

# МИКРОБНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЖЕЛУДКА

**Евгений Воропаев,**  
проректор по научной работе  
Гомельского государственного  
медицинского университета,  
кандидат медицинских наук, доцент

**Алексей Зятков,**  
старший научный сотрудник  
научно-исследовательской  
лаборатории Гомельского  
государственного медицинского  
университета

**Алексей Ковалев,**  
инженер-программист отдела  
науки и научно-методической  
информации Гомельского  
государственного медицинского  
университета

**Ольга Осипкина,**  
заведующая научно-  
исследовательской лабораторией  
Гомельского государственного  
медицинского университета

**Александр Шафорост,**  
старший научный сотрудник  
научно-исследовательской  
лаборатории Гомельского  
государственного медицинского  
университета

**Игорь Стома,**  
ректор Гомельского  
государственного медицинского  
университета, доктор медицинских  
наук, академик Российской  
академии естественных наук

УДК 579.61:616.33

**Аннотация.** Представлены предварительные результаты оценки микробного разнообразия при различных заболеваниях желудка с использованием метагенетического подхода. Показаны особенности таксономической структуры микробиомов в нормальных тканях и с наличием выраженных патологических процессов.

**Ключевые слова:** микробиом желудка, метагенетический анализ, ген 16S рРНК, высокопроизводительное секвенирование, биоинформатика.

**Для цитирования:** Воропаев Е., Ковалев А., Шафорост А., Зятков А., Осипкина О., Стома И.

Микробное разнообразие при различных заболеваниях желудка // Наука и инновации. 2022. №8. С. 23–26.  
<https://doi.org/10.29235/1818-9857-2022-8-23-26>

**В** организме человека находится огромное количество микроорганизмов, образующих сложное экологическое сообщество и влияющих на физиологию. Оно описывается как микробиота, а совокупность микроорганизмов, обитающих в различных частях тела человека, определяется как микробиом [1]. Оценить его вклад в развитие различных патологических состояний помогают новые молекулярно-генетические технологии и биоинформатические инструменты [2]. Изменения в видовой структуре микробиома коррелируют с широким спектром заболеваний, включая онкологические [2]. Среди бактерий, характеризующихся выраженным канцерогенным потенциалом, наиболее изучена *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), являющаяся этиологическим агентом широкого спектра заболеваний различных отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [3]. Кроме того, в желудке доминируют роды *Actinomyces*, *Granulicatella*, *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Neisseria*,

*Helicobacter*, *Streptococcus* и *Prevotella*, и их количество значительно различается между *H. pylori*-позитивными и -негативными группами образцов [3]. Таким образом, определение разнообразия микробиома и оценка его роли в развитии патологических состояний желудка, связанных с *H. pylori*, весьма актуальны.

Мы поставили задачу – изучить таксономическое разнообразие микробиоты желудка человека (в белорусской популяции) при различных типах заболеваний с использованием метагенетического подхода. В рамках выполнения НИР «Изучить особенности микробиоты различных биотопов организма человека в норме и при патологических состояниях, оценить ее значение в развитии связанных с ними заболеваний» (№ Государственной регистрации 20220463 от 07.04.2022 ГПНИ «Трансляционная медицина») проводились изыскания на базе научно-исследовательской лаборатории Гомельского государственного медицинского университета с участием 57 пациентов, находившихся на обследовании

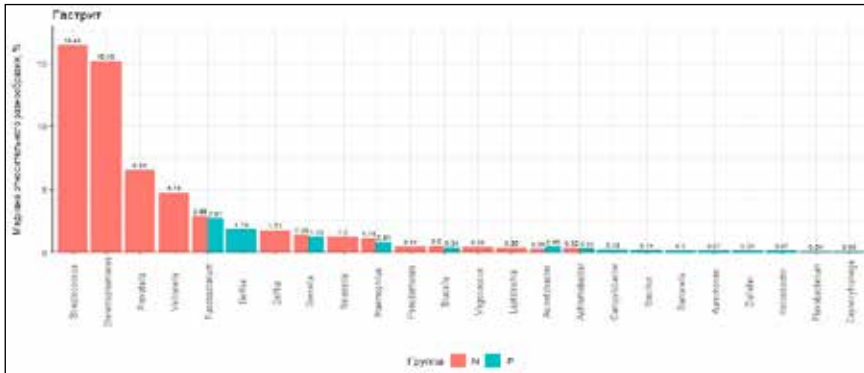


Рис. 1. Наиболее часто встречаемые бактерии в составе микробиома желудка у пациентов с диагнозом «гастрит» на уровне рода в неизмененной (N) и патологически измененной (P) тканях желудка

и лечения в Гомельском областном клиническом онкологическом диспансере и Гомельской городской больнице №4 в 2019–2022 гг.

Дизайн исследования предполагал изучение разнообразия бактерий в микробиоме желудка у пациентов с различными заболеваниями согласно международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10): гастрит и дуоденит (K29) (12 пациентов); болезни желудка и двенадцатиперстной кишки (K25-K28), другие болезни желудка и двенадцатиперстной кишки (K31) («язвенная болезнь желудка») (20 пациентов); злокачественное новообразование желудка (C16-C16.9) (25 пациентов) без разбивки по полу и возрасту. Все они дали письменное согласие на участие в исследовании. Для его проведения применяли биопсийный материал желудка, полученный при плановой гастроскопии, а также при выполнении плановых оперативных вмешательств (биоптаты объемом до 5 мм<sup>3</sup> из участка с патологически измененными (P) и не измененными клетками желудка (N)

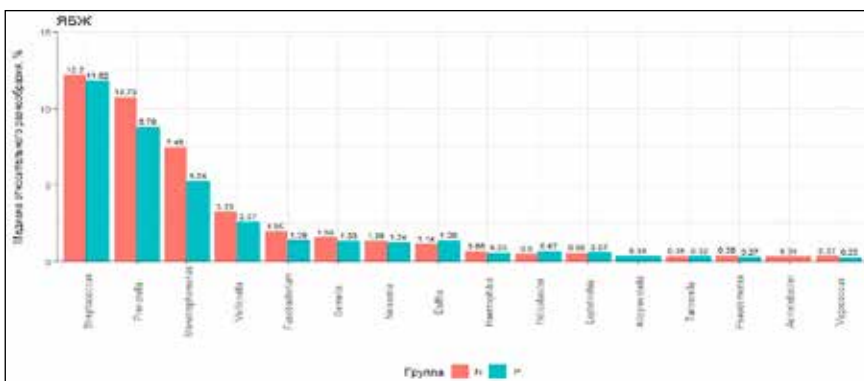


Рис. 2. Наиболее часто встречаемые бактерии в составе микробиома желудка у пациентов с диагнозом «язвенная болезнь желудка» на уровне рода в неизмененной (N) и патологически измененной (P) тканях желудка

для каждого пациента). Высокопроизводительное секвенирование осуществлялось на генетическом анализаторе MiSeq (Illumina, США) с использованием протокола, основанного на анализе переменных регионов гена 16s рРНК. Полученные данные обработаны с помощью программного обеспечения BaseSpace Sequence Hub (Illumina, США), приложение 16S Metagenomics и DRAGEN Metagenomics (алгоритм Kraken2). Удаление последовательностей праймеров производилось на базе сервиса Preprocess

16S (<https://github.com/masikol/preprocess16S>), низкокачественных прочтений – Trimmomatic. Статистические показатели рассчитывали с использованием среды программирования для статистической обработки данных R: version 4.1.1[4], пакеты Phyloseq 1.36.0, Ggstatsplot\_0.9.1, Tidyverse\_1.3.1. Несвязанные группы сопоставлялись при помощи критерия Краскела-Уоллиса с последующим апостериорным попарным сравнением в качестве метода контроля ожидаемой доли ложных отклонений.

При анализе микробиомов для всех групп пациентов устанавливалось общее количество родов микроорганизмов, оценивались медианные значения относительного количества определенного таксона в соответствующей группе на уровне рода как наиболее информативного показателя, используемого при оценке микробиомов.

При анализе микробиомов участников с диагнозом «гастрит» было идентифицировано 1496 родов микроорганизмов, из которых были относительно распространены 15 наиболее высоко представленных таксономических единиц (рис. 1).

При анализе микробиомов пациентов с диагнозом «язвенная болезнь желудка» было определено 1592 рода микроорганизмов, из которых на рис. 2 показана относительная распространенность 15 наиболее представленных.

У пациентов с диагнозом «рак желудка» был определен 1651 род микроорганизмов, из которых на рис. 3 представлены 15 наиболее распространенных.

У пациентов с диагнозом «рак желудка» был определен 1651 род микроорганизмов, из которых на рис. 3 представлены 15 наиболее распространенных.

Как видно из медианных значений относительного количества определенного таксона в соответствующей группе, наиболее часто (во всех 6 анализируемых микробиомах) встречаются роды *Fusobacterium* (0,29–2,89%), *Delftia* (1,14–2,64%), *Gemella* (0,23–1,56%). Род *Fusobacterium* представлен анаэробными бактериями, входящими в состав нормального микробиома верхних дыхательных путей, ЖКТ и половых путей. Они довольно редко вызывают бактериемию (0,55 случаев / 100 тыс. населения) [5].

*F. nucleatum* является доминирующим видом в сообществе бактерий зубного налета. Грамотрицательные бактерии рода *Delftia* обитают в почве и воде и крайне редко становятся причиной развития заболеваний у человека [6]. В литературе описаны отдельные случаи пневмонии, вызванные *Delftia acidovorans* и *D. tsuruhatensis* у пациентов с ослабленным иммунитетом [6]. Грамположительные и грамотрицательные бактерии рода *Gemella* обитают в слизистых оболочках ротовой полости и верхних отделах ЖКТ. *Gemella morbillorum* редко встречается у человека, однако способна вызывать такие воспалительные заболевания, как менингит, эндокардит, нефрит и абсцесс печени [7]. Среди бактериальных родов, встречающихся в 5 из 6 микробиомах, доминируют *Acinetobacter* (0,13–0,45%), *Prevotella* (0,57–10,73%), *Pseudomonas* (0,27–0,75%), *Streptococcus* (1,97–16,45%), *Stenotrophomonas* (5,24–19,41%) и *Veillonella* (0,2–4,74%). Представители рода *Acinetobacter* довольно широко распространены и у человека чаще всего встречаются на коже и в кишечнике. Они представляют большой интерес как возбудители внутрибольничных инфекций (*A. baumannii*) с множественной лекарственной устойчивостью [8]. Также показано, что на фоне пребывания в учреждениях здравоохранения может развиваться хронический гастрит в результате размножения *A. lwoffii* и *H. pylori* [8]. Бактерии рода *Prevotella* – это более 50 видов, которые выделены из ротовой полости, кишечника, половых и дыхательных путей. *P. intermedia*, *P. bivia*, *P. nigrescens* и *P. melaninogenica* наиболее часто становятся причиной развития инфекционных процессов ротовой полости, бактериального вагиноза (*P. bivia* совместно с *Gardnerella vaginalis*), инфекций кишечника (*Prevotella intestinalis* и *Prevotella rodentium*) и воспалительных процессов иной

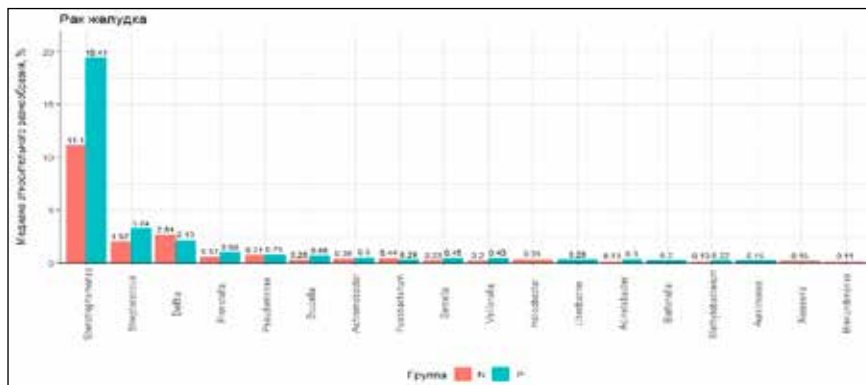


Рис. 3. Наиболее часто встречаемые бактерии в составе микробиома желудка у пациентов с диагнозом «рак желудка» на уровне рода в неизменной (N) и патологически измененной (P) тканях желудка

локализации [9]. *Pseudomonas spp.* выделяются из почвы, воды и растительности, а также обнаруживаются в образцах кожи, горла и стула здоровых людей и выступают возбудителями оппортунистических инфекций (80% *Pseudomonas aeruginosa* и *P. maltophilia*) [10]. Род *Streptococcus* объединяет более 50 видов бактерий, являющихся частью нормальной микрофлоры различных отделов пищеварительного тракта, дыхательных и мочеполовых путей. Стрептококки группы А вызывают фарингит, скарлатину, инфекции кожи и мягких тканей и синдром стрептококкового токсического шока [11]. Среди бактерий рода *Stenotrophomonas* выделяется обладающий множественной лекарственной устойчивостью *S. Maltophilia*, из-за которого часто развиваются внутрибольничные инфекции и могут появляться злокачественные образования. Представители рода *Veillonella* входят в состав нормальной микрофлоры различных отделов ЖКТ. При доминировании *H. pylori* наблюдается снижение доли *Veillonella spp.* в составе микробиома желудка [12].

Род *Helicobacter* (0,07–0,67%), как и *Brucella* (0,28–0,66%), *Neisseria* (0,15–1,36%), *Haemophilus* (0,55–1,14%) встречается в четырех микробиомах, остальные таксоны отмечаются реже. Согласно литературным и полученным экспериментальным данным, *H. pylori* является причиной гастрита, язвы 12-перстной кишки и фактором, повышающим риск развития злокачественных образований желудка [12]. Род *Brucella* объединяет виды, которые выступают возбудителями бруцеллеза у многих млекопитающих, включая человека. Описаны случаи гастроэнтерита, вызванные бактериями *Brucella* [13]. Наиболее известны 2 вида бактерий рода *Neisseria*: *N. gonorrhoeae* и *N. Meningitidis* – возбудители гонореи и менингита соответственно, но большая часть представителей

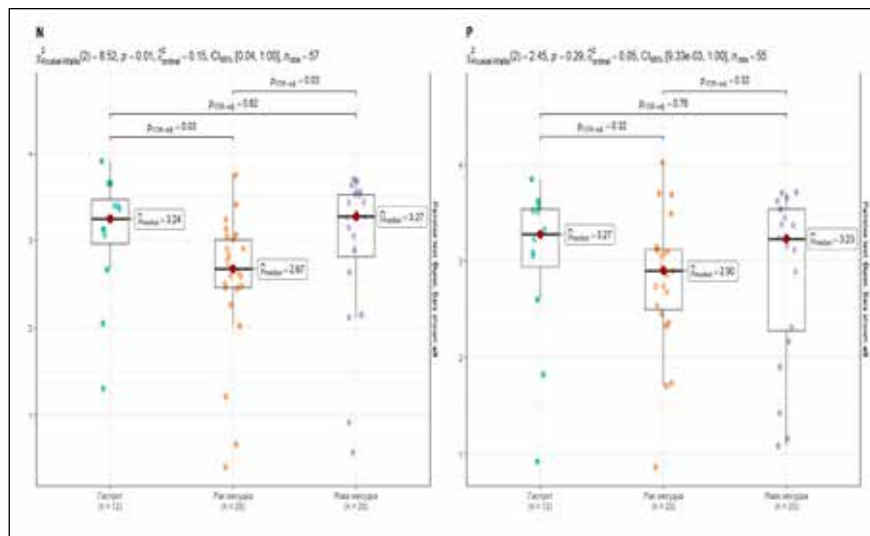


Рис. 4. Альфа-разнообразие микробиомов

этого рода в норме колонизируют различные слизистые оболочки [14]. Бактерии рода *Haemophilus* входят в состав нормальной микрофлоры верхних дыхательных путей, при этом один из доминирующих видов – *H. influenzae*. В литературе описаны случаи бактериального гастроэнтерита, вызванного *H. parainfluenzae* [15].

Далее был проведен анализ альфа-разнообразия с использованием индекса Шеннона по здоровым и патологически измененным тканям желудка (рис. 4).

Как видно из данных, представленных на рис. 4, значимые отличия выявлены при сравнении микробиоты, полученной из неизмененных (N) тканей желудка пациентов с диагнозами «гастрит» и «рак желудка» (pFDR-adj = 0,03) и диагнозами «рак желудка» и «язва желудка» (pFDR-adj = 0,03), при сравнении микробиоты, полученной из патологически измененных (P) тканей желудка, значимых отличий установлено не было.

На основании метагенетического подхода проведена оценка микробного разнообразия при различных заболеваниях желудка. Установленные отличия в микробиоте неизмененных и патологически измененных его тканях позволяют оценить разнообразие микроорганизмов при патологиях, что способствует разработке новых стратегий медицинской профилактики, диагностики и лечения указанных заболеваний. ■

■ **Summary.** The article presents the preliminary results of the evaluation of microbial diversity in various gastric diseases using metagenetic approach. The features of the taxonomic structure of microbiomes in normal tissues and with the presence of marked pathological processes are shown.

■ **Keywords:** gastric microbiome, metagenetic analysis, 16S rRNA gene, next generation sequencing, bioinformatics.

■ <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2022-8-23-26>

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. L. Proctor. Priorities for the next 10 years of human microbiome research // *Nature*. 2019. Vol. 569. P. 623–625. <https://doi.org/10.1038/d41586-019-01654-0>.
2. Стома И.О. Микробиом в медицине: рук-во для врачей / И.О. Стома. – М., 2020.
3. The Human Gastric Microbiome Is Predicated upon Infection with *Helicobacter pylori* / I. Klymiuk [et al.] // *Front. Microbiol.* 2017. Vol. 8:2508. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02508>
4. P.J. McMurdie. Phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data / P.J. McMurdie, S. Holmes // *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8, №4: e61217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>.
5. Incidence, risk factors, and outcomes of *Fusobacterium species bacteremia* / K. Afra [et al.] // *BMC Infectious Diseases*. 2013. Vol. 13, №1:264. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-264>.
6. *Delftia tsuruhatensis*, an Emergent Opportunistic Healthcare-Associated Pathogen / A. Ranc [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* 2018. Vol. 24, №3. P. 594–596. <https://doi.org/10.3201/eid2403.160939>.
7. Borro P. Pyogenic liver abscess caused by *Gemella morbillorum* / P. Borro, A. Sumberaz, G. Testino // *Colomb Med (Cali)*. 2014. Vol. 45, №2. P. 81–84.
8. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options / C.-R. Lee [et al.] // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017. Vol. 7:55. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00055>.
9. *Prevotella* diversity, niches and interactions with the human host / A. Tett [et al.] // *Nat. Rev. Microbiol.* 2021. Vol. 19, №9. P. 585–599. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00559-y>.
10. Iglewski B.H. *Pseudomonas* / B.H. Iglewski // *Medical Microbiology*. – 4nd ed. – Galveston: University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996. Chapter 27 // <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8326/>.
11. Significance of group A streptococcal infections in human pathology / D. Cvjetković [et al.] // *Med. Pregl.* 2008. Vol. 61, №9–10. P. 529–532.
12. L. Engstrand. The Microbiome and Gastric Cancer / L. Engstrand, D.Y. Graham // *Dig. Dis. Sci.* 2020. Vol. 65, №3. P. 865–873. <https://doi.org/10.1007/s10620-020-06101-z>.
13. Pathogenesis and Immunobiology of Brucellosis / P. de Figueiredo [et al.] // *Am.J. Pathol.* 2015. Vol. 185, №6. P. 1505–1517. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.03.003>.
14. M. V. Humbert. Atypical, Yet Not Infrequent, Infections with *Neisseria* Species / M.V. Humbert, M. Christodoulides // *Pathogens*. 2019. Vol. 9, №1:10. <https://doi.org/10.3390/pathogens9010010>.
15. M. Olivart. Acute gastroenteritis and *Haemophilus parainfluenzae*: An unreported but predictable association / M. Olivart, E. Galera, M. Falguera // *Gastroenterol. Hepatol.* 2017. Vol. 40, №1. P. 23–24. <https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2015.10.010>.

Статья поступила в редакцию: 06.07.2022