

Analiza mikrobiomu u dzieci nowo rozpoznaną nieswoistą chorobą zapalną jelit

Katarzyna Zdanowicz ¹, Aleksandra Filimoniuk ¹, Agnieszka Błachnio-Zabielska ², Michał Ciborowski ³, Dariusz Lebensztejn ¹, Urszula Daniluk ¹

¹ Klinika Pediatrii, Gastroenterologii, Hepatologii, Żywienia i Alergologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

² Zakład Higieny, Epidemiologii i Zaburzeń Metabolicznych, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

³ Centrum Badań Klinicznych, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Wstęp:

Częstsze występowanie nieswoistych chorób zapalnych jelit (NChZJ) jest obserwowane zarówno wśród dzieci jak i dorosłych. Jednym z prawdopodobnych czynników wpływających na wystąpienie choroby jest mikrobiom jelitowy.

Cel oraz Metody:

Celem badania było określenie składu mikrobiomu w próbkach kału u 20 dzieci z nowo rozpoznanym NChZJ oraz porównanie go z mikrobiomem 10 dzieci zdrowych (Ctr), a także analiza związku pomiędzy mikrobiomem a aktywnością NChZJ i wybranymi markerami zapalenia, metabolitami i lipidami oznaczonymi w surowicy. Identyfikacja szczepów bakteryjnych została przeprowadzona przy pomocy analizy sekwencji genów kodujących regiony zmienne 16S RNA. Profil metabolitów znajdujących się w surowicy był mierzony przy pomocy chromatografu cieczonego sprzężonego z czułym detektorem masowym, a stężenie lipidów przy pomocy ultra wysokosprawnej chromatografii sprzężonej z tandemowym spektrometrem mas typu potrójny kwadrupol.

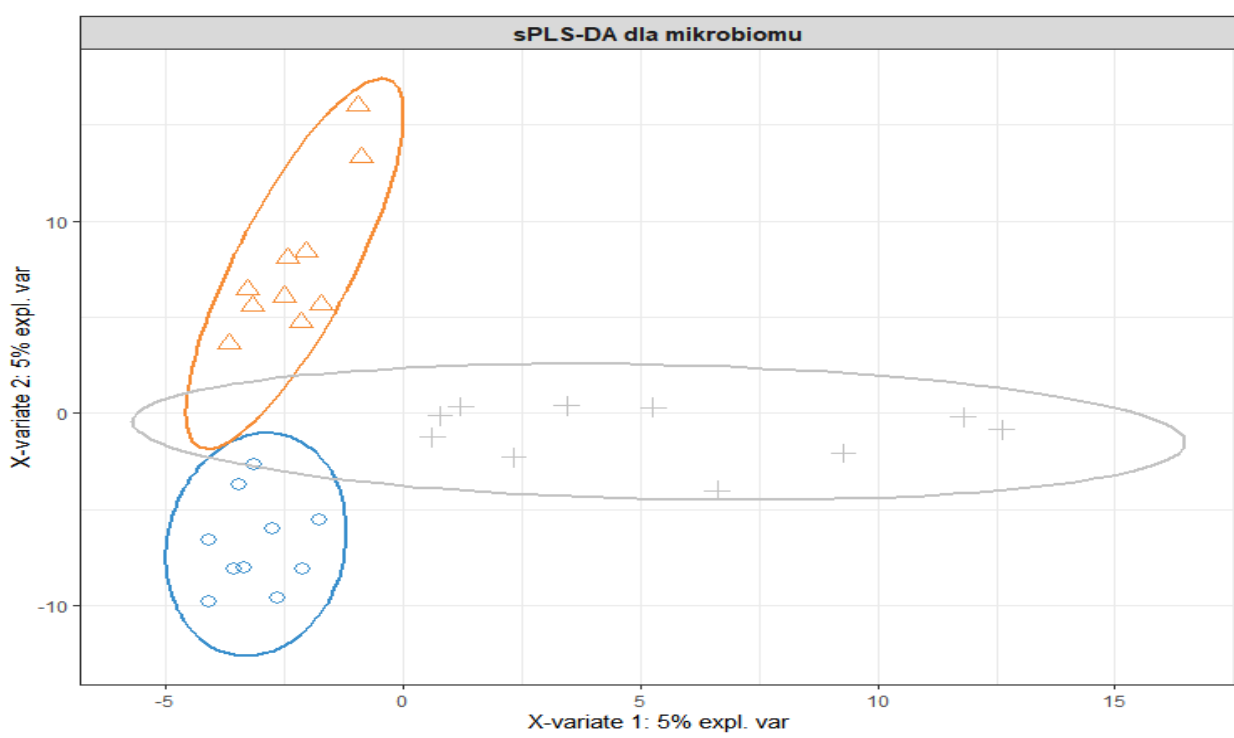
Wyniki:

Dane demograficzne oraz kliniczne pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego (UC), chorobą Leśniowskiego-Crohna (CD) oraz Ctr zostały przedstawione w Tabeli 1. W badaniu stwierdziliśmy istotne różnice w występowaniu przedstawicieli 25 rodzin, 52 rodzajów i 79 gatunków bakterii między pacjentami z NChZJ a Ctr. Stwierdzono istotnie więcej materiału genetycznego 17 gatunków bakterii w grupie NChZJ, zaś 62 gatunków w Ctr, przy czym 5 gatunków wykryto tylko w grupie z NChZJ (*Bacteroides clarus*, *Haemophilus quentini*, *Sporolactobacillus putidus*, *Pasteurella pneumotropica*, *Prevotella oris*), a 13 gatunków tylko w Ctr. Wykorzystując metodę sPLS-DA dla mikrobiomu stwierdzono separację grup dzieci z UC, CD oraz Ctr (Rycina 1). Analiza korelacji między ilością materiału genetycznego bakterii przeważających w NChZJ oraz metabolitami i lipidami wykazała 26 istotnych dodatnich korelacji (9 z markerami zapalenia, 3 z metabolitami i 14 z lipidami) i 46 istotnych ujemnych korelacji (9 z markerami zapalenia, 10 z metabolitami i 27 z lipidami) (Rycina 2). Nie stwierdzono różnic w ilości materiału genetycznego bakterii w zależności od aktywności NChZJ.

	Ctr	UC	p UC vs Ctr	CD	p CD vs Ctr
Liczba pacjentów	10	10	-	10	-
Wiek (mediana, lata)	12.5 (10-16)	13.5 (8-16)	NS	14 (8-16)	NS
Płeć (mężczyźni)	5	4	-	4	-
OB (mm/h); mediana (zakres)	3 (2-9)	8 (5-38)	0.02	41 (8-68)	0.00009
CRP (mg/l); mediana (zakres)	0.35 (0.1-1.7)	3 (0.45-11.9)	0.001	33 (8.1-156)	0.00002
WBC (10 ³ /μl); mediana (zakres)	6.1 (1.7-7.9)	8.23 (5.7-18.9)	0.04	8.3 (6.1-13.8)	0.008
PLT (10 ³ /μl); mediana (zakres)	248 (206-417)	287 (234-506)	NS	412 (210-543)	0.02
Ferytyna (ng/ml); mediana (zakres)	34 (24.3-47.3)	35.2 (5.7-113.8)	NS	42.2 (5.3-170.6)	NS
Albumina (g/dl); mediana (zakres)	4.8 (4.2-5.5)	4.53 (2.78-4.91)	NS	4.2 (3.2-4.8)	0.002
FC (μg/g); mediana (zakres)	14.9 (4.8-51.6)	1799 (415-2673)	0.00002	1989 (522-2607)	0.00002

Tabela 1 Dane demograficzne oraz kliniczne pacjentów z UC, CD i Ctr. Analiza statystyczna wykonana metodą Manna-Whitney'a. Istotna statystycznie wartość p<0.05.

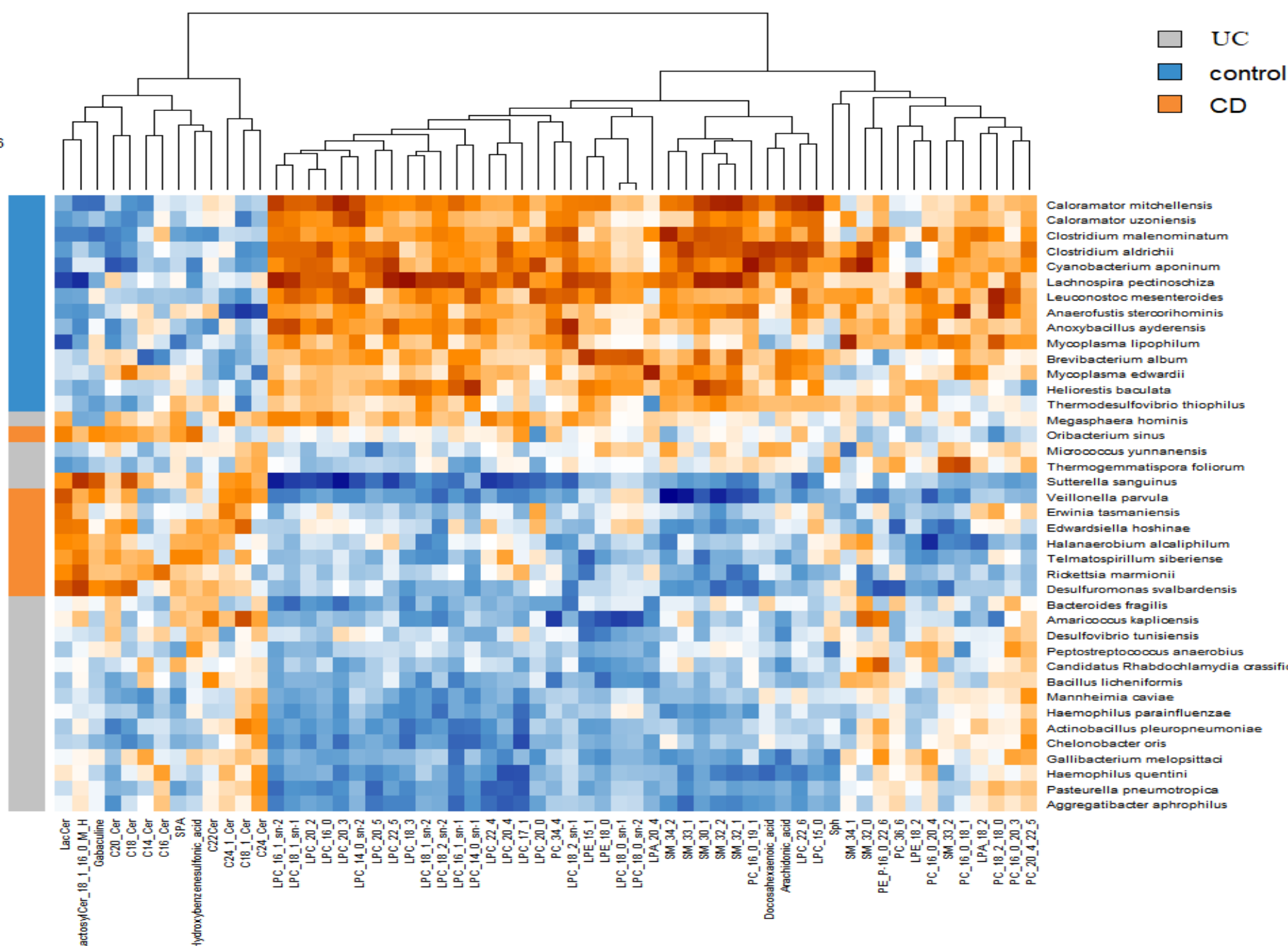
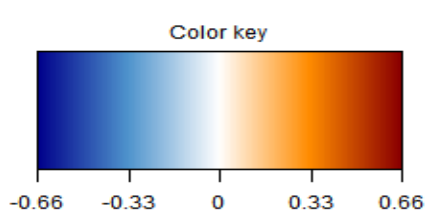
OB.-odczyn Biernackiego, CRP-białko C-reaktywne, WBC-leukocyty, PLT-płytki krwi, FC-kalprotektyna w kale



Rycina 1. Analiza sPLS-DA dla mikrobiomu.

W skład czynnika 1 o największym ładunku różnicującym grupę dzieci z UC wchodzi: *Pasteurella pneumotropica*, *Haemophilus quentini*.

W skład czynnika 2 o największym ładunku różnicującym grupę dzieci z CD wchodzi: *Rickettsia marmionii* i *Desulfuromonas svalbardensis* oraz różnicującym dzieci zdrowe wchodzi: *Anoxybacillus ayderensis* i *Lachnospira pactinoschiza*.



Rycina 2. Heatmapa przedstawiająca korelacje pomiędzy wybranymi gatunkami bakterii oraz metabolitami i lipidami.

Wnioski:

Pacjenci z NChZJ oraz zdrowe dzieci mają odmienne profile mikrobiomu jelitowego. Zaobserwowano istotne różnice w występowaniu poszczególnych gatunków bakterii, lipidów i metabolitów w grupie badanej oraz kontrolnej. Istnieje potrzeba dalszych badań mogących ocenić przydatność nieinwazyjnych markerów w przewidywaniu wystąpienia NChZJ u dzieci.