

УДК 579.61

СОСТАВ БАКТЕРИАЛЬНОГО МИКРОБИОМА МОКРОТЫ У ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ ЛЕГКОГО И ЕГО СВЯЗЬ С ХРОСОСОМНЫМИ АБЕРРАЦИЯМИ В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ

Баранова Е.Д. (ФГБОУ ВО Кемеровский государственный университет)

Научный руководитель – д.б.н., профессор Дружинин В.Г.

(ФГБОУ ВО Кемеровский государственный университет)

Изучен состав микробиоты у больных раком легкого и здоровых доноров. В мокроте больных раком легкого по сравнению с контрольными донорами значимо увеличено содержание родов *Streptococcus*, *Bacillus*, *Gemella*, *Haemophilus* и вида *Streptococcus agalactiae*. Установлена достоверная взаимосвязь между частой хромосомных aberrаций и содержанием в мокроте рода *Bacteroides* и вида *Bacteroides nordii*.

Введение.

Рак легкого (РЛ) - самое распространенное злокачественное новообразование и основная причина смертности от онкологии в мире. В частности, в России смертность от рака легких у мужчин составляет около трети смертей от всех злокачественных опухолей. Примерно 80% случаев РЛ связаны с воздействием табака, но только у 15% курильщиков в течение жизни развивается РЛ. Нестабильность генома считается одним из фундаментальных признаков злокачественной трансформации. Можно предположить, что свой вклад в развитие рака легких может вносить бактериальный микробиом, в состав которого могут входить микроорганизмы, потенциально обладающие генотоксическими свойствами. Последние исследования в этой области показали, что помимо генотоксинов существуют и другие бактериальные эффекторы повреждений ДНК. В этих случаях мутагенез в клетках организма-хозяина связан с оксидативным стрессом либо иммунной модуляцией клеток организма-хозяина. Подобные генотоксические механизмы описаны для *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Shigella flexneri*, *Bacteroides fragilis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Listeria monocytogenes*, *Chlamydia trachomatis* и некоторых других. На базе этого можно предположить, что процессы индуцированного мутагенеза и канцерогенеза тесно взаимосвязаны с состоянием микробиоты. Понимание причин и механизмов бактериального канцерогенеза в конкретном органе, вероятно, в ближайшем будущем сделает реальностью использование в медицинской практике учета состава бактериальной микрофлоры для прогнозирования онкологических заболеваний.

Целью этого исследования является определение потенциальных таксономических биомаркеров локализуемых из мокроты, ассоциированных с раком легкого и повышенным уровнем повреждения ДНК

Основная часть.

Состав бактериального микробиома мокроты изучен у 66 пациентов с первично диагностированным РЛ (только мужчины, средний возраст $59,4 \pm 7,8$ года) госпитализированных в Кемеровский областной онкологический диспансер (Кемерово, Российская Федерация) и 62 здоровых донора, проживающих на территории Кемеровской области (только мужчины, средний возраст $50,2 \pm 6,6$ года). Среди обследуемых групп активными курильщиками были 68% из группы больных РЛ и 50% среди контрольных доноров. На каждого участника исследования были заполнены карты информационного согласия участия в проекте. Также на каждого участника была заполнена анкета, содержащая данные о дате последнего рентгенологического обследования, приеме лекарств, профессии и стаже работе, хронических заболеваниях, статусе курения. Для пациентов с РЛ был установлен клинический и патогистологический статус. Все процедуры соответствовали этическим стандартам Хельсинкской декла-

рации 1964 г., с поправками 2008 г. всемирной медицинской ассоциации. Дизайн исследования был одобрен этическим комитетом Кемеровского государственного университета.

Для определения уровня повреждения ДНК в соматических клетках были изучены частоты хромосомных aberrаций (ХА) в лимфоцитах периферической крови, у тех же групп пациентов с РЛ и контроля, у которых анализировали микробиом мокроты. Метафазные пластинки были приготовлены с использованием стандартного полумикрометода. Выделение бактериальной ДНК происходило с использованием наборов FastDNA® SPIN Kit for Soil (МРВИО, США), подготовка бактериальной ДНК к секвенированию проходила согласно протоколу 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation (Part #15044223 Rev. B), рекомендованному Illumina для секвенатора MiSeq.

Выводы.

В мокроте пациентов с РЛ, по сравнению с контролем, наблюдалось статистически достоверное увеличение численности родов *Streptococcus* ($36,43 \pm 21,97$ против $17,81 \pm 8,82$; $p = 0,00001$); *Bacillus* ($2,92 \pm 2,57$ против $1,8 \pm 1,93$; $p = 0,007$); *Gemella* ($2,94 \pm 2,54$ против $1,85 \pm 1,98$; $p = 0,006$) и *Haemophilus* ($1,27 \pm 8,07$ против $0,11 \pm 0,36$; $p = 0,006$). На видовом уровне значимо увеличено представительство *Streptococcus agalactiae* ($35,64 \pm 22,35$ против $17,48 \pm 8,65$; $p = 0,00001$) в мокроте пациентов с РЛ по сравнению с контролем.

Подгруппа больных РЛ с низким фоновым уровнем ХА (0–3%; среднее значение $2,15 \pm 0,92\%$) составили 27 мужчин, а подгруппу с высоким уровнем ХА (более 3,5%; среднее значение $5,46 \pm 2,31\%$) составили 39 мужчин. В микробиоме пациентов с РЛ с высоким уровнем ХА отмечена более высокая численность: *Bacteroides nordii* ($1,45 \pm 1,87$ против $0,68 \pm 1,36$; $p = 0,009$); *Lachnoanaerobaculum orale* ($0,49 \pm 0,56$ против $0,28 \pm 0,65$; $p = 0,02$); *Porphyromonas endodontalis* ($0,32 \pm 0,51$ против $0,04 \pm 0,12$; $p = 0,003$); *Mycoplasma zalophi* ($0,12 \pm 0,26$ против $0,01 \pm 0,06$; $p = 0,0009$); *Prevotella intermedia* ($0,21 \pm 0,4$ против $0,03 \pm 0,17$; $p = 0,006$); *Prevotella histicola F0411* ($1,98 \pm 2,82$ против $0,57 \pm 1,19$; $p = 0,003$); *Campylobacter rectus* ($0,24 \pm 0,38$ против $0,06 \pm 0,16$; $p = 0,01$), чем у пациентов с РЛ с низким уровнем ХА. Последующий корреляционный анализ показал, что только род *Bacteroides* и вид *Bacteroides nordii* были достоверно связаны с частотой ХА.

Результаты исследования, в случае успешной валидации, могут послужить основанием для разработки нового протокола для выявления маркерных бактерий в мокроте на основе цифровой капельной ПЦР. Внедрение этого протокола в практическую медицину позволит учитывать состав бактериальной микрофлоры при прогнозировании и профилактики рака легких для людей, относящихся к группе риска.