

Analiza mikrobioty jelitowej u dzieci z zaburzeniami ze spektrum autyzmu

Streszczenie

Celem niniejszej pracy doktorskiej było przeprowadzenie szczegółowej analizy i wykazanie różnic w składzie mikrobioty jelitowej na podstawie analizy próbek stolca, w trzech badanych grupach: dzieci z zaburzeniami ze spektrum autyzmu (ASD, $n = 71$), ich neurotypowego rodzeństwa ($n = 29$) oraz w grupie kontrolnej niespokrewnionych neurotypowych dzieci ($n = 44$), w kontekście analizy diety, zawartości krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA) oraz doświadczanych dolegliwości jelitowych.

W celu ustalenia składu mikrobioty wykonano wysokoprzepustowe sekwencjonowanie następnej generacji (NGS) amplikonów zmiennych regionów V3–V4 oraz V7–V9 genu markerowego *16S rRNA*. Analizę bioinformatyczną wykonano wykorzystując środowisko Qiime2 z dodatkowymi wtyczkami. W celu przeprowadzenia jednoczesnej analizy na podstawie dwóch sekwencjonowanych amplikonów, zastosowano *Sidle*, wersję algorytmu Short Multiple Reads Framework (SMURF). Przeprowadzono badania ankietowe w celu ustalenia ważnych kowariatów, które mogłyby mieć wpływ na mikrobiom jelitowy. Za pomocą badania ankietowego oceniono skalę dolegliwości jelitowych, żywienie w okresie niemowlęcym, a także dietę z 7 dni poprzedzających pobranie próbki stolca do badania mikrobioty. Aby ocenić udział poszczególnych SCFA w próbkach stolca wykonano analizę HPLC.

W badaniu wykazano istotne różnice w składzie mikrobioty jelitowej pomiędzy grupami, wskazując na zwiększenie różnorodności i równomierności w mikrobiocie neurotypowego rodzeństwa względem dzieci z ASD i niespokrewnionej neurotypowej grupy kontrolnej. Zidentyfikowano 53 taksony bakteryjne o obfitościach istotnie różnych pomiędzy badanymi grupami, przy czym największe różnice między dziećmi z ASD w odniesieniu do neurotypowej niespokrewnionej grupy kontrolnej dotyczyły zwiększonej obfitości taksonu należącego do rodziny Lachnospiraceae, rodzaju *Gelria* i *Desulfovibrio* oraz zmniejszonej obfitości rodzajów *Faecalitalea*, *Parabacteroides* i *Odoribacter*.

Potwierdzono wcześniejsze doniesienia o tym, że dzieci z zaburzeniami ze spektrum autyzmu częściej doświadczają dolegliwości jelitowych. Wskazano na istotne różnice w nawykach żywieniowych dzieci z ASD, znajdując różnice również w okresie niemowlęcym. Nie znaleziono istotnych różnic w stężeniach SCFA.

Wyniki dostarczają informacji o różnicach w mikrobiocie jelitowej dzieci z ASD w odniesieniu do ich neurotypowego rodzeństwa i niespokrewnionych dzieci neurotypowych w populacji polskiej oraz stanowią dobrą podstawę do dalszej analizy funkcjonalnej mikrobiomów w tym typie zaburzeń neurorozwojowych. Zastosowanie podejścia sekwencjonowania dwóch amplikonów zawierających więcej niż jeden region zmienny do identyfikacji taksonomicznej znacząco poprawia rozdzielczość analizy zwiększając dokładność identyfikacji taksonomicznej, co stanowi istotny postęp w badaniach nad mikrobiomem i istotny wkład w tę dziedzinę badań.