

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2022.11.16-18>

## **Изучение бактериального микробиома мокроты больных раком легкого и его связи с повреждениями хромосом в лимфоцитах периферической крови**

**Баранова Е.Д., Дружинин В.Г.**

ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет»  
650000, г. Кемерово, пр. Советский, д. 73

Микробиом респираторного тракта может оказывать значимое влияние на развитие ряда заболеваний дыхательной системы человека. Помимо дисбиотических изменений в составе микробиома пациентов отмечено, что многие бактерии обладают генотоксическим потенциалом и способны прямо или опосредованно повреждать геном в клетках организма хозяина. Цель исследования – изучить связь между составом микробиома мокроты и уровнем повреждений хромосом в лейкоцитах крови больных раком легкого (РЛ). Изучены таксономический состав бактериального микробиома мокроты, а также базовые частоты хромосомных aberrаций (ХА) и микроядер (МЯ) в лимфоцитах крови 66 мужчин с диагнозом РЛ и у 62 здоровых доноров. Результаты секвенирования показали, что микробиом больных РЛ имеет признаки дисбиоза с достоверным увеличением содержания бактерий родов *Streptococcus*, *Bacillus*, *Gemella* и *Haemophilus*. У пациентов с РЛ выявлена прямая связь между частотой aberrантных метафаз в лимфоцитах и процентным содержанием в мокроте представителей рода *Bacteroides*.

**Ключевые слова:** рак легкого, бактериальный микробиом, мокрота, 16S РНК секвенирование, нестабильность генома лимфоцитов; хромосомные aberrации, микроядра, *Bacteroides*.

**Для цитирования:** Баранова Е.Д., Дружинин В.Г. Изучение бактериального микробиома мокроты больных раком легкого и его связи с повреждениями хромосом в лимфоцитах периферической крови. *Медицинская генетика* 2022; 21(11): 16-18.

**Автор для корреспонденции:** Баранова Е.Д.; e-mail: laveivana@mail.ru

**Финансирование.** Исследование выполнено за счет гранта РФФИ №18-14-00022-П.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

**Поступила:** 20.10.2022

## **Study of the bacterial microbiome of sputum of patients with lung cancer and its association with chromosome damage in peripheral blood lymphocytes**

**Baranova E.D., Druzhinin V.G.**

Kemerovo State University  
7, Sovetsky Ave, Kemerovo, 650000, Russian Federation

The microbiome of the respiratory tract can have a significant impact on the development of a number of diseases of the human respiratory system. In addition to dysbiotic changes in the composition of the microbiome of patients, it was noted that many bacteria have a genotoxic potential and are able to directly or indirectly damage the genome in the cells of the host organism. The aim of the study was to study the relationship between the composition of the sputum microbiome and the level of chromosome damage in the blood leukocytes of patients with lung cancer (LC). The taxonomic composition of the sputum bacterial microbiome, as well as the basic frequencies of chromosomal aberrations (CA) and micronuclei (MN) in blood lymphocytes of 66 men diagnosed with LC and 62 healthy donors were studied. The results of sequencing showed that the microbiome of LC patients has signs of dysbiosis with a significant increase in the content of bacteria of the genera *Streptococcus*, *Bacillus*, *Gemella* and *Haemophilus*. In patients with LC, a direct relationship was found between the frequency of aberrant metaphases in lymphocytes and the percentage of representatives of the genus *Bacteroides* in sputum.

**Keywords:** lung cancer, bacterial microbiome, sputum, 16S RNA sequencing, lymphocyte genome instability; chromosomal aberrations, micronuclei, *Bacteroides*.

**For citation:** Baranova E.D., Druzhinin V.G. Study of the bacterial microbiome of sputum of patients with lung cancer and its association with chromosome damage in peripheral blood lymphocytes. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]* 2022; 21(11): 16-18. (In Russ.)

**Corresponding author:** Baranova E.D., e-mail: laveivana@mail.ru

**Funding.** The research was supported by a grant from the Russian Science Foundation No. 18-14-00022-P.

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interests.

**Accepted:** 20.10.2022

## Введение

Рак легкого (РЛ) является распространенной злокачественной опухолью и основной причиной смерти от рака в мире. Результаты исследований последних лет показывают, что компоненты бактериального микробиома могут вносить свой вклад в развитие РЛ, в частности благодаря способности индуцировать окислительный стресс [1]. Воспалительная реакция, вызванная окислительным стрессом, может сохраняться и прогрессировать в течение длительного периода времени, этот процесс сопровождается непрерывным циклом повреждения и репарации ДНК, что неминуемо ведет к накоплению генетических ошибок и, в свою очередь, может являться одним из этапов, ведущих к канцерогенезу. Предполагается, что численные и структурные хромосомные изменения в лимфоцитах периферической крови отражают уровень повреждения ДНК в других клетках организма, подвергающихся воздействию генотоксикантов и, следовательно, могут быть использованы как биомаркеры мутагенного воздействия на организм. Цитогенетические тесты на определение хромосомных aberrаций (ХА) и микроядер (МЯ) являются одними из наиболее часто используемых для этих задач.

**Цель** данного исследования состояла в том, чтобы изучить связь между составом микробиома мокроты и уровнем повреждения хромосом в лимфоцитах периферической крови больных РЛ.

## Методы

Таксономический состав микробиома мокроты, ХА и МЯ в лимфоцитах крови были изучены у 66 мужчин ( $59,4 \pm 7,8$  лет) с диагнозом РЛ до лечения и у 62 мужчин ( $50,2 \pm 6,6$  лет), не имевших заболеваний легочной системы. В соответствии с результатами гистологических исследований 45% пациентов имели плоскоклеточный РЛ, у 24% диагностирована аденокарцинома, в 9% выявлен крупноклеточный РЛ, в 8% — мелкоклеточный РЛ, а у 9 пациентов (14%) патоморфологическая форма РЛ не установлена. В соответствии с TNM классификацией 42% больных РЛ имели I-II стадии заболевания, 58% находились на III-IV стадиях. Кроме этого, у 14% пациентов отмечались метастазы в отдаленные органы.

Все участники были проинформированы о целях, методологии и возможных рисках исследования; информированное согласие было подписано каждым участником исследования. При включении пациентов и доно-

ров из контрольной группы в исследование соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, 2000).

Образцы бактериальной ДНК экстрагировали с помощью набора FastDNA Spin Kit For Soil (MP Biomedicals). Амплификацию и секвенирование проводили согласно протоколу Illumina «Preparing 16S Ribosomal RNA Gene Amplicons for the Illumina MiSeq System». Цитогенетические тесты (ХА и МЯ) выполняли согласно классическим протоколам [2,3].

## Результаты и обсуждение

Результаты цитогенетического анализа показали значимое увеличение частот ХА ( $4,11 \pm 2,48\%$  против  $2,08 \pm 1,18\%$ ) и МЯ ( $1,53 \pm 0,67\%$  против  $0,87 \pm 0,49\%$ ) у больных РЛ по сравнению с контрольной группой. У больных РЛ, находящихся на III-IV стадиях заболевания, наблюдалось увеличение ХА в лейкоцитах по сравнению с пациентами на I-II стадиях ( $4,54 \pm 0,43\%$  против  $3,52 \pm 0,4\%$ ), однако это различие не достигало порога достоверности  $p = 0,09$ ). Доля aberrантных метафаз, зарегистрированная у больных мелкоклеточным РЛ оказалась максимально высокой ( $6,1 \pm 0,97\%$ ) и превышала соответствующие значения у пациентов с плоскоклеточным РЛ ( $3,8 \pm 0,4\%$ ;  $p=0,04$ ) и с аденокарциномой ( $4,28 \pm 0,83\%$ ;  $p=0,03$ ). Микробиом мокроты больных РЛ, имел достоверное снижение бета-разнообразия по сравнению с контрольной группой. В мокроте пациентов с РЛ по сравнению с контролем было установлено статистически значимое увеличение содержания представителей родов *Streptococcus*, *Bacillus*, *Gemella* и *Haemophilus*. Сопоставление подгрупп пациентов, имеющих различные патоморфологические формы РЛ, разные стадии заболевания, а также наличие и отсутствие метастазов в отдаленные органы, не выявило достоверных различий в представленности какого-либо бактериального таксона. Обнаружена прямая связь между частотой aberrантных метафаз и процентным содержанием в мокроте пациентов с РЛ представителей рода *Bacteroides* ( $r = 0,247$ ;  $p = 0,04$ ) и конкретного вида *Bacteroides nordii* ( $r = 0,335$ ;  $p = 0,006$ ). Известно, что некоторые представители рода *Bacteroides*, например, *B. fragilis*, способны продуцировать энтеротоксин Bft, который вызывает острую диарею и также связан с колоректальным раком [4]. В результате воспалительного процесса, вызванного *B. fragilis*, происходит повышение уровня катаболического фермента сперминоксидазы, который активируется

воспалением и генерирует свободные формы кислорода (ROS). Было показано, что Bft действует косвенно, вызывая высокие уровни ROS, которые, в свою очередь, повреждают ДНК клеток хозяина [5, 6].

Наши результаты впервые показывают связь между нестабильностью генома в лимфоцитах больных РЛ и содержанием отдельных видов бактерий в микробиоме мокроты. Дальнейшие исследования должны быть посвящены поиску возможных механизмов влияния этих бактерий на кластогенные эффекты в клетках организма хозяина.

### Литература/ References

1. Lemercier C. When our genome is targeted by pathogenic bacteria. *Cell Mol Life Sci.* 2015;72(14):2665-76.
2. Fenech M., Chang W.P., Kirsch-Volders M., Holland N., Bonassi S., Zeiger E.; HUMAN Micronucleus project. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutat Res.* 2003;534(1-2):65-75.
3. Hungerford D.A. Leukocytes cultured from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl. *Stain Technol.* 1965; 40(6):333-8.
4. Sears C.L. Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*: a rogue among symbiotes. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22(2):349-69.
5. Goodwin A.C., Destefano Shields C.E., Wu S., et al. Polyamine catabolism contributes to enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*-induced colon tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(37):15354-9.
6. Allen J., Rosendahl Huber A., Pleguezuelos-Manzano C., et al. Colon Tumors in Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* (ETBF)-Colonized Mice Do Not Display a Unique Mutational Signature but Instead Possess Host-Dependent Alterations in the APC Gene. *Microbiol Spectr.* 2022: e0105522