Streszczenie rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Sroki-Oleksiak pt.: *„Badanie flory bakteryjnej odcinka dwunastniczego u pacjentów z otyłością oraz cukrzycą typu 2 i otyłością z zastosowaniem sekwencjonowania nowej generacji”*

Liczne prace naukowe potwierdzają, że w etiologii chorób metabolicznych, takich jak cukrzyca typu 2, czy otyłość oprócz czynników środowiskowych i uwarunkowań genetycznych, ważną rolę odgrywa również mikrobiota przewodu pokarmowego. Badania prowadzone z zastosowaniem wysokoprzepustowych technologii, głównie sekwencjonowania następnej generacji umożliwiają wgląd w społeczność drobnoustrojów, które do tej pory w większości przypadków nie były możliwe do wyhodowania w warunkach laboratoryjnych. Obecnie uwaga naukowców skoncentrowana jest głównie na mikrobiocie dystalnej części jelit – okrężnicy oraz jej zawartości, pomijane są natomiast równie ważne proksymalne odcinki jelit, w których zachodzą początkowe etapy trawienia i przyswajania składników odżywczych.

Głównym celem pracy była ilościowa oraz jakościowa analiza struktury mikrobioty błony śluzowej dwunastnicy w grupach pacjentów z otyłością oraz z cukrzycą typu 2 i otyłością, zakwalifikowanych do zabiegu bariatrycznego - rękawowej resekcji żołądka. Dodatkowo, uzyskane wyniki mikrobiologiczne zestawiono z parametrami klinicznymi: glikemią, określoną przez poziom glukozy na czczo i odsetek hemoglobiny glikowanej, lipidogramem, obejmującym stężenie cholesterolu całkowitego, frakcji LDL i HDL, trójglicerydów, a także wiekiem i BMI. Uzyskane wyniki interpretowano w odniesieniu do grupy kontrolnej, którą stanowiły zdrowe osoby. Realizacja powyższych zadań była możliwa dzięki opracowaniu metody nested-PCR, która pozwoliła na zwiększenie czułości i specyficzności poddawanych amplifikacji izolatów.

W wyniku sekwencjonowania następnej generacji na platformie MiSeq (Illumina) oraz analizie bioinformatycznej uzyskano 438 operacyjnych jednostek taksonomicznych, które zostały przypisane do odpowiednich poziomów systematycznych. Wykazano, że struktura mikrobioty błony śluzowej dwunastnicy nie różni się istotnie pomiędzy grupami pacjentów, a osobami zdrowymi, co więcej możliwe było wyodrębnienie wspólnego dla tych grup rdzenia mikrobiologicznego, który obejmował typy: Firmicutes, Proteobacteria oraz Actinobacteria. Zarówno w grupie pacjentów z otyłością jak i z cukrzycą typu 2 zaobserwowano zdecydowanie mniejszą liczebność bakterii z rodzaju *Bifidobacterium*, w odniesieniu do osób zdrowych. Zależności te występowały również na wyższych poziomach taksonomicznych: rodziny, rzędu klasy oraz typu. Ponadto w grupie pacjentów z cukrzycą typu 2 i otyłością,

liczeność *Bifidobacterium* dodatnio korelowała ze stężeniem HDL. Powyższe argumenty stanowią podstawę do rozpatrywania w przyszłości bakterii z rodzaju *Bifidobacterium,* jako rodzaj biomarkera w rozpoznawaniu i leczeniu zaburzeń składu mikrobioty przewodu pokarmowego w przebiegu cukrzycy typu 2 i otyłości.

Uzyskane wyniki świadczą o tym, że struktura mikrobioty błony śluzowej dwunastnicy na poziomie typu jest względnie stała, a zachodzące zmiany ilościowe na pozostałych poziomach taksonomicznych, choć są nieznaczne, mogą inicjować efekt patogenny, który ulega spotęgowaniu/wzmocnieniu w dalszych częściach jelita.

Summary

Numerous scientific studies confirm the fact that a major role is played by gastrointestinal microbiota, apart from environmental and genetic factors, in the etiology of metabolic diseases, such as type 2 diabetes or obesity. Research carried out using high-throughput technologies, especially next-generation sequencing, allows insight into the community of microorganisms that, up to now and in the majority of cases, we haven't been able to culture under laboratory conditions. Currently, the attention of scientists is mainly focused on the distal intestinal microbiota, i.e. the colon and its contents, while the equally important proximal parts of the intestine, in which the initial stages of digestion and absorption of nutrients take place, are overlooked.

The main objective of the study was quantitative and qualitative analysis of the structure of duodenal mucosa microbiota in groups of patients with obesity and with type 2 diabetes and obesity qualified for bariatric surgery: sleeve gastrectomy. Additionally, the microbiological results obtained were compared with clinical parameters: blood glucose level, determined by fasting blood glucose and the percentage of glycated hemoglobin, lipid profile, including total cholesterol, LDL and HDL, triglycerides, as well as age and BMI. The results obtained were interpreted with respect to a control group comprising healthy subjects. The accomplishment of the above tasks was possible owing to devising the nested PCR method, which enabled us to increase the sensitivity and specificity of the isolates subjected to amplification. As a result of next-generation sequencing using MiSeq (Illumina) platform and bioinformatic analysis, 438 operational taxonomic units were obtained that were assigned to appropriate taxonomic ranks. It was demonstrated that the structure of duodenal mucosa microbiota does not differ significantly between groups of patients and healthy individuals. Moreover, it was possible to distinguish the microbiological core, which these groups had in common, including the following phyla: Firmicutes, Proteobacteria

and Actinobacteria. Both the group of patients with obesity as well as those with type 2 diabetes presented a significantly lower number of bacteria of the genus *Bifidobacterium*, compared to healthy subjects. These dependencies were also present at higher taxonomic levels: family, order, class, and phylum. Furthermore, in the group of patients with type 2 diabetes and obesity, the numbers of *Bifidobacterium* positively correlated with HDL concentration. The aforementioned arguments form a basis for considering bacteria of the genus

Bifidobacterium as a kind of biomarker in the diagnosis and treatment of gastrointestinal microbiota composition disorders in the course of type 2 diabetes and obesity in the future.

The results obtained indicate that the structure of duodenal mucosa microbiota at the phylum level is relatively constant and the quantitative changes taking place at the remaining taxonomic levels, although minor, may initiate a pathogenic effect that is intensified/strengthened in later parts of the intestine.