

Министерство образования и науки РФ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ
Направление: 06.04.01 (020400.68) - биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Магистерская диссертация

ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ЛАКТОБАЦИЛЛЫ
НОРМАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА

Работа завершена:

" ___ " _____ 2017 г. _____ (До Гхи Зуен)

Работа допущена к защите:

научный руководитель,

к.б.н., доцент

" ___ " _____ 2017 г. _____ (Д.Р. Яруллина)

заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

" ___ " _____ 2017 г. _____ (О.Н. Ильинская)

Ионизирующее излучение широко применяется в медицинской практике для лечения онкологических заболеваний и с диагностической целью. По данным Роспотребнадзора ежегодно в России проводится более 200 млн. диагностических рентгенорадиологических процедур, при этом в среднем на человека в год приходится 1.8 процедуры [О радиационной безопасности населения при медицинском облучении, 2015]. На технологиях лучевой диагностики основаны массовые проверочные исследования населения: флюорография, направленная на своевременное выявление туберкулеза органов дыхания, и рентгеновская маммография - для ранней диагностики рака молочной железы у женщин старше 50 лет. Наибольший вклад в коллективную дозу медицинского облучения вносят компьютерная томография и рентгенография [Балонов с соавт., 2015]. Доля компьютерной томографии (КТ) в структуре выполняемых рентгенологических исследований пока невелика (2.57%), однако этот высокодозообразующий вид диагностики вносит наибольший вклад в коллективную дозу медицинского облучения пациентов (34.95%) [Репин с соавт., 2014].

Эффекты ионизирующей радиации в отношении бактерий активно исследовали в 50-60-х годах прошлого века, в результате чего прокариотические организмы были признаны наименее чувствительными к радиации существами на Земле [Kelner *et al.*, 1955]. В последние несколько лет приобретают актуальность работы, направленные на изучение эффектов медицинского облучения на микрофлору организма человека, которая, согласно современным представлениям, является неотъемлемой, функционально активной частью нашего тела [Belizário and Napolitano, 2015]. Процедуры лучевой терапии опухолей органов брюшной полости и малого таза часто сопровождаются развитием у пациентов явлений воспаления кишечника (энтерита, энтеропатии, мукозита и пр.), дисбактериоза и диарей [Touchefeu *et al.*, 2010; Theis *et al.*, 2010; Hauer-Jensen *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2015]. С помощью метагеномного анализа установлено, что радиотерапия

приводит к качественным и количественным изменениям в микробном сообществе кишечника [Touchefeu *et al.*, 2014; Nam *et al.*, 2013; Kim and Park, 2013], однако до сих пор неизвестно, чем обусловлены указанные патологические состояния: гибелью бактерий или изменениями в слизистой кишечника.

Бактерии рода *Lactobacillus* являются неотъемлемой частью нормофлоры кишечника человека и выполняют в нем важные функции: барьерную, пищеварительную, иммуномодулирующую и др. [Turpin *et al.*, 2010]. Данные о радиорезистентности лактобацилл крайне немногочисленны. Так, из мясного фарша, облученного дозой 5 кГр, были выделены бактерии *L. sake*, *L. curvatus* и *L. farciminis* [Hastings *et al.*, 1986]. Позже у 5 видов лактобацилл (*L. bulgaricus*, *L. paracasei*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. delbruekii*) была отмечена устойчивость к дозе γ -радиации 5 кГр и у одного вида, *L. acidophilus*, – к дозе 10 кГр [Hwang *et al.*, 2013]. Несмотря на существенное значение лактобацилл для медицины, до сих пор влияние медицинского излучения на бактерии этой группы исследовали лишь однажды. Было показано, что дозы ионизирующего излучения, используемые в лучевой терапии опухолей органов брюшной полости и малого таза (3 Гр и 50 Гр) не оказывают влияния на жизнеспособность 52 штаммов лактобацилл, принадлежащих к видам *L. crispatus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. acidophilus*, *L. amylovorus*, *L. casei*, *L. helveticus*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. salivarius* и *L. gasseri* [Gosiewski *et al.*, 2016].

Целью работы является выяснение эффектов ионизирующего излучения, генерируемого для медицинских рентгенологических исследований и терапии опухолей, на лактобациллы нормальной микрофлоры кишечника человека.

В соответствии с поставленной целью решались следующие задачи:

- 1) Охарактеризовать влияние доз облучения от основных видов рентгеновской диагностики (компьютерная томография, рентгенография,

флюорография, маммография) и лучевой терапии опухолей брюшного отдела (50 Гр) на жизнеспособность бактерий рода *Lactobacillus*.

2) Выяснить влияние ионизирующего излучения, генерируемого для медицинских рентгенологических исследований, на образование лактобациллами пероксида водорода – активной формы кислорода с патофизиологическими и регуляторными функциями в организме.

3) Определить влияние медицинского терапевтического ионизирующего излучения на белковый профиль лактобацилл.

4) Экспериментально обнаружить гены радиорезистентности *recN*, *recF*, *recG*, *uvrA*, *uvrB* в геномах исследуемых лактобацилл.

ВЫВОДЫ

1) Основные медицинские рентгенодиагностические процедуры (флюорография, рентгенография, компьютерная томография, маммография) и лучевая терапия опухолей брюшного отдела не снижают жизнеспособность лактобацилл *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. acidophilus*, выделенных из пробиотических препаратов и желудочно-кишечного тракта человека.

2) У штаммов *L. acidophilus* HF-Gi и *L. rhamnosus* HF-A2, способных образовывать H_2O_2 , рентгеновское облучение от компьютерной томографии приводило к увеличению уровня H_2O_2 на 15 и 32% соответственно. У штаммов, не образующих H_2O_2 и с низким содержанием H_2O_2 , облучение не влияло на уровень пероксида в клетках.

3) У штаммов *L. plantarum* 8PA3 и *L. rhamnosus* I2L ионизирующее излучение дозой 50 Гр, генерированное при моделировании лучевой терапии опухолей брюшного отдела, приводит к гиперпродукции ряда белков, которые, однако, экспрессируются и в необлученных клетках. Белковый паттерн лактобацилл, индуцированный ионизирующим излучением, видоспецифичен.

4) Методами ПЦР и секвенирования продуктов ПЦР-амплификации в геномах исследуемых лактобацилл впервые экспериментально обнаружено наличие пяти основных генов, обеспечивающих радиорезистентность бактерий: гена *recG*, кодирующего АТФ-зависимую ДНК хеликазу, генов системы репарации UvrABC *uvrA* и *uvrB* и генов рекомбинационной репарации *recF* и *recN*.