 (8266,5/17274,5)</b>	10404 (6995/13069)	10999 (7036/12827)

## Статистический анализ

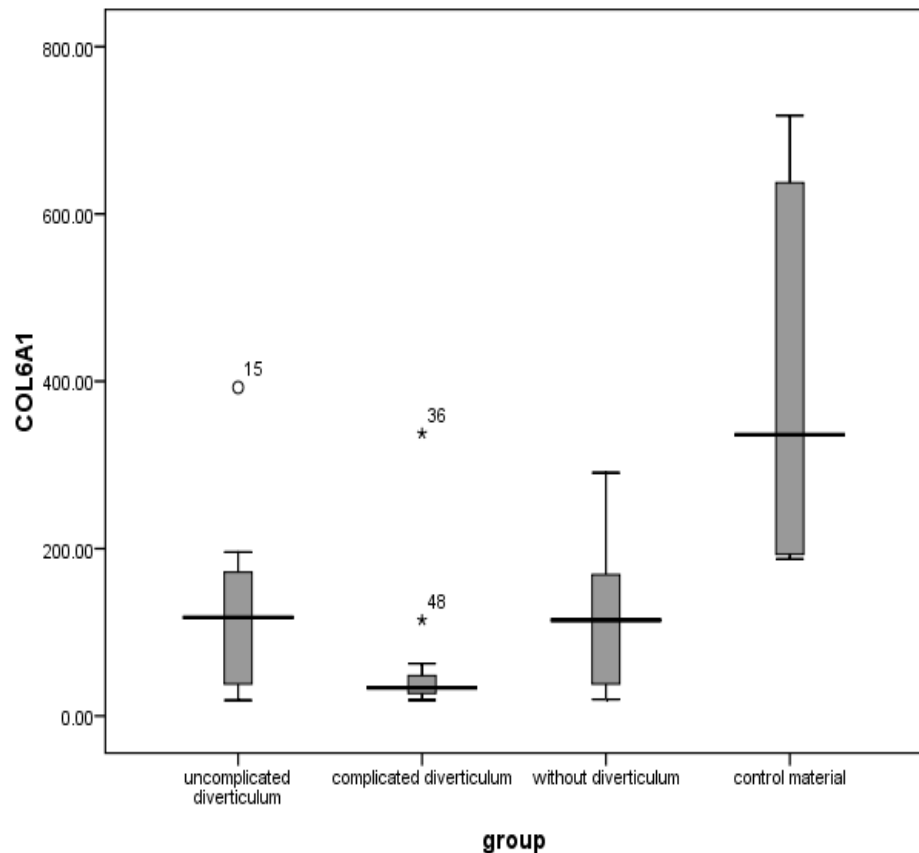
Концентрация ДНК *Enterobacteriaceae*  $7,4 \times 10^3$  копий/мл (т.е. точка отсечения) разделяет с чувствительностью 94,7% и специфичностью 74,3% (AUC= 0,920 (95% ДИ 0,810-1,031),  $p < 0,001$ ) пациентов с дивертикулярной болезнью на две подгруппы: без осложненных дивертикулов и с осложненными дивертикулами.



- ▶ Относительный риск формирования осложненных дивертикулов  $OR=9,771$  (нижняя-верхняя границы 95% ДИ 1,412-67,638) при  $p < 0,05$ .
- ▶ Критерий  $\chi^2$  с поправкой Йейтса 9,573 при  $p=0,002$  (значимость различий исходов в зависимости от воздействия фактора риска).
- ▶ Критерий  $\phi$  0,462 (относительно сильная связь между фактором риска и исходом).
- ▶ Отношение шансов 19,059 (нижняя-верхняя границы 95% ДИ 2,288-158,782) при  $p < 0,05$ .

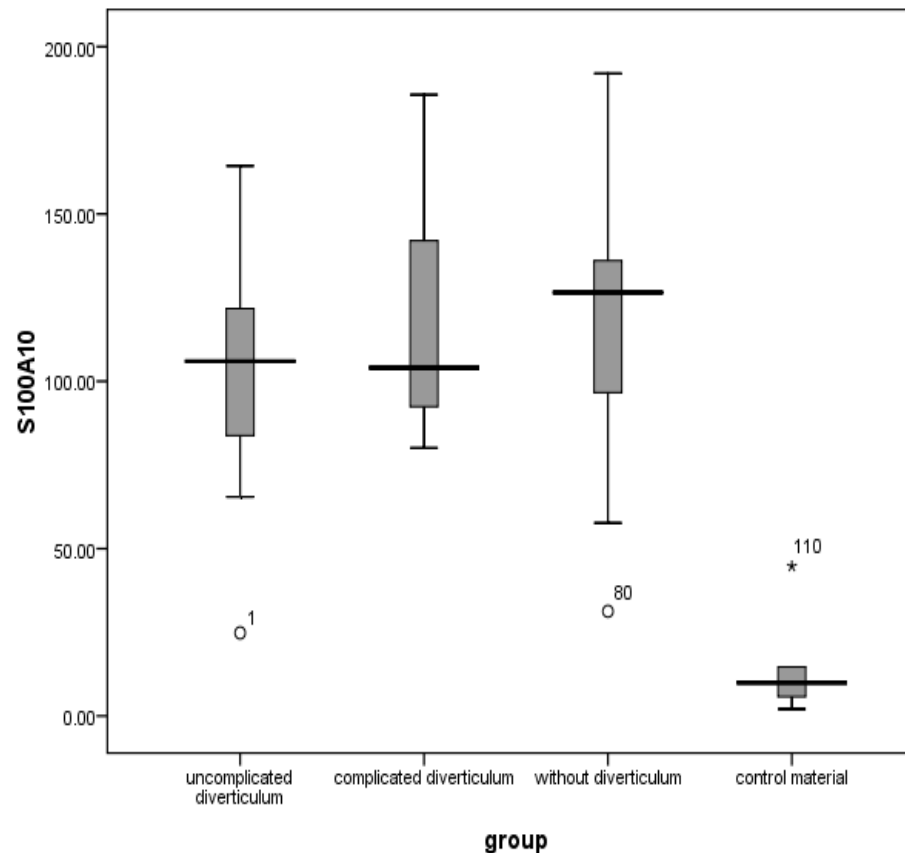
# Полученные результаты

## Определение уровней нормализованной экспрессии генов



Снижение экспрессии *COL6A1* с биоптатах тканей участков стенки кишки приводит к нарушению построения экстрацеллюлярного матрикса и снижению активности мышечной функции.

Различия достоверны ( $p < 0,05$ ) для всех групп, кроме 1-3 (критерий Манна-Уитни.)

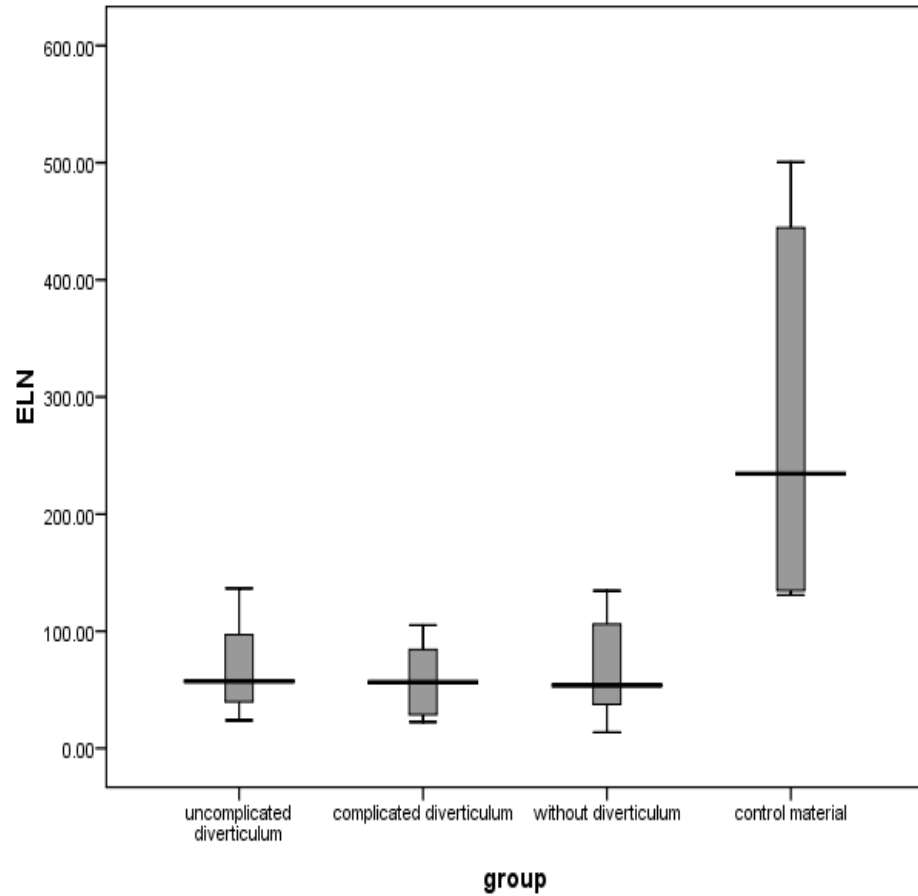


Увеличение экспрессии гена *S100A10* в биоптатах тканей участков стенки кишки приводит к разрушению и деградации экстрацеллюлярного матрикса вследствие фибринолиза и действия металлопротеиназ.

Различия достоверны ( $p < 0,05$ ) при сравнении с группой контроля (критерий Манна-Уитни.)

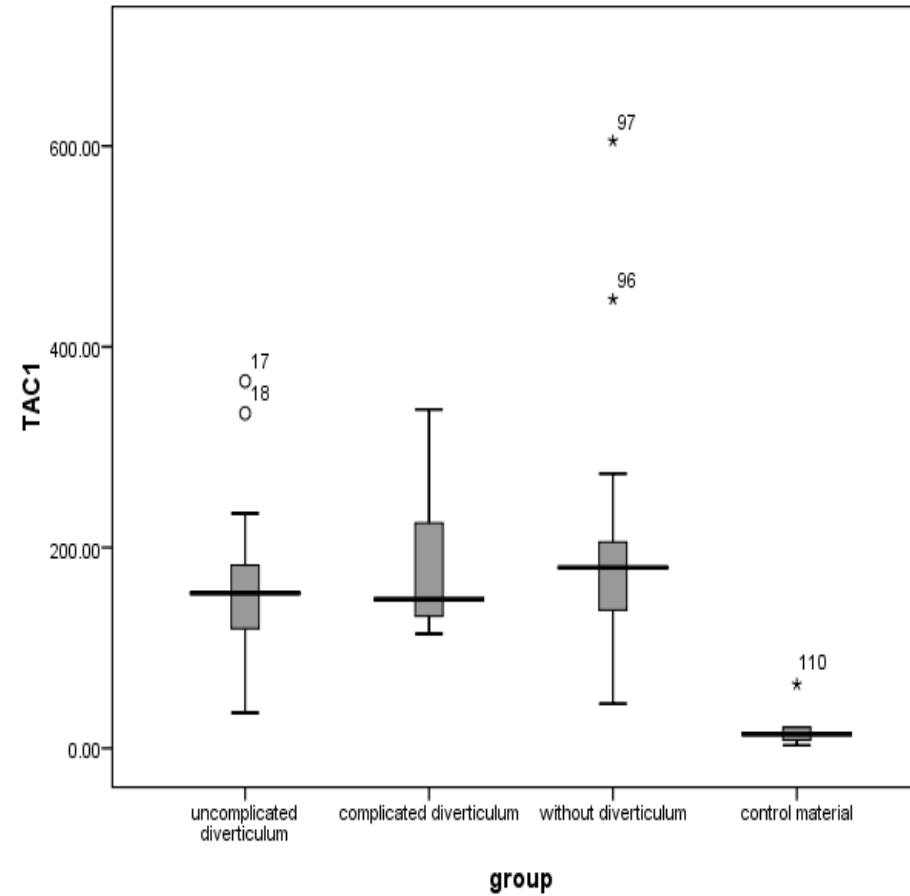
# Полученные результаты

## Определение уровней нормализованной экспрессии генов



Снижение уровней нормализованной экспрессии гена *ELN* в биоптатах тканей участков ободочной кишки приводит к снижению эластичности и стабильности экстрацеллюлярного матрикса.

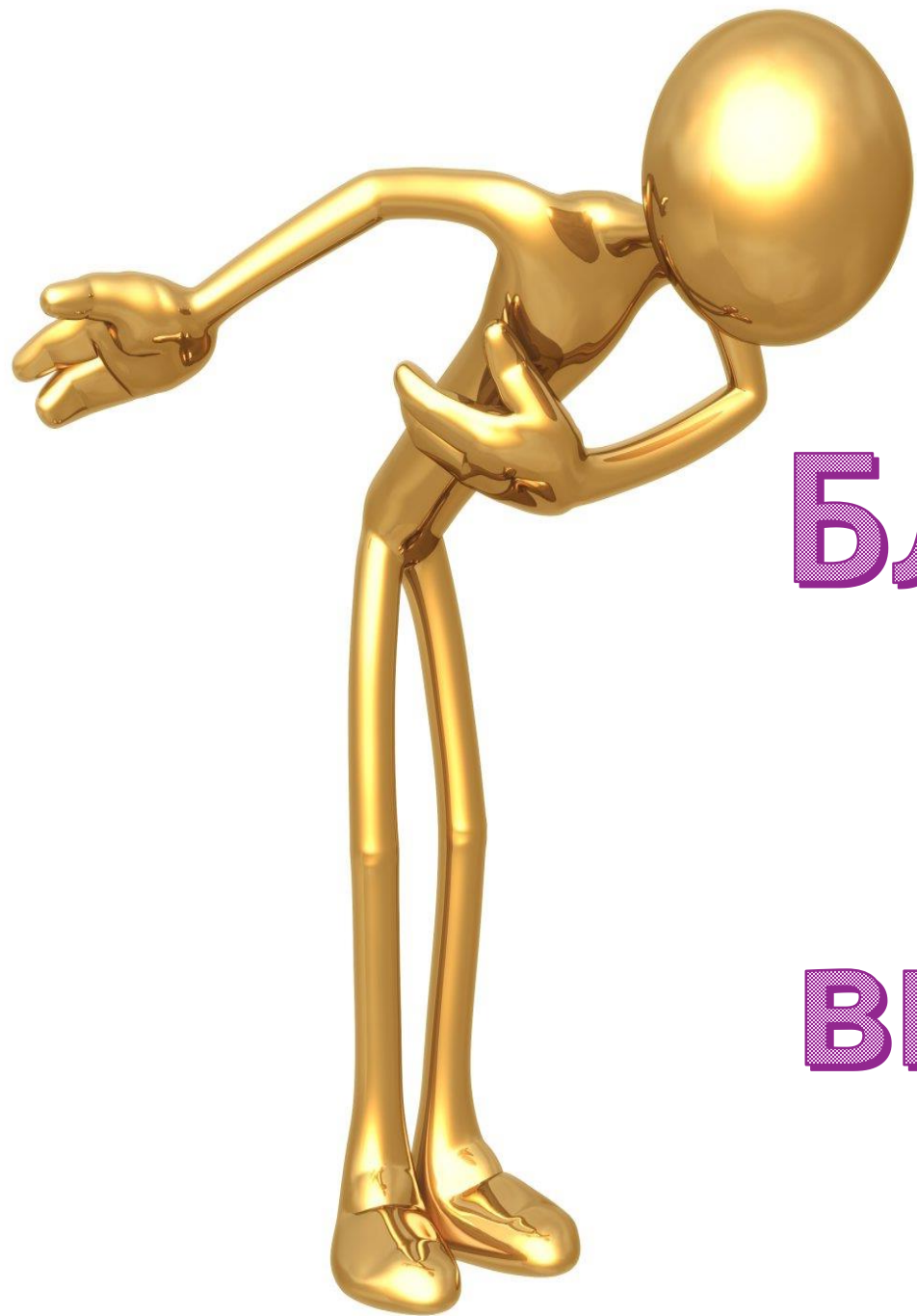
Различия достоверны ( $p < 0,05$ ) при сравнении с группой контроля (критерий Манна-Уитни.)



Усиление экспрессии гена *TAC1* является маркером местной воспалительной реакции в биоптатах тканей участков ободочной кишки пациентов с дивертикулярной болезнью.

Различия достоверны ( $p < 0,05$ ) при сравнении с группой контроля (критерий Манна-Уитни.)





**Благодарю  
за  
внимание!**