

mgr Marta Maria Grochowska

Streszczenie

Tytuł: Badanie mikrobioty jelita u ludzi oraz u szczurów przy użyciu sekwencjonowania następnej generacji (next-generation sequencing) wspartych analizą metagenomiczną

Słowa kluczowe: sekwencjonowanie następnej generacji, metagenomika, mikrobiota, mikrobiota jelitowa, dysbioza, zespół jelita nieszczelnego

Na przestrzeni ostatnich lat badanie mikrobioty jelitowej i osi jelitowo-mózgowej stanowi dynamicznie rozwijającą się dziedzinę nauki koncentrującą się na poznaniu ich roli fizjologicznej, jak również znaczenia w możliwej patogenezie wielu chorób. Istnieją obserwacje wskazujące na wpływ mikrobioty jelitowej na występowanie oraz efekty leczenia licznych schorzeń. Badania te stały się możliwe dzięki rozwojowi sekwencjonowania następnej generacji (NGS), które zrewolucjonizowało techniki mikrobiologiczne.

Skład mikrobioty jelitowej (tj. występowanie lub brak konkretnych gatunków, oraz ich zmiany ilościowe - zjawisko dysbiozy) może się wiązać m.in. z zespołem jelita nieszczelnego (LGS), czyli przenikaniem do krwioobiegu niebezpiecznych metabolitów i nieprawidłowym uwalnianiem związków biologicznie aktywnych. Zmiany mikrobioty jelitowej mają również związek z występowaniem szeregu zaburzeń, np. stanów zapalnych jelita, zespołów autoimmunologicznych, alergii, chorób skóry, autyzmu, depresji, czy też chorób neurodegeneracyjnych.

W artykułach przeglądowych szeroko omówiono tematykę znaczenia mikrobioty jelitowej w przebiegu zaburzeń psychicznych (The gut microbiota in neuropsychiatric disorders, *Acta Neurobiologiae Experimentalis*. 2018, 78(2): 69-81), neurologicznych (Gut microbiota in neurological disorders, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. 2019, 67(6): 375-383) oraz nowotworowych układu pokarmowego (The role of gut microbiota in gastrointestinal tract cancers, *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. 2022, 3;70(1):7).

NGS oraz analizę metagenomiczną wykorzystałam w trakcie badania poświęconego autoimmunologicznemu zapaleniu mózgu (Search for viral infections in cerebrospinal fluid from patients with autoimmune encephalitis, *Open Forum Infectious Diseases*, 2020, 7 (11):

1-16). W powyższym artykule autoimmunologiczne zapalenie mózgu zidentyfikowano u 4% pacjentów (8/200) hospitalizowanych z powodu zapalenia mózgu, zaś dzięki analizie metagenomicznej oraz real-time PCR wykryliśmy w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) u trzech z tychże pacjentów dodatkowo obecność wirusa opryszczki pospolitej (HSV), wirusa *Torque teno* (TTV) oraz jednego z przedstawicieli rodzaju Enterovirus.

Zdobyte umiejętności wykorzystałam do zaplanowania i zrealizowania badania mikrobioty jelitowej u pacjentów z zapaleniem mózgu (Patients with infections of the Central Nervous System have lowered gut microbiota alpha diversity, *Curr. Issues Mol. Biol.* 2022, 44(7), 2903-2914). Pomimo dużej liczby analiz przeprowadzonych z udziałem pacjentów z różnymi zaburzeniami neurologicznymi, mikrobiom jelitowy nie był wcześniej badany w neuroinfekcjach. Przeanalizowaliśmy skład mikrobioty jelitowej u 47 osób hospitalizowanych z powodu neuroinfekcji (26 pacjentów z wirusowym zapaleniem mózgu/zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych; ośmiu pacjentów z bakteryjnym zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych) oraz w 20-osobowej kontroli. Zauważyliśmy kilka różnic pomiędzy analizowanymi grupami, w tym zmniejszenie reprezentacji *Clostridium*, *Anaerostipes*, *Lachnobacterium*, *Lachnospira* i *Roseburia* w grupie badanej w porównaniu z kontrolą. Ponadto, wskaźniki zmienności gatunkowej „alpha-diversity” wykazały niższą różnorodność gatunkową u pacjentów z neuroinfekcjami niż u osób zdrowych.

W ramach współpracy z prof. dr hab. n. med. Marcinem Ufnalem (kierownikiem Zakładu Fizjologii i Patofizjologii Eksperymentalnej Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego) miałam okazję uczestniczyć w trzech projektach badających wpływ mikrobioty jelitowej na przebieg chorób kardiologicznych, których wyniki są opublikowane w artykułach będących poza moim cyklem naukowym przedstawionym w postępowaniu doktorskim.

W pierwszym badaniu (Enalapril decreases rat plasma concentration of TMAO, a gut bacteria-derived cardiovascular marker, *Biomarkers*, 2018, 23(4): 380-385) udowodniliśmy, że Enalapril zmniejsza poziom N-tlenku trimetyloaminy (TMAO) w osoczu szczurów jednocześnie bez zauważalnych zmian stężenia siarczanu indoksyłu w osoczu oraz składu bakterii jelitowych. Drugie badanie (High salt intake increases plasma trimethylamine Noxide (TMAO) concentration and produces gut dysbiosis in rats, *Nutrition*, 2018, 54: 33-39) wykazało, że szczury na diecie izotonicznej i hipertonicznej wykazywały wyższe stężenie TMAO w osoczu oraz niższe wydalanie TMAO w dobowej zbiorce moczu niż kontrolę pojone wodą. Ponadto, istniała istotna różnica między grupami w składzie bakterii jelitowych m.in. w rodzajach: *Akkermansia*, *Proteus*, *Corynebacterium*, *Lachnospira*, *Staphylococcus*, *Actinomyces*, *Helicobacter*, *Streptococcus*, *Acinetobacter*, *Rothia*, *Aerococcus*, *Prevotella*.

Z kolei trzecie badanie (Trimethylamine but not trimethylamine oxide increases with age in rat plasma and affects smooth muscle cells viability, *Journals of Gerontology Series A – Biological Sciences and Medical Sciences*, 2020, 75(7): 1276-1283) wykazało, iż 18-miesięczne szczury (samce Sprague-Dawley i Wistar-Kyoto) miały inny skład bakterii jelitowych, oraz wyższą przenikalność trimetyloaminy (TMA) z jelita do krwi, jak również zmiany morfologiczne i hemodynamiczne w jelitach w porównaniu do 3-miesięcznych szczurów. Na podstawie naszych eksperymentów zaproponowano, aby TMA był markerem ryzyka powikłań sercowo-naczyniowych.