



UNIWERSYTET MEDYCZNY W ŁODZI
Oddział Nauk Biomedycznych Wydziału Lekarskiego

*Znaczenie wybranych rodzajów i gatunków mikrobioty jelitowej
w rozwoju astmy oskrzelowej*

mgr Arkadiusz Hoffmann

Praca doktorska wykonana pod kierunkiem
Prof. dr hab. n. med. Rafała Pawliczaka
w Zakładzie Immunopatologii
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Łódź, 2022

Streszczenie

Wstęp

Astma jest jedną z najczęstszych przewlekłych chorób układu oddechowego, która niesie ze sobą poważne konsekwencje zdrowotne dla dzieci i dorosłych. Na całym świecie na astmę choruje około 300 milionów osób, a jeśli obecny trend się nie zmieni, tylko do 2025 roku zachoruje kolejnych 100 milionów. W przypadku astmy oskrzelowej trudno jest zidentyfikować jedną najważniejszą przyczynę choroby i najczęściej jako powód przyjmuje się cały zespół czynników środowiskowych oraz genetycznych a także specyficznych interakcji między nimi. Po raz pierwszy zdecydowano się na zbadanie związku pomiędzy mikrobiomem a alergią przy okazji powstania tak zwanej „hipotezy higienicznej”, która sugeruje, że ekspozycja w dzieciństwie na poszczególne mikroorganizmy przyczynia się do rozwoju naszego układu odpornościowego. Organizm człowieka jest skolonizowany przez ogromną liczbę wysoce przystosowanych drobnoustrojów. Skład i różnorodność mikrobiomu zmienia się w zależności od miejsca występowania, co skutkuje powstaniem szeregu unikalnych nisz w obrębie naszego organizmu, takich jak mikrobiom przewodu pokarmowego, dróg oddechowych, jamy ustnej, jamy nosowej, uszu, pochwy, włosów oraz skóry. Szacuje się, że liczba mikroorganizmów stanowiących mikrobiotę jest nawet 10-krotnie większa niż liczba komórek ludzkiego organizmu i wynosi około 10^{14} . Co więcej, całkowita liczba genów wschodzących w skład mikrobiomu jest szacowana na około 3–5 milionów, co oznacza, że przekracza liczbę genów naszego organizmu nawet 150-krotnie. Najbardziej zróżnicowany oraz najliczniejszy jest mikrobiom układu pokarmowego i dlatego poświęca się mu najwięcej uwagi.

Cel pracy

Celem pracy była szczegółowa analiza wzorców mikrobioty jelitowej u pacjentów chorych na astmę w porównaniu ze zdrową grupą kontrolną. Wyniki uzyskane w badaniu mogą także pomóc w określeniu wpływu wybranych bakterii jelitowych na powstawanie i rozwój astmy oskrzelowej a także ocenie czy terapie oparte na drobnoustrojach mogą być potencjalnie stosowane w przyszłości w profilaktyce astmy.

Materialy i metody

Badanie oparto na schemacie kliniczno-kontrolnym w celu analizy mikrobioty jelitowej osób dorosłych. Wśród uczestników było 13 pacjentów chorych na astmę oraz 7 zdrowych ochotników. Szczegółowa analiza składu mikrobioty jelitowej została przeprowadzona z wykorzystaniem technologii sekwencjonowania nowej generacji (NGS). Przeanalizowano wskaźniki bioróżnorodności oraz przeprowadzono podstawowe analizy statystyczne profili taksonomicznych. Skład mikrobioty jelitowej w grupie badanej i kontrolnej zbadano na poziomie typu, klasy, rzędu, rodziny, grupy, gatunku i rodzaju. Do porównania wyników uzyskanych z tych dwóch grup zastosowano testy ANOVA Kruskala-Wallisa i Manna-Whitneya.

Wyniki

Skład mikrobioty jelitowej pacjentów chorych na astmę różnił się istotnie od mikrobioty zdrowych ochotników na każdym z analizowanych poziomów filogenetycznych: typ, klasa, rząd, rodzina, rodzaj i gatunek ($p < 0,05$). W porównaniu z osobami zdrowymi, różnorodność bakterii była znacząco zredukowana u osób chorych na astmę, co jest dowodem na istotne zmiany zachodzące w składzie ich mikrobiomu jelitowego. Co więcej analiza różnorodności beta wykazała, że skład mikrobiomu jelitowego pacjentów z grupy badanej wykazuje wysokie rozproszenie w przeciwieństwie do znacznej koncentracji obserwowanej w przypadku grupy kontrolnej oraz, że wskaźnik podobieństwa pomiędzy pacjentami był znacząco niższy w grupie osób chorych niż w grupie kontrolnej.

Wnioski

Przeprowadzone badania wskazały na istotne różnice w składzie oraz różnorodności mikrobiomu jelitowego osób zdrowych oraz pacjentów chorych na astmę. Uzyskane wyniki stanowią doskonałą podstawę do dalszych badań w celu poznania szczegółowych mechanizmów działania mikrobioty jelitowej w przebiegu astmy, a także badań nad potencjalnym zastosowaniem terapii ukierunkowanych na mikrobiotę w leczeniu astmy.

Abstract

Introduction

Asthma is one of the most common chronic respiratory diseases, with major public health consequences for children and adults. Worldwide there are around 300 million people affected by asthma and another 100 million will probably develop asthma by 2025. In the case of bronchial asthma, it is difficult to identify one most important cause of the disease. Most often a whole set of environmental and genetic factors as well as specific interactions between them are taken into the consideration. The human body is colonized by the huge number of highly adapted microorganisms. The composition and diversity of the microbiome varies from place to place, resulting in a number of unique niches within our body, such as the microbiome of the digestive tract, respiratory tract, mouth, nasal cavity, ears, vagina, hair and skin. It is estimated that the number of microorganisms that make up the microbiome is up to 10 times greater than the number of cells in human organism, and amounts to about 10^{14} . The total number of genes that make up the microbiome is estimated at about 3-5 million, which means that it exceeds the number of our organism's genes up to 150 times. The microbiome of our digestive system is the most diverse, the most numerous, and therefore it receives the most attention.

The aim of the study

The objective of this study was to analyze the nature of human gut microbiota patterns among patients with asthma compared to healthy control. The results obtained from the study may also help to determine the influence of selected gut bacteria on the formation and development of bronchial asthma, and to assess whether microbial-based therapies could be potentially used for the prevention of asthma in the future.

Materials and methods

The study was based on a case-control design to analyze the faecal microbiota of adults with asthma. Composition of the complex gut microbiota was analyzed in fecal samples from 13 asthma patients and 7 healthy volunteers using Next-generation Sequencing technology (NGS). Biodiversity indicators were analyzed and basic statistical analyzes of taxonomic profiles were performed. The composition of the gut microbiota in the test and control groups was examined at the level of type, class, order, family,

group, species and genus. The Kruskal-Wallis Analysis of variance (ANOVA) and Mann-Whitney tests were used to compare the above two groups of subjects.

Results

The composition of the gut microbiota of asthma patients differed from that of healthy volunteers at each of the analyzed levels ($p < 0.05$). Compared to healthy individuals, bacterial diversity was significantly lowered among asthma group, which is strong evidence of gut microbiota depletion among asthma patients. What is more, analysis of beta diversity showed that the gut microbiome of the patients in the study group was highly dispersed in contrast to the tight clustering observed for control. Finally, similarity index was found to be lower in inter-group than intra-group, which confirmed changes of gut microbial composition among asthma group.

Conclusions

The study revealed significant differences in composition of human gut microbiome between asthma patients and healthy control group. Obtained results provide an excellent basis for further research to understand the detailed mechanisms of the action of gut microbiota in the course of asthma, as well as research into the potential use of microbiota-targeted therapies in the treatment of asthma.