

А. В. ГОРБАЧ¹, Е. П. МИХАЛЕНКО¹, Л. И. КАСТЮКЕВИЧ²

**АНАЛИЗ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ МИКРОБИОМА
ТОЛСТОЙ КИШКИ У ДЕТЕЙ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ
ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КИШЕЧНИКА:
СРАВНЕНИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И ЭНДОСКОПИЧЕСКИ
ЗДОРОВЫХ УЧАСТКОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ**

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

E-mail: gorbach.alexandra@yandex.ru

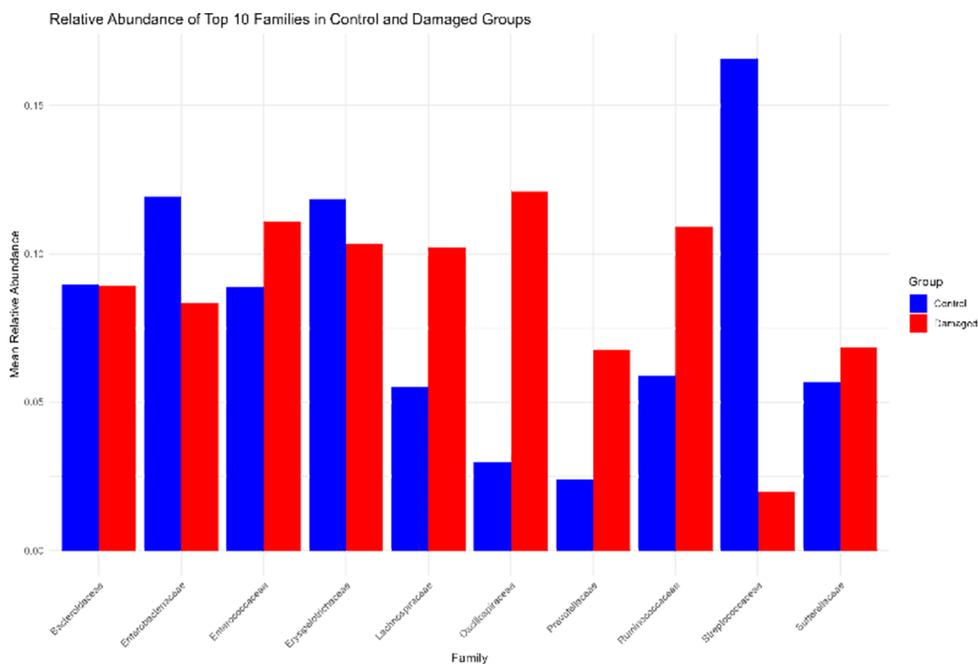
Введение. Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) – это группа хронических патологических состояний желудочно-кишечного тракта, включающая болезнь Крона (БК) и язвенный колит (ЯК). Этиопатогенез воспалительных заболеваний кишечника многофакторен и представляет собой сложное взаимодействие между кишечной микробиотой, генетической предрасположенностью и иммунной дисрегуляцией [1].

Цель настоящего исследования – оценить различия в составе микробиоты между поврежденными (с признаками ВЗК/колита) и эндоскопически здоровыми участками толстой кишки у детей с ВЗК.

Материалы и методы. В исследование было включено 8 пациентов с различными формами ВЗК, у каждого из которых одновременно были взяты образцы биопсии толстой кишки из двух участков – эндоскопически здорового и эндоскопически поврежденного. Полученные образцы были разделены на две группы: группу Control, включающую образцы биопсии из эндоскопически здоровых участков толстой кишки, и группу Damaged, состоящую из биопсий, взятых с поврежденных участков толстой кишки. Такое разделение позволило провести сравнительный анализ микробиома между визуально нормальными и поврежденными участками кишечника у одних и тех же пациентов. Анализ микробиома проводился методом 16S-секвенирования с использованием высоковариабельных регионов V3–V4. Полученные fastq-файлы обрабатывали согласно биоинформатическому пайплайну для анализа микробиомных данных. Оценку качества библиотек ампликонов осуществляли с помощью программы FastQC V.0.11.9, обработку и анализ данных микробиома – с использованием пакета DADA2 в среде R. Первоначально для удаления праймеров и ложных последовательностей была применена функция removePrimers. Последующие этапы обработки осуществляли стандартным пайплайном DADA2 для обработки данных микробиома. Завершающим этапом анализа стала таксономическая классификация, проведенная с использованием базы данных SILVA версии 138.2. Анализ микробного разнообразия проводился с использованием пакетов R. Альфа-разнообразие оценивали с по-

мощью индексов Шеннона и Симпсона, а бета-разнообразие – с использованием метрик UniFrac и Bray-Curtis (пакет *vegan*). Визуализацию бета-разнообразия осуществляли методом анализа главных координат (PCoA) с применением пакета *ggplot2*. Сравнительный анализ относительной численности таксонов между группами проводили с использованием непараметрического теста Уилкоксона для связанных выборок. Для выявления статистически значимых различий в составе микробных сообществ на уровне семейств применяли пермутационный многофакторный дисперсионный анализ (PERMANOVA, пакет *vegan*).

Результаты и их обсуждение. Анализ относительной численности 10 лидирующих семейств микроорганизмов в группах Control (неповрежденный участок слизистой) и Damaged (поврежденный участок слизистой) представлены на рисунке. В группе Control наибольшую представленность имели семейства *Streptococcaceae* (около 17 %) и *Enterobacteriaceae* (около 12 %), а в группе с поврежденной слизистой доминировали семейства *Oscillospiraceae* (около 12 %) и *Ruminococcaceae* (около 11 %). Другие семейства, наоборот, демонстрировали снижение численности в поврежденной ткани: *Streptococcaceae* – 2 % против 17 %, *Enterobacteriaceae* – 8 % против 12 %. Семейства *Bacteroidaceae*, *Enterococcaceae* и *Erysipelotrichaceae* показали относительно небольшие изменения между группами.



Профиль доминирующих бактериальных семейств в группах

Для анализа альфа-разнообразия микробных сообществ был применен индекс Шеннона (Control – $3,12 \pm 0,8$, Damaged – $3,49 \pm 0,8$). Для статистической оценки различий между группами был проведен тест Вилкоксона, который не выявил статистически значимых различий ($p = 0,7984$). Анализ PCoA был применен для изучения структуры микробных сообществ в обеих группах. Результаты показали, что две основные координаты объясняют суммарно 69,3 % от общей вариабельности данных: ось X (PCo1) отвечает за 57,6 %, ось Y (PCo2) – за 11,7 %. Визуальный анализ графика PCoA не выявляет четкого разделения между группами. Это подтверждается результатами PERMANOVA, которые не показали статистически значимых различий в составе микробных сообществ между группами ($R^2 = 0,00614$, $F = 0,0865$, $p = 0,995$). Такие результаты указывают на высокую степень сходства в составе микробных сообществ в исследуемых группах, несмотря на различия в их состоянии.

Выводы. Проведенное исследование на выборке из 8 пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника выявило различия в составе микробиоты между поврежденными и эндоскопически здоровыми участками толстой кишки. Несмотря на отсутствие статистически значимых различий в альфа- и бета-разнообразии (что может быть связано с малым размером выборки), наблюдались изменения в относительной численности доминирующих бактериальных семейств. Эти результаты подчеркивают необходимость дальнейших исследований с увеличенной выборкой для более глубокого понимания роли микробиома в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника и потенциального использования этих данных в диагностике и лечении.

Литература

1. Alteration of gut microbiota in Inflammatory Bowel Disease (IBD): Cause or consequence IBD treatment targeting the gut microbiome / I. Khan [et al.] // Pathogens. – 2019. – Vol. 8, N 3. – P. 126.

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
Совет молодых ученых

МОЛОДЕЖЬ В НАУКЕ 2024

Тезисы докладов
XXI Международной
научной конференции
молодых ученых
(Минск, 29—31 октября 2024 г.)

В двух частях

Часть 2

Медицинские,
физико-
математические,
физико-технические
науки,
химия
и науки о Земле

Минск
«Беларуская навука»
2024