Ilona Vilkoite

ORCID 0000-0001-9663-9156

Kolorektālu neoplāziju saistība ar zarnas mikrobioma pamata kompozīcijas izmaiņām

Promocijas darbs – disertācija – zinātnes doktora grāda "zinātnes doktors (*Ph. D.*)" iegūšanai

Nozaru grupa – medicīnas un veselības zinātnes

Nozare – klīniskā medicīna

Apakšnozare – internā medicīna

Promocijas darba vadītāji:

Dr. med. profesors **Aivars Lejnieks**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. med. docents **Ivars Tolmanis**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Zinātniskā konsultante:

Dr. biol. biomedicīnas pētniece **Laila Silamiķele**,
Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs

Rīga, 2026



Promocijas darbs veikts ar projekta “MiRNS nozīme saimniekorganisma-zarnu mikrobioma mijiedarbībā metformīna terapijas kontekstā uz metabolisma traucējumu fona” Nr.: 1.1.1.1/18/A/092 atbalstu

Anotācija

Kolorektālais vēzis (KRV) ir viens no biežāk sastopamajiem ļaundabīgajiem audzējiem pasaulē un veido būtisku sabiedrības veselības slogu. Latvijā KRV ieņem vienu no vadošajām vietām gan pēc saslimstības, gan mirstības, īpaši vīriešu vidū. Lielākā daļa kolorektālā vēža gadījumu attīstās no labdabīgiem adenomatoziem polipiem, kas laika gaitā var transformēties par karcinomu. Agrīna adenomu diagnostika un to noņemšana ir būtisks profilaktisks pasākums, tomēr tikai neliela daļa adenomatozo polipu progresē līdz vēzim. Tādēļ ir nepieciešami precīzi biomarķieri, kas ļautu identificēt augsta riska indivīdus un labāk izprast karcinoģenēzes mehānismus. Pēdējos gados arvien lielāka uzmanība pievērsta zarnu mikrobiotas iespējamiem traucējumiem kolorektālās neoplāzijas attīstības procesā.

Modernas metagenomiskās sekvencēšanas metodes ļauj detalizēti analizēt mikroorganismu taksonomisko sastāvu līdz sugai, kā arī prognozēt to funkcionālo potenciālu. Dažādos pētījumos aprakstītas mikrobiotas strukturālas un funkcionālas izmaiņas KRV un adenomu pacientiem, tostarp samazināta īso ķēžu taukskābju un K2 vitamīna biosintēze. Šīs funkcijas ir būtiskas zarnu šūnu vielmaiņai un pretiekaisuma aizsardzībai, un to zudums var būt viens no agrīnajiem neoplāzijas priekšvēstnešiem.

Darba mērķis bija raksturot zarnu mikrobiotas taksonomiskās un funkcionālās atšķirības pacientiem, kuriem konstatētas kolorektālās adenomas, un pacientiem, kuriem to nav, identificējot potenciālus mikroorganismus vai metabolisma ceļus, kas varētu būt saistīti ar agrīniem kolorektālās karcinoģenēzes posmiem.

No pacientiem tika iegūti fēču paraugi metagenomiskai gēnu sekvencēšanai mikrobioma sastāva, daudzveidības un funkcionālās analīzes veikšanai. Kolonoskopijas izmeklējums tika veikts, ievērojot standartizētu kvalitātes kritērijiem atbilstošu protokolu. Pētījumā kopumā iekļauti 136 pacienti, no kuriem 56 bija ar endoskopiski konstatētām kolorektālām adenomām, bet 80 bez tām.

Mikrobiotas analīze adenomu grupā atklāja nozīmīgas izmaiņas ģinšu un sugu līmenī, kas liecina par disbiozi. Pacientiem ar adenomām bija palielināts *Bacteroides* un *Prevotella* ģinšu relatīvais daudzums, savukārt *Faecalibacterium* un *Anaerostipes* sugu sastopamība bija samazināta. Beta daudzveidības analīze uzrādīja statistiski nozīmīgas atšķirības mikrobiotas struktūrā starp pacientu grupām, kamēr alfa daudzveidība bija līdzīga, norādot, ka atšķirības galvenokārt saistītas ar mikrobiotas sastāva izmaiņām, nevis kopējo sastopamību.

Diferenciālās sastopamības analīzē tika identificēts *UBA7597 sp003448195*, kura relatīvā sastopamība adenomu grupā bija augstāka. Tā kā šī mikroorganisma bioloģiskā funkcija joprojām ir nepietiekami raksturota un atrade nav validēta neatkarīgā kohortā, *UBA7597 sp003448195* uzskatāms par potenciālu biomarķiera kandidātu turpmākai izpētei.

Funkcionālā mikrobioma analīzē adenomu grupā tika novērota samazinājuma tendence vairāku metabolisma ceļu funkcionālajā potenciālā, tostarp menahinona (K2 vitamīna) biosintēzes, *Stickland* alanīna fermentācijas un propionāta veidošanās ceļos. Lai gan pēc FDR korekcijas šīs atšķirības nesasniedza tradicionālo statistiskās nozīmības slieksni, to konsekventais virziens norāda uz bioloģiski interesantām, hipotēzi ģenerējošām funkcionālām tendencēm. Šie rezultāti raksturo mikrobioma funkcionālo potenciālu, nevis faktisko metabolisko aktivitāti, un tiem nepieciešama turpmāka validācija.

Kopumā pētījuma rezultāti liecina, ka kolorektālo adenomu klātbūtne ir saistīta ar specifiskām mikrobioma kompozicionālām un funkcionālā potenciāla atšķirībām. *UBA7597 sp003448195* relatīvās sastopamības palielināšanās un menahinona biosintēzes ceļu funkcionālā potenciāla samazinājuma tendence ir perspektīvas atrades turpmākai biomarķieru izpētei un validācijai neatkarīgās kohortās.

Atslēgvārdi: kolorektālas adenomas, kolorektāls vēzis, zarnas mikrobiota, disbioze, beta daudzveidība, biomarķieri, menahinona biosintēze.

Abstract

The Association of Colorectal Neoplasia with Changes in the Basic Composition of the Gut Microbiome

Colorectal cancer (CC) is one of the most common malignant tumors in the world and constitutes a significant public health burden. In Latvia, CC occupies one of the leading places in terms of both morbidity and mortality, especially among men. The majority of colorectal cancer cases develop from benign adenomatous polyps, which can transform into carcinoma over time. Early diagnosis of adenomas and their removal is an important preventive measure, however, only a small proportion of adenomatous polyps progress to cancer. Therefore, accurate biomarkers are needed that would allow identifying high-risk individuals and better understanding the mechanisms of carcinogenesis. In recent years, increasing attention has been paid to possible disturbances of the intestinal microbiota in the process of colorectal neoplasia development.

Modern metagenomic sequencing methods allow for detailed analysis of the taxonomic composition of microorganisms down to the species level, as well as prediction of their functional potential. Various studies have described structural and functional changes in the microbiota in patients with colorectal cancer and adenomas, including reduced biosynthesis of short-chain fatty acids and vitamin K2. These functions are essential for intestinal cell metabolism and anti-inflammatory defense, and their loss may be one of the early precursors of neoplasia.

The aim of the work was to characterize the taxonomic and functional differences in the intestinal microbiota in patients with and without colorectal adenomas, identifying potential microorganisms or metabolic pathways that could be associated with early stages of colorectal carcinogenesis.

Fecal samples were obtained from patients for metagenomic gene sequencing to perform microbiome composition, diversity and functional analysis. Colonoscopy examination was performed following a standardized protocol that met quality criteria. A total of 136 patients were included in the study, of which 56 had endoscopically detected colorectal adenomas, and 80 did not.

Microbiome analysis in the adenoma group revealed significant changes at the genus and species level, indicating dysbiosis. Patients with adenomas had increased relative abundance of the genera Bacteroides and Prevotella, while the abundance of Faecalibacterium and Anaerostipes species was reduced. Beta diversity analysis showed statistically significant

differences in the microbiota structure between patient groups, while alpha diversity was similar, indicating that the differences were mainly related to changes in the composition of the microbiota, rather than overall abundance.

Differential abundance analysis identified *UBA7597 sp003448195*, which showed a higher relative abundance in patients with adenomas. As its biological function remains poorly characterized and the finding has not yet been validated in an independent cohort, *UBA7597 sp003448195* should be regarded as a potential biomarker candidate for further investigation.

Functional microbiome analysis showed a trend towards reduced functional potential of several metabolic pathways in the adenoma group, including menaquinone (vitamin K2) biosynthesis, Stickland alanine fermentation, and propionate formation pathways. Although these differences did not reach the conventional level of statistical significance after FDR correction, their consistent direction represents biologically interesting, hypothesis- generating functional trends. These findings reflect microbial functional potential rather than actual metabolic activity and require further validation.

Overall, the study demonstrates that the presence of colorectal adenomas is associated with specific differences in microbiome composition and functional potential. The increased relative abundance of *UBA7597 sp003448195* and the trend towards reduced functional potential of menaquinone biosynthesis pathways represent promising findings for further biomarker research and validation in independent cohorts.

Keywords: colorectal adenomas, colorectal cancer, gut microbiota, dysbiosis, beta diversity, biomarkers, menaquinone biosynthesis.

Satura rādītājs

Anotācija 3

Abstract 5

Darbā izmantotie saīsinājumi 10

Ievads 15
Darba aktualitāte 15
Darba mērķis 16
Darba uzdevumi 17
Darba hipotēze 17
Darba novitāte 17

1. Literatūras apskats 20
1.1. Kolorektālā vēža aktualitāte pasaulē un Latvijā 20
1.1.1. Saslimstība un mirstība pasaulē 20
1.1.2. Vecuma un dzimuma atšķirības 20
1.1.3. Riska faktori 21
1.1.4. Kolorektālais vēzis Latvijā 21
1.1.5. Saslimstības un mirstības tendences Latvijā 23
1.1.6. KRV profilakses izaicinājumi Latvijā 24
1.1.7. Nākotnes rekomendācijas 26
1.2. Adenomas–karcinomas attīstības ceļa būtība 27
1.3. Kolonoskopijas loma kolorektālā vēža profilaksē. Kolonoskopijas kvalitātes kritēriji 29
1.3.1. Kolonoskopijas kvalitātes kritēriji 30
1.3.2. Komplikācijas 31
1.3.3. Izmeklējuma dokumentācija un rekomendācijas 31
1.4. Pacienta pareiza sagatavošana kolonoskopijas procedūrai 32
1.4.1. Sagatavošanas metodes un šķīdumu izvēle 32
1.4.2. Diētas ierobežojumi pirms izmeklējuma 33
1.4.3. Pacientu izglītošana un līdzestības veicināšana 33
1.4.4. Īpašās pacientu grupas 33
1.5. Cilvēka mikrobioms: tā sastāvs, funkcijas un homeostāze 34
1.5.1. Mikrobioma sastāva un funkciju ietekmējošie faktori 34
1.5.2. Mikrobioma loma veselībā un slimībās 35
1.5.3. Mikrobioms kā terapeitiskas iejaukšanās mērķis 35
1.6. Resnās zarnas mikrobioms: sastāvs un galvenie baktēriju pārstāvji resnās zarnas veselības uzturēšanā 36
1.6.1. Zarnas mikrobioma sastāvs 36
1.6.2. Galvenās baktēriju dzimtas 36
1.6.3. Galveno ģinšu funkcionālās lomas 37
1.7. Resnās zarnas mikrobiotas funkcijas 38
1.7.1. Resnās zarnas mikrobiotas vielmaiņas funkcijas 38
1.7.2. Imunoloģiskās funkcijas un imūnmodulācija 39
1.7.3. Resnās zarnas mikrobiotas aizsargājošās lomas 39
1.7.4. Gļotādas barjeras integritātes uzturēšana 40
1.8. Mikrobiotas un saimnieka mijiedarbība 40
1.8.1. Mikrobiota un imūnsistēmas iesaistīšanās 40
1.8.2. Mikrobu metabolīti 41
1.9. Disbiozes jēdziens, veidi, cēloņi un sekas 41
1.9.1. Disbiozes veidi 41
1.9.2. Disbiozes cēloņi 42

1.9.3. Disbiozes sekas ... 43
1.10. Zarnu mikrobiotas loma kolorektālu adenomu attīstībā ... 44
1.10.1. Mikrobu ietekme uz adenomu attīstību ... 44
1.10.2. Ar mikrobiotu saistītie adenomu veidošanās mehānismi ... 45
1.10.3. Mikrobioms kā adenomu veidošanās riska faktors ... 46
1.11. Mikrobu metabolīti un to loma KRV attīstībā ... 47
1.11.1. SCFA loma KRV adenomas attīstībā ... 47
1.11.2. Žultsskābes un sekundārie metabolīti ... 48
1.11.3. Prokarcinogēnu metabolītu ietekme uz adenomas veidošanos ... 48
1.12. Disbiozes un imunoloģiskā ietekme kolorektālu adenomu un KRV attīstībā. Resnās zarnas un imūnsistēmas mijiedarbība ... 49
1.12.1. Iekaisums un imūnsistēmas disregulācija ... 49
1.12.2. Imūnā mikrovide adenomās un KRV ... 50
1.13. Mikrobioma testēšanas diagnostiskais un terapeitiskais potenciāls. Mikrobioms kā biomarķieris ... 50
1.14. Jaunās tehnoloģijas un metodes mikrobioma un adenomu pētījumos ... 54
1.14.1. Metagenomika un augstas caurlaidspējas sekvencēšana ... 54
1.14.2. Metabolomika un funkcionālā profilēšana ... 55
1.14.3. Izaicinājumi un ierobežojumi mikrobioma izpētē ... 56

2. Materiāli un metodes ... 58
2.1. Pētījuma dizains ... 58
2.2. Materiālu iegūšana un uzglabāšana ... 59
2.2.1. Fēču paraugu iegūšana un uzglabāšana ... 59
2.2.2. Kolonoskopijas izmeklējums ... 59
2.2.3. Kolonoskopijas laikā konstatēto veidojumu morfoloģiskā diagnostika ... 60
2.2.4. Metagenoma sekvencēšana un mikrobioma kompozīcijas noteikšana ... 60
2.2.5. Datu analīze ... 61
2.2.6. Statistiskā analīze ... 61

3. Rezultāti ... 63
3.1. Pacientu raksturojums ... 63
3.2. Demogrāfiskie dati ... 63
3.2.1. Vecums ... 63
3.2.2. Dzimums ... 63
3.2.3. Pacientu dzīvesvieta ... 64
3.2.4. Pacientu izglītība ... 64
3.3. Dzīvesveida faktori ... 64
3.3.1. Fiziskā aktivitāte ... 64
3.3.2. Smēķēšana ... 65
3.3.3. Alkohola lietošana ... 65
3.4. Mikrobioma kompozīcija ģinšu līmenī ... 67
3.5. Daudzveidības analīze ģinšu līmenī ... 69
3.5.1. Alfa daudzveidība ... 69
3.5.2. Beta daudzveidība sugu līmenī ... 70
3.6. Diferenciālās sastopamības analīze starp pacientiem ar kolorektālām adenomām un pacientiem bez tām ... 73
3.7. Mikroorganismu ģintis ar būtiskām relatīvās sastopamības atšķirībām pētījumā analizēto faktoru ietekmē ... 74
3.7.1. Saistība starp mikroorganismu ģintīm un gremošanas trakta slimībām ... 76
3.7.2. Saistība starp mikroorganismu ģintīm un ķermeņa masas indeksu (ĶMI) ... 78
3.7.3. Saistība starp mikroorganismu ģintīm un smēķēšanu ... 80

3.7.4. Nozīmīgās mikroorganismu asociācijas ar klīniskiem un demogrāfiskiem faktoriem (MaAsLin2 analīzes rezultātu vizualizācija karstuma kartē) 81
3.8. Mikrobioma funkcionālie ceļi ar eksploratīvām atšķirībām starp pacientiem ar kolorektālām adenomām (AD grupa) un pacientiem bez kolorektālām adenomām (kontroles grupa, CO) 82
3.8.1. PWY-7371 (1,4-dihidroksi-6-naftoāta biosintēze II) ceļš 84
3.8.2. Menahinola-8 biosintēzes superceļš (PWY-7992) 85
3.8.3. PROPFERM-PWY: L-alanīna fermentācijas superceļš jeb *Stickland* reakcija 86
3.8.4. PWY-8188: L-alanīna noārdīšanās VI (reduktīvā *Stickland* reakcija) 86
3.8.5. PWY-8189: L-alanīna noārdīšanās V (oksidatīvā *Stickland* reakcija) 87
3.8.6. PWY-5494: piruvāta fermentācija līdz propanoātam II (akrilāta ceļš) 88
3.8.7. Sešu mikroorganismu vielmaiņas ceļu salīdzinošā analīze 89

Diskusija 92
Pacientu raksturojums 93
Mikrobioma kompozīcija ģīnšu līmenī 95
Alfa daudzveidība 96
Beta daudzveidība 98
Diferenciālās sastopamības analīze starp pacientiem ar kolorektālām adenomām un pacientiem bez kolorektālām adenomām 99
Mikroorganismu ģintis ar būtiskām relatīvās sastopamības atšķirībām pētījumā analizēto faktoru ietekmē 103
Mikrobioma funkcionālās atšķirības pacientiem ar kolorektālām adenomām un pacientiem bez kolorektālām adenomām 104
Menahinona (K2 vitamīna) biosintēzes ceļi (PWY-7371 un PWY-7992) 105
Stickland fermentācijas ceļi (PROPFERM-PWY, PWY-8188, PWY-8189) 105
Akrilāta ceļš (PWY-5494: piruvāta fermentācija līdz propanoātam II) 105

Secinājumi 107

Priekšlikumi 109

Publikācijas un ziņojumi par promocijas darba tēmu 112

Izmantotās literatūras saraksts 113

Pateicības 128

Darbā izmantotie saīsinājumi

16S rRNS	16S ribosomālā RNA gēns (kas tiek izmantots mikrobioma pētījumos)
AD	adenomu grupa (*Adenoma Group*)
ADR	adenomu noteikšanas rādītājs kolonoskopijā (*adenoma detection rate*)
AhR	arilogļūdeņraža receptors (*Aryl hydrocarbon receptor*)
AI	mākslīgais intelekts, izmantojams diagnostikā (*Artificial Intelligence*)
APC	audzēja supresora gēns (*Adenomatous Polyposis Coli*)
ASGE	Amerikas Gremošanas trakta endoskopijas biedrība (*American Society for Gastrointestinal Endoscopy*)
ASV	Amerikas Savienotās Valstis (*USA*)
Axin1/2	gēni, kas regulē Wnt signālceļu
B	statistikas koeficients, kas norāda attiecīgo parametru modeļa analīzē
BAX	proapoptotisks gēns (*BCL2 Associated X Protein*)
BBPS	Bostonas zarnu sagatavošanas skala (*Boston Bowel Preparation Scale*)
BFT	*Bacteroides fragilis* toksīns (*Bacteroides fragilis toxin*)
Breg šūnas	regulējošās B šūnas
C. difficile	*Clostridioides difficile* (patogēns, kas var izraisīt zarnu infekcijas)
CD8+ T-šūnas	citotoksiskās T-šūnas (T-šūnas, kas iznīcina inficētas vai vēža šūnas)
CDX2	zarnu diferenciācijas marķieris (*Caudal-type homeobox transcription factor 2*)
CLR	*Centered Log-Ratio*
CO	kontroles grupa (*Control Group*)
Coef	koeficients
CTNNB1	gēns, kas kodē β-katenīnu (*Catenin Beta 1*)
DC	dendrītiskās šūnas
DCA	deoksiholskābe (*Deoxycholic Acid*)
Df	*Degrees of freedom*
DNS	dezoksiribonukleīnskābe (*DNA*)
E. coli	*Escherichia coli*
ENDO-AID CADe	endoskopijas atbalsta sistēma ar datorredzes palīdzību; mākslīgā intelekta sistēma polipu noteikšanai kolonoskopijā (*Computer-Aided Detection*)
EOCRC	agrīna sākuma kolorektālais vēzis (*early-onset colorectal cancer*)
ES	Eiropas Savienība (*EU*)
ETBF	enterotoksigēnais *Bacteroides fragilis* (*Enterotoxigenic Bacteroides fragilis*)
EveExpr	izteiksmes vērtība, kas attiecas uz mikroorganismu izteiksmes līmeni, kurš tiek mērīts attiecīgajā grupā

F. nucleatum	*Fusobacterium nucleatum*
FAP	ģimenes adenomatozā polipoze (*Familial Adenomatous Polyposis*)
FDR	viltus atklājumu īpatsvara korekcija (*False Discovery Rate*). Viltus atklāšanas koeficients, kas tiek izmantots korekcijai, lai samazinātu viltus pozitīvu rezultātu skaitu vairāku salīdzinājumu gadījumā (viltus atklāšanas rādītājs; statistiskās nozīmības korekcija vairāku salīdzinājumu gadījumā)
FDR	slieksnis slieksnis, zem kura tiek uzskatīts, ka atklājums ir statistiski nozīmīgs
FMT	fēču mikrobiotas transplantācija (*Fecal Microbiota Transplantation*)
FXR	*farnesoid* X receptors (*Farnesoid X receptor*)
GALT	ar zarnu saistītie limfoīdie audi (*Gut-associated lymphoid tissue*)
GERS	gastroezofageālā refluksa slimība (*Gastroesophageal reflux disease*)
GLOBOCAN	Globālā vēža observatorija (Global Cancer Observatory)
GPR	G-proteīnu savienotie receptori (*G-protein-coupled receptors*)
GT	slimība gremošanas trakta slimība
GTDB	uz genoma datiem balstīta prokariotu taksonomijas datubāze (*Genome Taxonomy Database*)
H_2S	sērūdeņradis (*Hydrogen Sulfide*)
HDAC	histona dezacetilāze (*Histone Deacetylase*)
HGD	augstas pakāpes displāzija (*High-Grade Dysplasia*)
hī kvadrāts	*Chi-square test* (*statistical test*)
IARC	Starptautiskā Vēža pētījumu aģentūra (*International Agency for Research on Cancer*)
IGF2R	*Insulin-like Growth Factor 2 Receptor*
IL-17	interleikīns-17 (*Interleukin-17*)
IL-6, IL-1β	interleikīni (citi citokīni, kas saistīti ar iekaisumu)
IQR	interkvartila diapazons (*Interquartile Range*)
IZS	iekaisīgas zarnu slimības (*IBD – Inflammatory Bowel Diseases*)
K2	K2 vitamīns (menahinons vai menahinola forma)
KRAS	*Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog* (onkogēns)
KRV	kolorektālais vēzis (*CRC*)
ĶMI	ķermeņa masas indekss BMI (netieši minēts kā ķermeņa masas indekss) (*Body Mass Index*); rādītājs, kas izsaka ķermeņa svaru attiecībā pret augumu
LCA	litoholskābe (*Lithocholic Acid*)
LEfSe	*Linear discriminant analysis Effect Size* (statistikas metode)
LGD	zemas pakāpes displāzija (*Low-Grade Dysplasia*)
LGR5	*Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5* (cilmes šūnu marķieris)

log(q vērtība)	logaritms no q vērtības, izmantošana korekcijai
logFC	logaritmiskais pārmaiņu koeficients (*log fold change*), kas mēra mikroorganismu daudzuma izmaiņas starp grupām; logaritmiskais daudzuma izmaiņu koeficients
LPS	lipopolisaharīdi (*Lipopolysaccharides*)
MaAsLin2	statistiskais instruments mikrobiomu analīzei, kas izmanto lineāros modeļus, lai identificētu mikroorganismu sastopamību atšķirības (*Multivariate Association with Linear Models 2*)
MAG	no metagenomiskās sekvencēšanas datiem bioinformātiski rekonstruēts mikroorganisma genoms (*metagenome-assembled genome*)
MAPK	*Mitogen-Activated Protein Kinase* (signālceļš)
MDSC	mieloīdo šūnu nomācošās šūnas
MI	mākslīgais intelekts (*Artificial Intelligence, AI*)
MS	masu spektrometrija (*Mass Spectrometry*)
N	paraugu skaits (*number of individuals*; *sample size*)
N.not.0	mikrobioloģisko paraugu skaits, kuros ir novērojama attiecīgā baktērija
N2-TAN	N2 tipa neitrofili
NBI	šaurjoslas attēlveidošana (*Narrow Band Imaging*)
NF-κB	kodola faktora kapa vieglās ķēdes pastiprinātājs aktivētās B šūnās (*Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*)
NGS	nākamās paaudzes sekvencēšana
NICE	kolorektālo polipu optiskās diagnostikas klasifikācijas sistēma (*National Institute for Health and Care Excellence – classification system for optical diagnosis of colorectal polyps*)
NOD	nukleotīdus saistošais oligomerizācijas domēns (*Nucleotide-binding oligomerization domain*)
OTU	operacionālais taksonomiskās vienības nosaukums (*Operational Taxonomic Unit*)
p	statistiska vērtība, kas norāda, vai novērotās atšķirības starp grupām ir statistiski nozīmīgas (*p-value, statistical significance*)
PC1	pirmais galvenais komponents (*First principal component*)
PC2	otrais galvenais komponents (*Second principal component*)
PCA biplots	galveno komponentu analīzes biploti (*Principal component analysis biplots*)
PCA	galveno komponentu analīze (*Principal Component Analysis*)
PCoA	galveno komponentu ordinēšanas analīze (*Principal Coordinates Analysis*)
PCR	polimerāzes ķēdes reakcija (*Polymerase Chain Reaction*)
PDR	polipu noteikšanas rādītājs kolonoskopijā (*polyp detection rate*)
PKKRV	pēckolonoskopijas kolorektālais vēzis (*Post-Colonoscopy Colorectal Cancer*)

pks	kolibaktīnu kodējošā saliņa (*Colibactin encoding island*)
PRR	modeļa atpazīšanas receptori (*Pattern recognition receptors*)
Pval	p vērtība (statistiskā nozīmīguma tests)
PVO	Pasaules Veselības organizācija (*WHO – World Health Organization*)
PWY	metabolisma ceļš (*pathway*, MetaCyc datubāzes apzīmējums)
Qval	q vērtība (FDR korekcija, korekcija vairākkārtējiem testiem, piemēram, FDR korekcija)
R Core Team	*Programming language for statistical computing*
RNS	ribonukleīnskābe (*Ribonucleic acid*)
ROS	reaktīvās skābekļa daļiņas (*Reactive Oxygen Species*)
rRNS	ribosomu RNS (*Ribosomal RNA*)
RStudio	*Integrated Development Environment for R*
SCFA	īso ķēžu taukskābes – mikrobiotas metabolīti (*Short-Chain Fatty Acids*)
SD	*standard deviation*
SIBO	tievās zarnas baktēriju pārmērīga augšana (*Small intestinal bacterial overgrowth*)
SMAD4	audzēja supresora gēns (*SMAD Family Member 4*)
SM-d	dziļa submukozāla invazīvā karcinoma (*Deep Submucosal Invasive Carcinoma*)
SM-s	virspusēja submukozāla invazīvā karcinoma (*Superficial Submucosal Invasive Carcinoma*)
sp.	nenoteikta suga konkrētā ģintī (*species*)
SPKC	Slimību profilakses un kontroles centrs
spp.	vairākas sugas vienas ģints ietvaros (*multiple species*)
SSL-D	sēdošs zobains veidojums ar displāziju (*Sessile Serrated Lesion with Dysplasia*)
Stderr	standarta kļūda
t	t-tests; statistikas rādītājs, kas tiek izmantots, lai novērtētu atšķirības starp grupām (*t-value; statistical value for t-test*)
TAA	audzēja antigēni
TAM	audzēja asociēti makrofāgi
TSA	tradicionālā zobainā adenoma (*Traditional Serrated Adenoma*)
TCF/LEF	transkripcijas faktori (*T-cell factor / Lymphoid Enhancer Factor*)
TGFβR2	*Transforming Growth Factor Beta Receptor II*
TGR5	ar G proteīnu savienotais žultsskābes receptors (*TGR5 receptor*, *G protein-coupled receptor 5*)
Th2 šūnas	T-helperu 2 šūnas
TLR	*Toll* līdzīgie receptori (*Toll-like receptors*)
TNF-α	audzēja nekrozes faktors alfa (*Tumor Necrosis Factor alpha*)

TP16	audzēja supresora gēns (*Tumor Protein P16*)
TP53	audzēja supresora gēns (*Tumor Protein p53*)
Tregs	regulējošās T-šūnas (*Regulatory T cells*)
UBA	nekultivētu baktēriju un arheju apzīmējums, ko lieto metagenomiski rekonstruētiem mikroorganismu genomiem (MAG), kuri identificēti pēc genoma sekvencēm bez iepriekšējas kultivēšanas (*Uncultivated Bacteria and Archaea*)
Wnt	signālceļš (nav saīsinājums, bet bieži tiek lietots kā nosaukums)
β-katenīns	Wnt signālceļa proteīns (*beta-catenin*)

Ievads

Darba aktualitāte

Kolorektālais vēzis (KRV) joprojām ir nozīmīgs globāls veselības sistēmas izaicinājums, kas rada ievērojamu slogu gan veselības aprūpes sistēmi, gan personām, kuras šī diagnoze skārusi (Bray et al., 2024). KRV ir viens no izplatītākajiem un nāvējošākajiem ļaundabīgajiem audzējiem pasaulē, saglabājot augstu saslimstības un mirstības līmeni. Jaunākie epidemioloģiskie dati norāda uz to, ka KRV veido aptuveni 10 % no visiem vēža gadījumiem, padarot to par trešo biežāk diagnosticēto vēzi pasaulē, un katru gadu tiek diagnosticēti aptuveni 1,8 miljoni jaunu gadījumu (Bray et al., 2024). Šī izplatība uzsver nepieciešamību labāk izprast faktorus, kas veicina KRV attīstību, kā arī noteikt iespējamās profilaktiskās un terapeitiskās stratēģijas.

KRV etioloģija ir multifaktoriāla, tā ietver sarežģītu ģenētisko, vides un dzīvesveida faktoru mijiedarbību (Gagnière et al., 2016). Galvenie riska faktori ir liels sarkanās gaļas patēriņš, kas kombinējas ar zemu šķiedrvielu uzņemšanu, aptaukošanās, fizisko aktivitāšu trūkums, smēķēšana, pārmērīga alkohola lietošana un hronisks zarnu iekaisums (Koliarakis et al., 2018; Kang et al., 2017; Wang et al., 2022; Franzosa et al., 2018). Papildus šiem faktoriem jaunie pētījumi arvien vairāk atzīst zarnas mikrobiotas lomu KRV attīstībā un progresēšanā (Mallick et al., 2021; Ahn et al., 2013; Holmes et al., 2011; Zeller et al., 2014). Cilvēka resnajā zarnā ir daudzveidīga un dinamiska mikroorganismu kopiena, ko kopīgi dēvē par zarnas mikrobiotu, tai ir būtiska loma zarnu homeostāzes uzturēšanā un dažādu saimniekorganisma fizioloģisko aspektu ietekmēšanā (Brennan et al., 2016). Šie mikroorganismi ne tikai nodrošina gremošanas funkcijas, aizsardzību pret patogēniem, bet arī veicina imūnmodulāciju, piedalās metabolajos procesos un, kas ir būtiski, veselīgas resnās zarnas uzturēšanā.

KRV parasti rodas no pirmsvēža veidojumiem, kas pazīstami kā polipi. Šajos polipos notiek virkne molekulāru un šūnu izmaiņu, kā rezultātā paveras iespējas aktivēties tā sauktajam adenomas-karcinomas ceļam, kad notiek pāreja no labdabīgas adenomas līdz ļaundabīgai karcinomai (Lv et al., 2023). Papildus šim 15 līdz 30 % KRV attīstās pa tā saukto zobaino jeb *serrated* ceļu, kas ir alternatīvs audzēja ģenēzes mehānisms un ietver atšķirīgas ģenētiskas un epiģenētiskas izmaiņas (Sze et al., 2016). Abi ceļi sākas ar pirmsvēža polipiem, kurus var atklāt un likvidēt kolonoskopijas laikā, lai novērstu KRV attīstību. Tomēr, ja polipi tiek noņemti jeb ablēti nepilnīgi vai kādu iemeslu netiek konstatēti, tie var izraisīt tā saukto intervāla vēzi – KRV gadījumus, kas rodas starp plānotajiem skrīninga izmeklējumiem. Ir svarīgi izprast faktorus, kas ietekmē polipu veidošanos un augšanu, kā arī pāreju no labdabīgiem uz ļaundabīgiem stāvokļiem.

Kolorektālo polipu veidošanos un turpmāko KRV attīstību ietekmē sarežģīts vides iedarbības un ģenētisko predispozīciju kopums (Lv et al., 2023). Viens no svarīgākajiem faktoriem, kas arvien vairāk tiek iesaistīts šajā procesā, ir zarnu mikrobiota. Ir pierādīts, ka izmaiņas resnās zarnas mikrobiotas sastāvā un funkcijās, ko dēvē par disbiozi, veicina KRV patoģenēzi. Disbiotiskas izmaiņas zarnu mikrobiotā var izraisīt hronisku iekaisumu, novirzes imūnās atbildes reakcijās un vielmaiņas disregulācijas traucējumus resnās zarnas mikrovidē, radot apstākļus, kas veicina audzēja veidošanos un progresēšanu (Gagnière et al., 2016). Izjaukts mikrobu līdzsvars var izraisīt patogēno baktēriju pārmērīgu augšanu un labvēlīgo baktēriju samazināšanos, kas kopā veicina iekaisumu un palielina kaitīgo metabolītu līmeni, kas var bojāt resnās zarnas epitēliju un veicināt onkogēnas mutācijas.

Attiecības starp zarnu mikrobiotu un KRV ir strauji augoša pētniecības joma. Pētījumi ir identificējuši specifiskas baktērijas, kas KRV pacientiem tiek konstatētas lielākā skaitā, piemēram, *Fusobacterium nucleatum*, *Escherichia coli* un *Bacteroides fragilis*. Šīs baktērijas ražo proiekaisuma molekulas un toksīnus, kas var izraisīt dezoksiribonukleīnskābes (DNS) bojājumus, izjaukt šūnu signālceļus un vājināt epitēlija barjeru, tādējādi radot mikrovidi, kas atbalsta audzēja ģenēzi (Kostic et al., 2013; Lindström et al., 2017). Turpretim labvēlīgi baktēriju celmi, piemēram, *Faecalibacterium prausnitzii* un *Akkermansia muciniphila*, kas ražo pretiekaisuma metabolītus un palīdz uzturēt zarnu barjeras integritāti, KRV pacientiem bieži ir sastopami mazākā daudzumā, kas liecina par to aizsargājošo lomu pret audzēju veidošanos (Guo et al., 2020).

Izpratne par sarežģītajām attiecībām starp resnās zarnas mikrobiotu un KRV patoģenēzi sniedz cerības izstrādāt jaunas profilaktiskas un terapeitiskas stratēģijas. Specifisku baktēriju populāciju vai mikrobu metabolītu izmaiņu kontrole varētu kalpot par biomarķieriem KRV vai tā prekursoru agrīnai noteikšanai. Turklāt tiek pētītas stratēģijas mikrobu līdzsvara atjaunošanai, piemēram, uztura modifikācijas, probiotikas, prebiotikas un pat fēču mikrobiotas transplantācija, kā potenciāla metode, lai novērstu KRV augsta riska populācijās.

Darba mērķis

Izvērtēt zarnu mikrobiotas sastāva un funkcionālā profila atšķirības starp pacientiem ar kolorektālām adenomām un bez tām, izmantojot metagenomiskās sekvencēšanas pieeju, ar mērķi identificēt strukturālus, funkcionālus un klīniski nozīmīgus mikrobioma rādītājus, kas saistīti ar kolorektālu neoplāziju agrīnu attīstību.

Darba uzdevumi

Promocijas darba mērķa sasniegšanai izvirzīti šādi uzdevumi:

1. Raksturot pētījuma dalībniekus un identificēt klīniski nozīmīgas atšķirības demogrāfiskajos, antropometriskajos un dzīvesveida faktoros starp indivīdiem ar kolorektālām adenomām un bez tām.
2. Analizēt zarnu mikrobiotas sastāvu ģinšu un sugu līmenī, izmantojot metagenomiskās sekvencēšanas datus, un salīdzināt izplatītāko taksonu relatīvo sastopamību abām grupām.
3. Novērtēt mikrobiotas alfa daudzveidību ģinšu līmenī, salīdzinot sugu bagātību, vienmērīgumu un dominēšanu starp adenomu un kontroles grupām.
4. Salīdzināt mikroorganismu kopienu strukturālo atšķirību pakāpi (beta daudzveidību) starp pacientiem ar kolorektālām adenomām un bez tām, identificējot specifiskus taksonus, kas visvairāk veicina starpgrupu diferenciāciju.
5. Veikt diferenciālās sastopamības analīzi sugu līmenī, izmantojot statistiskos modeļus, lai noteiktu mikroorganismus, kuru sastopamība būtiski atšķiras starp adenomu un kontroles grupām.
6. Izvērtēt mikroorganismu ģinšu relatīvās sastopamības saistību ar atsevišķiem klīniskiem un antropometriskiem faktoriem, tai skaitā gremošanas trakta slimībām, ķermeņa masas indeksu, dzimumu un smēķēšanas paradumiem.
7. Identificēt mikrobioma funkcionālos ceļus, kuru relatīvā pārstāvība atšķiras starp pacientiem ar un bez kolorektālām adenomām, un interpretēt šo atšķirību iespējamo bioloģisko nozīmi.
8. Integrēt mikrobiomas strukturālos un funkcionālos datus, lai konceptualizētu mikrobiotas izmaiņu iespējamo lomu kolorektālās adenomatozes attīstības agrīnajā stadijā un izvirzītu hipotēzi par iespējamiem zarnu mikrobiomas biomarķieriem.

Darba hipotēze

Indivīdiem ar konstatētām resnās zarnas adenomām zarnu mikrobiotas pamata sastāvs un funkcionālais profils, tostarp nozīmīgākie mikrobu vielmaiņas ceļi, ir atšķirīgi nekā tiem, kuriem adenomas netika konstatētas.

Darba novitāte

Darbā pētīti zarnu mikrobiotas un tās specifisko vielmaiņas ceļu iespējamā loma kolorektālu adenomu attīstībā. Izmantojot *shotgun* metagenomisko sekvencēšanu, pētījums sniedz jaunu ieskatu zarnas mikrobiotas sastāvā un tās vielmaiņas funkcijās, kas saistītas ar kolorektālo adenomu attīstību. Šī informācija uzlabo izpratni par KRV attīstības

sākumposmiem, nosakot specifiskus ceļus, piemēram, menahinona biosintēzi. Pētījumā skaidroti iespējamie adenomu veidošanās un progresēšanas mehānismi.

Iegūtie dati liecina, ka izmaiņas specifiskos mikrobu metabolajos ceļos varētu kalpot kā biomarķieri kolorektālu adenomu agrīnai noteikšanai. Tam varētu būt būtiska loma skrīninga un agrīnas diagnostikas uzlabošanā, kas ir būtiska efektīvai KRV profilaksei. Izpratne par zarnu mikrobiotas sastāva un menahinona biosintēzes lomu kolorektālu adenomu gadījumā var sniegt informāciju par profilaktisko stratēģiju izstrādi, piemēram, diētas intervencēm un citām mikrobiotas sastāva koriģējošām darbībām, kuru mērķis ir uzturēt pilnvērtīgu un bagātīgu zarnas mikrobiotu (Smajdor et al., 2023).

Iegūtie dati var rezultēties ar jaunu diagnostikas rīku, profilaktisko stratēģiju un, iespējams, terapeitisku metožu izstrādi, mainot resnās zarnas mikrobioma sastāvu.

Pētījums izceļ personalizētas medicīnas pieejas potenciālu, pamatojoties uz indivīda zarnu mikrobiotas profilu, kad var tikt apsvērtas mērķētas un specifiskas iejaukšanās. Traucētu vielmaiņas ceļu identificēšana ļauj apsvērt terapeitiskas pieejas, kas varētu mainīt zarnas mikrobiotas sastāvu un kavēt adenomu veidošanās procesu.

Sadarbības partneri

1. Endoskopiskie izmeklējumi un polipektomijas procedūras tika veiktas SIA "Veselības centrs 4" filiālē "Diagnostikas centrs".
2. Likvidēto polipu morfoloģiskā analīze tika veikta SIA "Akadēmiskā histoloģijas laboratorija".
3. Fēču mikrobiotas testēšana tika veikta SIA "Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs".

Personīgais ieguldījums

Darba autore ir veikusi visus endoskopiskos izmeklējumus, polipektomijas procedūras, likvidēto polipu nosūtīšanu uz Akadēmisko histoloģijas laboratoriju. Veikusi saziņu ar pacientiem, organizējusi fēču materiāla pareizu ievākšanu un nogādāšanu uz Biomedicīnas centru.

Informējusi pacientus par pētījumu un ieguvusi to piekrišanu dalībai pētījumā. Nodrošinājusi izmeklējumu veikšanai nepieciešamo materiālo resursu piesaisti un loģistiku.

Veikusi zinātnisko un klīnisko plānošanu, t. sk. pacientu atlasi un pētāmo rādītāju izvēli.

Apkopojusi, analizējusi un apstrādājusi iegūtos datus, tostarp izmantojot statistiskās datu analīzes metodes. Rezultāti tika izmantoti zinātnisko publikāciju sagatavošanā. Darba autore ir pilnībā izstrādājusi un sarakstījusi šo promocijas darbu.

Promocijas darba izstrādes laikā autore piedalījās vairāku zinātnisku publikāciju sagatavošanā, kas saistītas ar kolonoskopijas kvalitātes izvērtēšanu. Viena no publikācijām analizēja NICE klasifikācijas precizitāti polipu diagnosticēšanā atkarībā no to lokalizācijas resnajā zarnā (Vilkoite et al., 2022), kur autore veica datu analīzi, piedalījās polipu klasifikācijā un rezultātu interpretācijā. Tāpat autore vadīja un piedalījās pētījuma izstrādē, īstenošanā un publikācijā par mākslīgā intelekta lietojumu kolonoskopijā (Vilkoite et al., 2023). Šis pētījums sniedza būtisku ieguldījumu kolorektālā vēža diagnostikas kvalitātes uzlabošanā Latvijā, papildinot autores zinātnisko kompetenci kolonoskopijas kvalitātes izvērtēšanā, mākslīgā intelekta sistēmas ietekmi uz adenomu noteikšanas (ADR) un polipu noteikšanas (PDR) rādītājiem kolonoskopijā. Šie pētījumi veido pamatu daudzdimensionālai izpratnei par kolorektālā vēža agrīnās diagnostikas aspektiem. Trešajā zinātniskajā publikācijā, kuras autore ir arī promocijas darba autore, tika sniegts klīnisks un epidemioloģisks ieskats kolorektālā vēža sastopamības un polipu raksturojuma atšķirībās dažādās vecumgrupās.

Ētiskie aspekti

Pētījums tika veikts saskaņā ar Helsinku deklarācijas ētiskajiem aspektiem, kā arī pētījumam tika saņemts Centrālās medicīnas ētikas komitejas atzinums Nr. 01-29.1.2/1751.

Promocijas darba struktūra

Promocijas darbs ir uzrakstīts latviešu valodā. Tas izklāstīts piecās nodaļās: “Literatūras apskats”, “Materiāli un metodes”, “Rezultāti”, “Diskusija” un “Secinājumi”. Promocijas darba apjoms ir 131 lappuse, darbā ir 29 tabulas un 15 attēli. Literatūras saraksts sastāv no 263 avotiem.

1. Literatūras apskats

1.1. Kolorektālā vēža aktualitāte pasaulē un Latvijā

Kolorektālais vēzis (KRV) ir viena no nozīmīgākajām sabiedrības veselības problēmām pasaulē. Saskaņā ar Starptautiskās vēža izpētes aģentūras (IARC) Globālās vēža observatorijas (GLOBOCAN) 2022. gada datiem KRV ir trešais biežāk diagnosticētais vēža veids pasaulē un otrais biežākais ar vēzi saistītās mirstības cēlonis. 2022. gadā tika reģistrēti 1 926 118 jauni kolorektālā vēža gadījumi un 903 859 nāves gadījumi visā pasaulē (Wang et al., 2021). Tas veido 9,6 % no visiem jaunajiem vēža gadījumiem un 9,3 % no visiem ar vēzi saistītajiem nāves gadījumiem (Morgan et al., 2022). Šie dati uzsver kolorektālā vēža būtisko globālo slogu un tā nozīmi gan veselības aprūpes sistēmu kapacitātes plānošanā, gan profilakses un agrīnas diagnostikas stratēģiju attīstībā. Pieaugošā saslimstība vairākās pasaules valstīs liecina par būtisku dzīvesveida un demogrāfisko faktoru ietekmi, padarot KRV par prioritāru mērķi sabiedrības veselības intervencēm.

1.1.1. Saslimstība un mirstība pasaulē

KRV sastopamība būtiski atšķiras starp reģioniem. Augstākie rādītāji novērojami augstu ienākumu valstīs – Ziemeļamerikā, Rietumeiropā un Austrālijā (Arnold et al., 2017), kas lielā mērā saistīts ar dzīvesveida faktoriem (augsts sarkanās un pārstrādātās gaļas patēriņš, zems šķiedrvielu patēriņš, aptaukošanās, mazkustīgums). Zemāku ienākumu valstīs saslimstība tradicionāli bijusi zemāka, taču urbanizācija un rietumnieciska dzīvesveida izplatība veicina rādītāju pieaugumu (Sung et al., 2021).

Attīstītajās valstīs, neskatoties uz augstu saslimstību, mirstība samazinās agrīnas diagnostikas un terapijas uzlabojumu dēļ (Arnold et al., 2017). Valstīs ar organizētām skrīninga programmām (ASV, Austrālija, vairākas ES valstis) mirstības rādītāji ir būtiski kritušies (Siegel et al., 2020). Savukārt zemāku ienākumu valstīs ar ierobežotu skrīninga pieejamību mirstība saglabājas augsta (Bray et al., 2024).

1.1.2. Vecuma un dzimuma atšķirības

Pieaug agrīna sākuma kolorektālais vēzis (EOCRC) personām līdz 50 gadu vecumam. Pētījumā par polipu un adenomatozu veidojumu izplatību dažādās vecumgrupās konstatētas būtiskas lokalizācijas un histoloģijas atšķirības (Vilkoite et al., 2023), kas aktualizē nepieciešamību izvērtēt skrīninga uzsākšanu agrākā vecumā. Pieauguma cēloņi nav pilnībā skaidri, bet tiek saistīti ar uztura pārmaiņām, aptaukošanos un ģenētiskiem faktoriem (Vuik et al., 2019).

Vīriešiem KRV sastopamība ir augstāka, iespējams, bioloģisku un dzīvesveida faktoru dēļ (Arnold et al., 2017). Latvijā 2023. gadā KRV bija trešā biežākā onkoloģiskā lokalizācija gan vīriešiem, gan sievietēm (SPKC, 2023).

1.1.3. Riska faktori

KRV etioloģija ir daudzfaktorāla, ietverot ģenētiskos un vides faktorus. Iedzimtas mutācijas (APC, MLH1, MSH2) saistītas ar ģimenes adenomatozo polipozi (FAP) un Linča sindromu (Lichtenstein et al., 2000), tomēr lielākā daļa gadījumu ir sporādiski.

Galvenie riska faktori ir augsts sarkanās un pārstrādātās gaļas patēriņš, zems šķiedrvielu patēriņš, fiziska neaktivitāte, aptaukošanās, smēķēšana un alkohola lietošana (Song et al., 2015; Murphy et al., 2017). Alkohols ir nozīmīgs karcinogēns – 2020. gadā ar to saistīts aptuveni 741 000 vēža gadījumu pasaulē (Rumgay et al., 2021).

Iekaisīgas zarnu slimības (Krona slimība, čūlains kolīts) paaugstina KRV risku hroniska iekaisuma dēļ (Jess et al., 2012). Pieaug arī interese par zarnu mikrobiotas lomu karcinoģenēzē – disbioze var veicināt iekaisumu un mutagēnu metabolītu veidošanos (Tilg et al., 2018).

Latvijā KRV sastopamības un mirstības rādītāji joprojām pārsniedz Eiropas Savienības (ES) vidējos rādītājus. OECD ziņojumā (2023) kā galvenie cēloņi minēti:

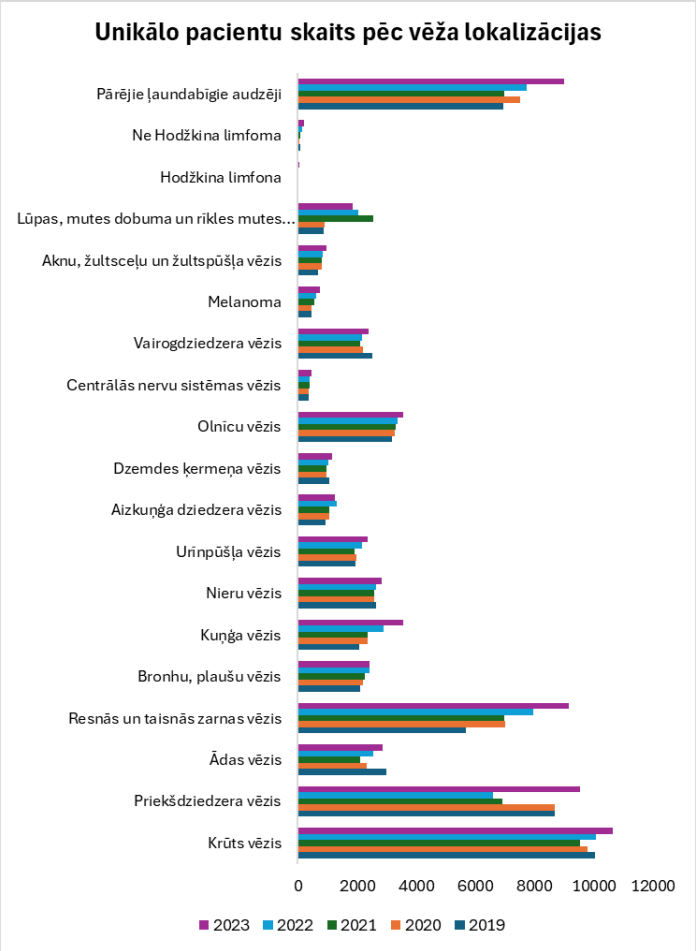
1) augsta dzīvesveida riska faktoru izplatība (piemēram, smēķēšana, mazkustīgums);
2) zemā skrīninga programmu aptvere un zema sabiedrības atsaucība (piemēram, kolorektālā un krūts vēža skrīnings);
3) nepietiekama ārstniecības resursu pieejamība (ārsti, onkoloģiskās tehnoloģijas, staru terapija);
4) zems kompensējamo pretvēža medikamentu īpatsvars;
5) viens no zemākajiem valsts izdevumu līmeņiem uz vienu iedzīvotāju vēža ārstēšanai ES kontekstā;
6) salīdzinoši zemāki izdzīvotības rādītāji (OECD, 2023).

1.1.4. Kolorektālais vēzis Latvijā

Latvijā KRV ir viens no biežāk diagnosticētajiem vēža veidiem ar augstu mirstības līmeni salīdzinājumā ar citiem vēža veidiem. Saskaņā ar Latvijas Slimību profilakses un kontroles centra (SPKC) datiem KRV ir otrs izplatītākais vēzis valstī pēc krūts vēža un katru gadu ap 700 pacientu no KRV mirst (SPKC, 2021). Augstais mirstības līmenis lielā mērā ir saistīts ar novēlotu KRV diagnozi, jo skrīnings Latvijā joprojām ir oportūnistisks un vāji organizēts.

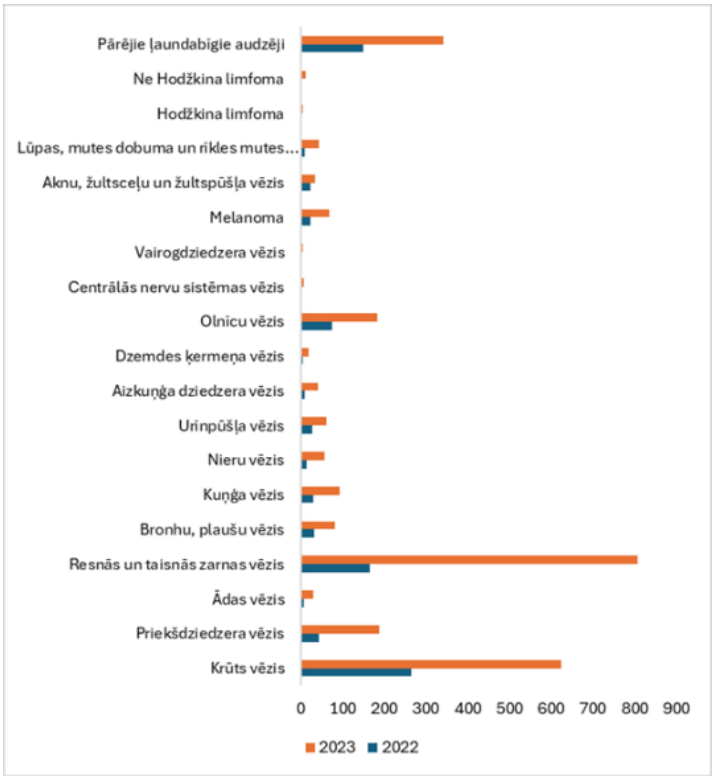
Pēdējos gados Latvijā ir uzsāktas nacionālās skrīninga programmas, lai atklātu KRV agrīnās stadijās, un tās ir paredzētas personām, kas vecākas par 50 gadiem (SPKC, 2021). Tomēr aptveres līmenis skrīningā joprojām ir zems, daļēji izpratnes trūkuma, loģistikas izaicinājumu un kultūras faktoru dēļ (Vanags et al., 2010). Zemie skrīninga rādītāji veicina progresējošu KRV gadījumu izplatību, kā rezultātā ir sliktākas prognozes un augstāka mirstība.

Pēc datiem no 2023. gada "zaļā koridora" programmas, kolorektālais vēzis bija viens no biežāk konstatētajiem audzējiem kopā ar krūts un prostatas vēzi (1.1. attēls). Šī programma paredzēta pacientiem ar aizdomām par onkoloģisku slimību, nodrošinot prioritāru piekļuvi diagnostikai un ārstēšanai.



1.1. attēls. **Unikālo pacientu skaits pēc vēža lokalizācijas, kuriem vēzis konstatēts "zaļā koridora" ietvaros**
(Veselības aprūpes pakalpojumu onkoloģijas jomā uzlabošanas plāns 2025.–2027. gadam)

Tāpat "dzeltenā koridora" programmas ietvaros, kurā tiek vērtēti gadījumi ar iespējamu ļaundabīga audzēja recidīvu, visbiežāk konsultāciju un izmeklējumu nepieciešamību radīja kolorektālā un krūts vēža pacienti (1.2. attēls). Šie dati uzsver nepieciešamību pēc agrīnas diagnostikas stiprināšanas un labākas pacientu kontroles pēc primārās ārstēšanas (Veselības aprūpes pakalpojumu onkoloģijas jomā uzlabošanas plāns 2025.–2027. gadam).



1.2. attēls. **Unikālo pacientu skaits pēc vēža lokalizācijas, kuri saņēma pakalpojumus "dzeltenā koridora" ietvaros**
(Veselības aprūpes pakalpojumu onkoloģijas jomā uzlabošanas plāns 2025.–2027. gadam)

1.1.5. Saslimstības un mirstības tendences Latvijā

Saslimstība ar KRV Latvijā pēdējo divu desmitgažu laikā ir pieaugusi, atspoguļojot līdzīgas tendences, kas novērotas visā pasaulē. Laikā no 2000. līdz 2020. gadam saslimstības līmenis ar KRV Latvijā pieauga par aptuveni 30 %, turklāt vīriešiem saslimstības līmenis bija augstāks (SPKC, 2021). Šo pieaugumu var saistīt ar jau iepriekš minētajiem dzīvesveida faktoriem (liels sarkanās un pārstrādātas gaļas, zems šķiedrvielu patēriņš un pieaugoša aptaukošanās izplatība). Papildus tam Latvijā ir vērojams smēķēšanas un alkohola patēriņa pieaugums, kas abi ir noteikti kā KRV riska faktori (Eurostat, 2023).

Mirstības rādītāji no KRV Latvijā saglabājas satraucoši augstā līmenī, būtiski pārsniedzot Eiropas Savienības (ES) vidējo rādītāju. Saskaņā ar Eiropas Komisijas ziņojumu Latvijas mirstības līmenis no KRV ir viens no augstākajiem ES (Eurostat, 2023). Šī tendence liecina par nepieciešamību uzlabot skrīninga pasākumus, veicināt sabiedrības veselības izglītību un pieejamās diagnostikas un ārstēšanas iespējas.

Latvijā KRV agrīnās stadijās tiek atklāts salīdzinoši reti. Tikai 15,1 % gadījumu audzējs tiek diagnosticēts I stadijā, 22,4 % II stadijā, savukārt visbiežāk (27,3 %) tas tiek atklāts III stadijā. Ceturtajā stadijā diagnosticēti 20 % gadījumu, turklāt aptuveni 15 % gadījumu audzēja stadija nav norādīta (SPKC, 2023). Tādējādi vairāk nekā puse gadījumu tiek atklāti

novēloti, kas būtiski samazina ārstēšanas iespējas un pacientu dzīvildzi (Latvijas iedzīvotāju nāves cēloņu datubāzes dati, SPKC, 2023).

Kā jau iepriekš minēts, izdzīvotības rādītāji būtiski atšķiras atkarībā no audzēja lokalizācijas un stadijas. Laikposmā no 2017. līdz 2022. gadam piecu gadu izdzīvotības rādītājs krūts vēzim bija 70 %, bet pacientēm, kurām audzējs tika diagnosticēts I stadijā, pat 92 %; savukārt IV stadijā tas bija vien 19 %. Dzemdes kakla vēža gadījumā piecu gadu izdzīvotība bija 56 % (I stadijā 97 %, IV stadijā 10 %). Kolorektālā vēža gadījumā kopējais izdzīvotības rādītājs bija 41 %, ar būtisku atšķirību starp stadijām: I stadijā 77 %, IV stadijā tikai 11 % (Latvijas iedzīvotāju nāves cēloņu datubāzes dati, SPKC, 2023).

Būtiskas atšķirības novērojamas dzimumu griezumā. Sievietēm visbiežākie mirstības cēloņi ļaundabīgo audzēju grupā ir krūts vēzis un kolorektālais vēzis, savukārt vīriešiem – bronhu un plaušu, kā arī prostatas vēzis. 2023. gadā no bronhu un plaušu vēža Latvijā miruši 949 cilvēki (50,5 uz 100 000 iedzīvotāju), no prostatas vēža 407 vīrieši (46,8 uz 100 000 vīriešu), no krūts vēža 410 sievietes (40,7 uz 100 000 sieviešu), bet no kolorektālās daļas audzējiem 623 personas (33,2 uz 100 000 iedzīvotāju) (Latvijas iedzīvotāju nāves cēloņu datubāzes dati, SPKC, 2023).

1.1.6. KRV profilakses izaicinājumi Latvijā

Viens no galvenajiem izaicinājumiem KRV profilaksē Latvijā ir ierobežotā piekļuve regulārām skrīninga un agrīnās atklāšanas iespējām. Lai gan valsts kolorektālā vēža skrīninga programma ir ieviesta, tās īstenošanu kavē vairāki šķēršļi, kas ietekmē iedzīvotāju līdzdalību.

Sabiedrības informētība par KRV riskiem, skrīningu un diagnostikas metodēm joprojām nav pilnīga (Vanags et al., 2018). Turklāt Latvijā nav izstrādāti un īstenoti vienoti kvalitātes kritēriji kolonoskopijas izmeklējumu veikšanai, kas palielina tā saukto intervāla vēžu risku – ļaundabīgu audzēju attīstību starp skrīninga cikliem. Vēl viens būtisks ierobežojošs faktors ir veselības aprūpes speciālistu un resursu trūkums, īpaši lauku reģionos, kur veselības aprūpes infrastruktūra ir vāji attīstīta.

Kopš 2009. gada kolorektālā vēža skrīnings tiek īstenots kā oportūnistisks, attiecīgi tiek organizēts ar ģimenes ārstu prakšu starpniecību. Šāds skrīninga veids nenodrošina nepieciešamo izmeklējumu aptveri un ir nepieciešams ieviest organizētu vēža skrīningu. Pirms organizēta skrīninga ieviešanas būtu nepieciešams veikt pilotpētījumu, kura ietvaros iedzīvotāji tiktu informēti, nosūtot uzaicinājuma vēstules uz deklarēto dzīvesvietas adresi vai oficiālo elektronisko adresi, līdzīgi kā tas tiek īstenots krūts un dzemdes kakla vēža skrīninga programmās (Veselības aprūpes pakalpojumu onkoloģijas jomā uzlabošanas plāns 2025.–2027. gadam).

Uzaicinājumu sistēmai jāparedz arī atkārtoti uzaicinājumi gadījumos, kad izmeklējums netiek veikts noteiktajā termiņā. Šāda pilotprojekta mērķis būtu identificēt optimālo komunikācijas stratēģiju, lai palielinātu sabiedrības atsaucību KRV profilaktiskajiem izmeklējumiem un sagatavotu pamatu organizēta skrīninga ieviešanai (Veselības aprūpes pakalpojumu onkoloģijas jomā uzlabošanas plāns 2025.–2027. gadam).

Pozitīva fekālā imūnķīmiskā testa (FIT) gadījumā kā otrā posma izmeklējums jānodrošina kolonoskopija. Tādēļ ir nepieciešama detalizēta situācijas analīze, lai novērtētu kolonoskopiju pieejamību un kapacitāti. Ieteicams ieviest arī pilotprojektu, kas paredzētu automātisku uzaicinājumu nosūtīšanu pacientiem pēc pozitīva FIT testa rezultāta, tā nodrošinot secīgu un savlaicīgu izmeklēšanas procesu (Veselības aprūpes pakalpojumu onkoloģijas jomā uzlabošanas plāns 2025.–2027. gadam).

Nacionālā veselības dienesta (NVD) dati liecina, ka pēc Covid-19 pandēmijas skrīninga aptveres rādītāji krūts un dzemdes kakla vēža skrīninga programmās ir uzlabojušies. Uzlabojusies arī atsaucība uz KRV skrīningu, salīdzinot 2020. un 2024. gada rezultātus (skat. 1.1. tabulu).

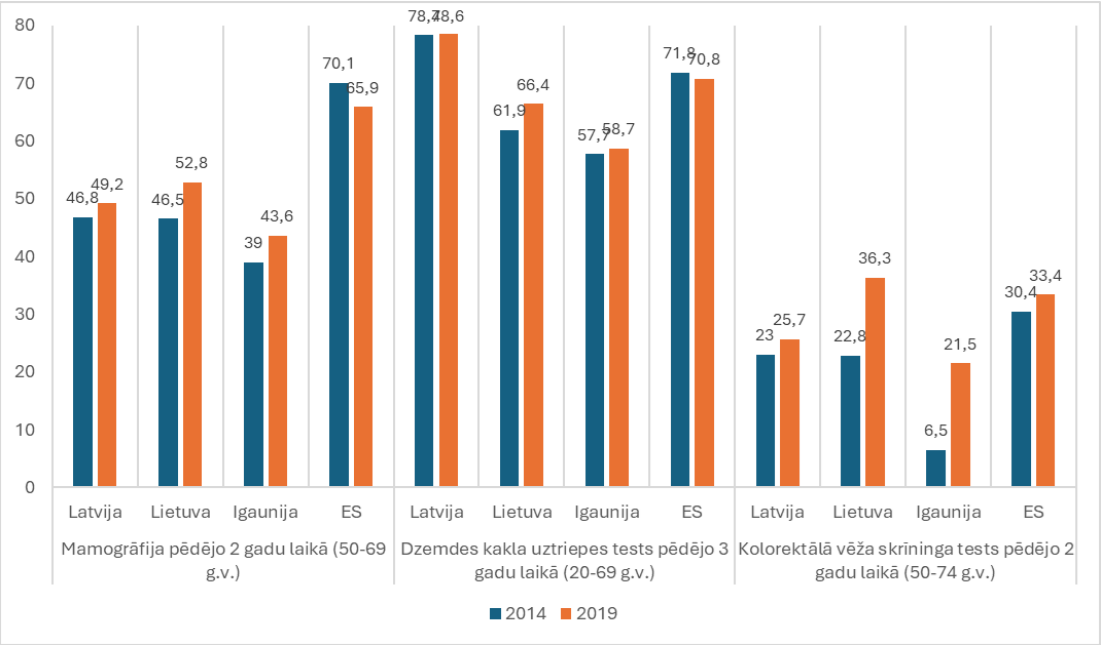
1.1. tabula

Valsts organizētā vēža skrīninga aptveres un atsaucības rādītāji no 2019. līdz 2023. gadam
(Nacionālais veselības dienests, https://www.vmnvd.gov.lv/lv/programmas-rezultati)

	Aptveres rādītājs (%)					
Skrīninga programma	**2019**	**2020**	**2021**	**2022**	**2023**	**2024**
Dzemdes kakla vēža skrīnings	39,70	33,80	35,10	46,70	55,20	57,00
Krūts vēža skrīnings	39	29,90	30,80	30,20	36,10	38,10
Zarnu vēža skrīnings	15,00	14,60	18,80	19,10	25,80	26,50
Prostatas vēža skrīnings*	–	–	–	76	80	74

*Aprēķinā iekļauti visi PSA veiktie izmeklējumi, izņemot ar diagnozēm C61 un Z03.161.

Papildu informāciju sniedz arī Eiropas iedzīvotāju veselības apsekojumu dati, kas parāda, ka KRV un krūts vēža skrīninga aptvere Latvijā joprojām ir zemāka nekā ES vidēji, savukārt dzemdes kakla vēža skrīnings Latvijā tiek veikts biežāk nekā citviet ES (skat. 1.3. attēlu). No Baltijas valstīm zemākie skrīninga rādītāji novērojami Igaunijā.



1.3. attēls. **Skrīningu veikšana (pašvērtējums) Baltijas valstīs un vidēji ES 2014.–2019. gadā**
(Veselības aprūpes pakalpojumu onkoloģijas jomā uzlabošanas plāns 2025.–2027. gadam)

Apsekojuma dati atklāj arī būtisku nevienlīdzību skrīninga pieejamībā dažādām sabiedrības grupām. Augstāki skrīninga rādītāji novērojami iedzīvotājiem ar augstāku izglītības līmeni un lielākiem ienākumiem. Latvijā noteiktajā vecumgrupā 47 % iedzīvotāju nekad nav veikuši KRV testu (salīdzināms ar ES vidējo rādītāju), 18 % nekad nav veikuši mamogrāfiju (vidēji ES 11 %), bet dzemdes kakla uztriepes testu nav veikuši 3,4 % iedzīvotāju (SPKC, Latvijas iedzīvotāju veselību ietekmējošo paradumu pētījums).

1.1.7. Nākotnes rekomendācijas

Lai cīnītos ar pieaugošo KRV slogu, Latvijā būtu jāstiprina sabiedrības veselības iniciatīvas, koncentrējoties uz profilaksi, agrīnu diagnostiku un ārstēšanu. Sabiedrības informētības palielināšana ar izglītojošu kampaņu palīdzību varētu veicināt lielāku dalību skrīninga programmās, kas veicinātu agrāku atklāšanu un uzlabotu ārstēšanas rezultātus. Līdztekus nepieciešams attīstīt veselības aprūpes infrastruktūru, jo īpaši paplašināt endoskopisko izmeklējumu pieejamību un nodrošināt atbilstošu medicīniskā personāla apmācību un kvalifikācijas uzturēšanu. Šādas investīcijas ir būtiskas, lai uzlabotu skrīninga izmeklējumu kvalitāti un samazinātu intervāla vēža risku (SPKC, 2021).

Papildus tradicionālajām pieejām pieaug interese par pētījumiem, kuros analizēta zarnu mikrobiotas loma KRV profilaksē un ārstēšanā. Izpratne par to, kā disbioze veicina KRV attīstību, varētu rezultēties ar novatoriskām uz mikrobiomu mērķētām terapijām, potenciāli paverot jaunas iespējas KRV izplatības mazināšanā. Ņemot vērā, ka globālās tendences norāda uz personalizētas medicīnas, mikrobioma modulācijas un pielāgotas terapeitiskās pieejas

pieprasījumu pasaulē, šāda pieeja varētu būt apsverama arī KRV sastopamības un mirstības ierobežošanā pasaulē un arī Latvijā.

Svarīgs solis būtu vienotu, uz pierādījumiem balstītu skrīninga kolonoskopijas standartu (klīnisko protokolu) izstrāde un ieviešana, kas būtu saistoša visiem pakalpojuma sniedzējiem. Šādi protokoli nodrošinātu pilnvērtīgu resnās zarnas izmeklēšanu un palīdzētu samazināt viltus negatīvu rezultātu biežumu. Vienlaikus būtu jāpārskata skrīninga kolonoskopijas esošie tarifi un jāplāno papildu finansējums pakalpojuma nodrošināšanai atbilstošā kvalitātē un apjomā (Veselības aprūpes pakalpojumu onkoloģijas jomā uzlabošanas plāns 2025.–2027. gadam).

1.2. Adenomas–karcinomas attīstības ceļa būtība

Adenomas–karcinomas ceļš ir vispāratzīts daudzpakāpju modelis, kas apraksta progresēšanu no labdabīgas adenomas līdz invazīvai karcinomai. Šajā procesā laika gaitā uzkrājas ģenētiskas un epiģenētiskas izmaiņas, kas veicina normāla epitēlija transformāciju adenomatozā polipā un tālāku progresēšanu, ja veidojums netiek laikus likvidēts (Fearon et al., 1990; Markowitz & Bertagnolli, 2009). Šī modeļa izpratne ir būtiska augsta riska bojājumu identificēšanai un profilaktiskai izņemšanai.

Fearon un *Vogelstein* (1990) aprakstīja klasisko onkoģenēzes secību, kur sākotnējais notikums ir APC audzēja supresora gēna mutācija. APC funkcijas zudums aktivē Wnt signālceļu, veicinot β-katenīna uzkrāšanos un tā mijiedarbību ar TCF/LEF transkripcijas faktoriem, kas pastiprina mērķgēnu (LGR5, c-Myc, Axin2, ciklīns D1) ekspresiju (Phelps et al., 2009). Turpmākas mutācijas KRAS, TP53 un SMAD4 gēnos veicina šūnu proliferāciju, displāziju un ļaundabīgu transformāciju.

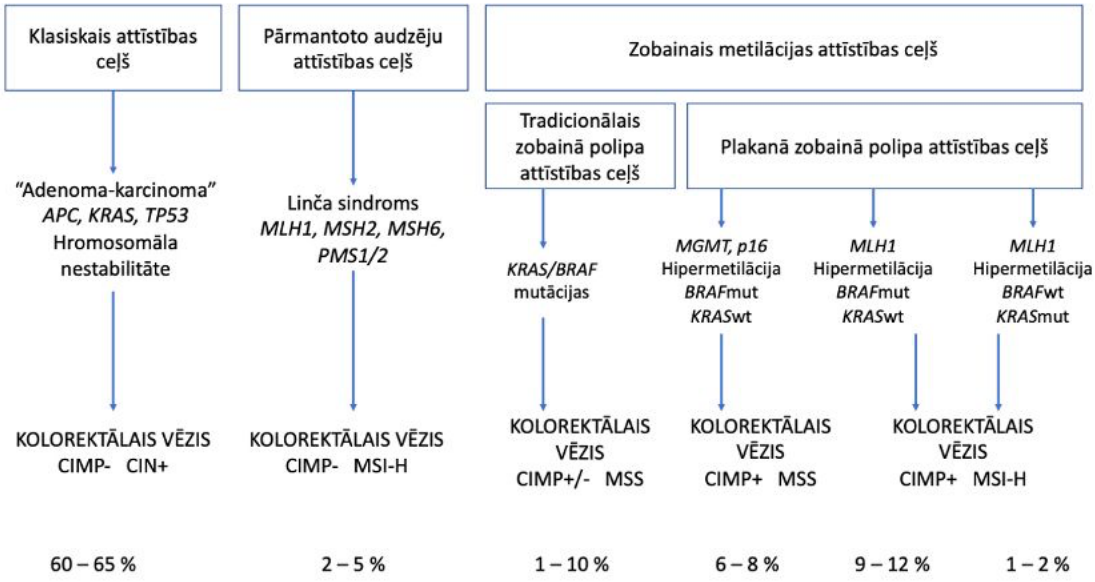
Pacientiem ar ģimenes adenomatozo polipozi (FAP sindromu) APC gēna mutācija ir iedzimta un sastopama visās šūnās, tomēr audzēja attīstība galvenokārt notiek resnajā zarnā. Tas liecina, ka APC mutācijām ir īpaša ietekme resnās zarnas unikālajā mikrovidē. Lai gan lielākā daļa KRV gadījumu ir saistīti ar APC inaktivāciju, zināmas mutācijas arī citos gēnos, piemēram, Axin1, Axin2 vai CTNNB1, kas arī ietekmē β-katenīna atkarīgo Wnt signalizācijas ceļu. Labdabīgo, potenciāli ļaundabīgo un ļaundabīgo šūnu ģenētisko mutāciju analīze ir palīdzējusi noteikt audzēja progresēšanas laika grafiku, pieļaujot, ka labdabīgai resnās zarnas adenomai ir nepieciešami aptuveni 17 gadi, lai kļūtu par karcinomu, savukārt progresēšana līdz invazīvam vēzim notiek tikai divu gadu laikā. Turklāt ir nepieciešamas tikai dažas papildu mutācijas, lai vēža šūnas iegūtu metastātiskas spējas (Nikolaev et al., 2012; Hashimoto et al., 2017).

Modelis ietver arī genoma nestabilitātes uzkrāšanos. Izšķir hromosomu nestabilitāti (≈70 % KRV), kas raksturīga klasiskajam adenomas–karcinomas ceļam, un mikrosatelītu

nestabilitāti (≈15 %), kas saistīta ar DNS reparācijas gēnu defektiem un mutācijām BAX, IGF2R, TGFβR2 u. c. gēnos. Mikrosatelītu nestabilitāte ir saistīta ar labāku prognozi nekā hromosomu nestabilitāte (Walther et al., 2009).

Onkoģenēzē iespējama arī zarnu epitēlija cilmes šūnu iesaiste. LGR5-pozitīvās cilmes šūnas, kurām raksturīgs ilgāks dzīves cikls un mutāciju uzkrāšanas potenciāls, tiek uzskatītas par nozīmīgām audzēja iniciācijā (Barker et al., 2009). Adenomatozos polipos LGR5-pozitīvās šūnas ir izplatītas visā bojājumā, savukārt hiperplastiskos un zobainos polipos tās lokalizējas bazāli (Baker et al., 2015).

Sporādiskā KRV gadījumā daļa audzēju attīstās pa alternatīvu zobaino ceļu (1.4. att.). Zobainos polipus (t. sk. sēdošās zobainās adenomas) raksturo BRAF mutācija un MAPK ceļa aktivācija. Kombinācijā ar CDX2 vai SMAD4 inaktivāciju tiek atjaunota cilmes šūnu proliferācija un veicināta neoplastiska transformācija (Sakamoto et al., 2017; Tong et al., 2017). Papildu mutācijas TP53 un TP16 gēnos nepieciešamas progresēšanai uz invazīvu audzēju (Rad et al., 2013).



1.4. attēls. **Onkoģenēzes ceļi**

Klasisko "adenomas–karcinomas" ceļu raksturo APC mutācija, hromosomu nestabilitāte, MSS. Audzējam, kas attīstās pārmantoto audzēju attīstības ceļā, raksturīga mikrosatelītu nestabilitāte (MSI-H). Tradicionālajam zobaina polipa ceļam ir raksturīgas KRAS un BRAF mutācijas, mikrosatelītu stabilitāte (MSS) un variabls CpG metilēšanas fenotips (CIMP). Plakanā zobainā polipa ceļam ir iespējami trīs atšķirīgi vēža attīstības veidi: 1) MSS, CIMP+, BRAFmut un KRASwt; 2) MLH1 promotera hipermetilācija, BRAFmut, KRASwt; 3) MLH1 promotera hipermetilācija, BRAFwt, KRASmut (Leggett et al., 2010)

1.3. Kolonoskopijas loma kolorektālā vēža profilaksē. Kolonoskopijas kvalitātes kritēriji

Kolonoskopija ir stūrakmens kolorektālā vēža (KRV) profilaksē, agrīnā diagnostikā un ārstēšanā. Augstas kvalitātes kolonoskopija būtiski samazina KRV sastopamību un mirstību, jo ļauj identificēt un rezicēt pirmsvēža veidojumus adenomas pirms to progresēšanas par invazīvu karcinomu (Siegel et al., 2020). Tradicionāli skrīnings rekomendēts no 50 gadu vecuma, tomēr, pieaugot agrīna sākuma KRV biežumam, jaunākās vadlīnijas iesaka skrīningu uzsākt jau no 45 gadu vecuma (American Cancer Society, 2018; Gupta et al., 2020).

Kolonoskopija nodrošina tiešu visas resnās un taisnās zarnas lumena vizualizāciju ar iespēju vienlaikus veikt diagnostiku un terapeitisku iejaukšanos. Adenomas–karcinomas modelis uzsver savlaicīgas adenomu rezekcijas nozīmi KRV profilaksē (Fearon & Vogelstein, 1990). Lieli prospektīvi pētījumi liecina, ka kvalitatīvi veikta kolonoskopija samazina KRV sastopamību un mirstību līdz pat 68 % (Nishihara et al., 2013; Brenner et al., 2014).

Tomēr efektivitāte ir tieši atkarīga no procedūras kvalitātes. Zemas kvalitātes izmeklējumi palielina pēckolonoskopijas kolorektālā vēža (PKKRV) risku – audzēju, kas diagnosticēts 3–5 gadu laikā pēc negatīvas kolonoskopijas (Kaminski et al., 2010; Bressler et al., 2007). Tādēļ definēti skaidri kvalitātes rādītāji: adenomu atklāšanas rādītājs (ADR), aklās zarnas kupola intubācijas biežums, instrumenta evakuācijas laiks un zarnas sagatavošanas kvalitāte. Lai nodrošinātu optimālu izmeklējuma kvalitāti, ir definēti specifiski kolonoskopijas kvalitātes rādītāji, piemēram, ADR, aklās zarnas kupola intubācijas rādītājs, instrumenta evakuācijas laiks un zarnas sagatavošanas kvalitāte.

Optiskās diagnostikas attīstība ir uzlabojusi izmeklējuma precizitāti. NICE klasifikācijas diagnostiskā precizitāte atšķiras atkarībā no polipa lokalizācijas – augstāka augšupejošajā un sigmveida zarnā, zemāka lejupejošajā; kopējā precizitāte 80,3 % (Hewett et al., 2012; Vilkoite et al., 2022), apliecinot tās klīnisko lietderību.

Mākslīgā intelekta (MI) integrācija būtiski uzlabo detekcijas rādītājus. Endoskopijas atbalsta sistēmas ar datorredzes palīdzību (ENDO-AID CADe) asistētas kolonoskopijas demonstrēja tendenci uz PDR un ADR pieaugumu, īpaši pēcpusdienas procedūrās (Vilkoite et al., 2023), norādot uz MI potenciālu kvalitātes uzturēšanā augstas slodzes apstākļos.

Procedūras kvalitāte ir būtiska arī šī darba kontekstā, jo tā ietekmē adenomu atklāšanas biežumu un mikrobioloģisko datu reprezentativitāti. Vecums ir nozīmīgs faktors: retrospektīvā pētījumā konstatēts būtisks polipu biežuma pieaugums pēc 50 gadu vecuma, tomēr arī jaunākiem pacientiem konstatēti distāli polipi (Vilkoite et al., 2023), aktualizējot skrīninga vecuma pārskatīšanu un individualizētas pieejas nepieciešamību.

1.3.1. Kolonoskopijas kvalitātes kritēriji

Kolonoskopijas kvalitāte tiek vērtēta pēc starptautiski atzītiem indikatoriem, kuru mērķis ir optimizēt pirmsvēža veidojumu noteikšanu un mazināt PKKRV risku (Rex et al., 2015; Kaminski et al., 2017).

Adenomu detekcijas rādītājs (ADR)

ADR ir kolonoskopiju proporcija, kurās konstatēta vismaz viena adenoma, un tas ir būtiskākais kvalitātes indikators. Katrs ADR pieaugums par 1 % saistīts ar 3 % KRV riska samazinājumu (Kaminski et al., 2010; Corley et al., 2014). Minimālais rekomendētais ADR skrīninga populācijā ir 25 % (Rex et al., 2014).

Aklās zarnas kupola intubācijas izdošanās

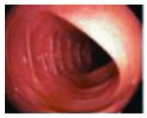
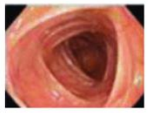
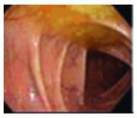
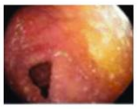
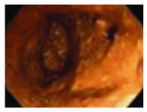
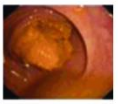
Pilnīgai resnās zarnas izvērtēšanai kupols jāintubē > 90 % vispārējā populācijā un > 95 % skrīninga populācijā (Kaminski et al., 2017). Nepilnīga intubācija palielina labās puses bojājumu nepamanīšanas risku (Chen et al., 2017).

Instrumenta evakuācijas laiks

Evakuācijas laiks no kupola korelē ar rūpīgāku gļotādas izvērtēšanu un augstāku ADR. ASGE rekomendē minimālo 6 minūšu evakuācijas laiku (Barclay et al., 2006; Rex et al., 2015).

Zarnas sagatavošanas kvalitāte

Adekvāta sagatavošana ir kritiski svarīga detekcijai. Nepietiekama sagatavošana samazina adenomu atklāšanu un palielina PKKRV risku. Kā redzams 1.5. attēlā, BBPS punktu skaits 6 vai augstāks parasti tiek uzskatīts par atbilstošu efektīvam skrīningam (Lai et al., 2009).

BBPS		3	2	1	0
3=Izcili 2=Labi 1=Slikti 0=Redzamības nav		 	 	 	 
KZ					
ŠZ					
LZ					
BBPS=					

1.5. attēls. **Bostonas zarnas sagatavošanas skala (*Boston Bowel Preparation Scale*, *BBPS*) zarnas tīrības kvalitātes novērtēšanai kolonoskopijas laikā**

BBPS izvērtē trīs zarnas segmentus – kreisā zarnas puse, šķērszarna un labā zarnas puse, no kurām katra tiek vērtēta skalā no 0 līdz 3:
3 – lieliska sagatavošanās, gļotāda pilnībā redzama, nav atlieku šķidruma vai fēču masu;
2 – laba sagatavošanās, neliela šķidruma vai fēču klātbūtne, taču gļotāda ir labi novērtējama;
1 – slikta sagatavošanās, gļotāda daļēji apskatāma;
0 – nepietiekama sagatavošanās, gļotāda praktiski nav izvērtējama.
Kopējais BBPS rezultāts tiek iegūts, summējot katra segmenta vērtējumu (kopvērtējums no 0 līdz 9 punktiem)

1.3.2. Komplikācijas

Drošība ir būtisks kvalitatīvas kolonoskopijas kritērijs. Biežākās komplikācijas ir asiņošana un perforācija, īpaši pēc polipektomijas. Lai gan kolonoskopija kopumā ir droša procedūra, izmeklējums jāveic atbilstoši apmācītam personālam, kas spēj savlaicīgi atpazīt un ārstēt komplikācijas. Komplikāciju biežums var ietekmēt sabiedrības uzticēšanos skrīningam un mazināt līdzdalību turpmākajos izmeklējumos (Rex et al., 2015).

1.3.3. Izmeklējuma dokumentācija un rekomendācijas

Kvalitatīva dokumentācija ir neatņemama procedūras sastāvdaļa. Protokolā jānorāda polipa izmērs, lokalizācija, morfoloģija, rezekcijas metode vai iemesls, kāpēc polips netika ablēts, kā arī rekomendētais kontroles intervāls. Precīza un skaidra dokumentācija uzlabo pacientu līdzestību un nodrošina secīgu uzraudzību (Rex et al., 2015).

Kvalitātes kritēriju ievērošana tieši ietekmē KRV profilakses efektivitāti. Augsts ADR, adekvāta aklās zarnas kupola intubācija un pietiekams evakuācijas laiks ir saistīti ar zemāku intervāla KRV risku. *Corley* et al. (2014) demonstrēja, ka endoskopistiem ar augstāku ADR bija būtiski mazāks intervāla vēža biežums. Arī adekvāta zarnu sagatavošana uzlabo veidojumu redzamību un palielina adenomu detekciju (Jain et al., 2015).

Neskatoties uz definētiem standartiem, kvalitātes atšķirības starp centriem un endoskopistiem saglabājas. Tādēļ daudzviet tiek ieviestas kvalitātes uzlabošanas programmas,

ietverot regulāru tālākizglītību un strukturētu atgriezenisko saiti (Rex et al., 2015; Kaminski et al., 2017).

Optiskā diagnostika un mākslīgais intelekts papildina klasiskos kvalitātes rādītājus. NICE klasifikācija demonstrē augstu histoloģijas prognozēšanas precizitāti, īpaši maziem polipiem (Vilkoite et al., 2022). MI asistētas kolonoskopijas uzrāda tendenci ar ADR un PDR pieaugumu, īpaši pēcpusdienas procedūrās (Vilkoite et al., 2023), kas norāda uz tehnoloģiju nozīmi kvalitātes stabilizēšanā.

Vecums ir nozīmīgs kvalitātes un skrīninga plānošanas aspekts. Analīzē konstatēts būtiski augstāks polipu biežums pacientiem > 50 gadu vecumā, bet jaunākiem pacientiem raksturīgas specifiskas lokalizācijas tendences (Vilkoite et al., 2023), kas papildina pierādījumus skrīninga vecuma pārskatīšanai.

Kopumā gan klasiskie kvalitātes indikatori (ADR, evakuācijas laiks, sagatavošanas kvalitāte), gan tehnoloģiskās inovācijas (MI, optiskā klasifikācija) būtiski uzlabo kolonoskopijas precizitāti un KRV profilakses efektivitāti.

1.4. Pacienta pareiza sagatavošana kolonoskopijas procedūrai

Adekvāta pacienta sagatavošana kolonoskopijai ir viens no būtiskākajiem kvalitatīva izmeklējuma priekšnoteikumiem. Tā nodrošina optimālu zarnu gļotādas vizualizāciju, palielina ADR un samazina atkārtotu izmeklējumu nepieciešamību nepietiekamas sagatavošanas dēļ (Rex et al., 2015). Nepilnīga zarnu sagatavošana ir saistīta ar samazinātu diagnostisko precizitāti, ilgāku procedūras laiku, paaugstinātu komplikāciju risku un sliktāku pacientu pieredzi (Wexner et al., 2006).

Zarnu tīrības pakāpes objektīvai novērtēšanai tiek izmantotas validētas klasifikācijas sistēmas, piemēram, Bostonas Zarnu sagatavošanas skala (*Boston Bowel Preparation Scale*, *BBPS*). Šajā skalā trīs resnās zarnas segmenti (labā, šķērs- un kreisā puse) tiek vērtēti no 0 līdz 3 punktiem (Lai et al., 2009). Kopējais rezultāts ≥ 6 punkti, ar vismaz 2 punktiem katrā segmentā, tiek uzskatīts par adekvātu kvalitatīvai izmeklēšanai (Jain et al., 2015).

1.4.1. Sagatavošanas metodes un šķīdumu izvēle

Pacienta sagatavošana kolonoskopijai ietver vairākus komponentus: pacientu izglītošanu un līdzestības veicināšanu, diētas ierobežojumus un caurejas līdzekļu lietošanu.

Polietilēnglikola (PEG) saturošie šķīdumi ir visplašāk izmantotie preparāti, nodrošinot efektīvu zarnu attīrīšanu ar zemu elektrolītu disbalansa risku (Martel et al., 2015). Lai uzlabotu panesību un līdzestību, arvien biežāk tiek izmantoti maza tilpuma preparāti un dalītas devas (*split-dose*) pieeja, kad puse šķīduma tiek lietota vakarā pirms izmeklējuma, bet atlikusī daļa – 4–6 stundas pirms procedūras (Enestvedt et al., 2012). Šī metode nodrošina labāku

sagatavošanas kvalitāti un augstāku adenomu detekcijas biežumu, īpaši labajā zarnas pusē (Enestvedt et al., 2012).

Alternatīvi iespējams lietot nātrija pikosulfāta vai magnija citrāta preparātus, tomēr tiem ir kontrindikācijas pacientiem ar nieru vai sirds mazspēju un elektrolītu traucējumiem (Belsey et al., 2007). Tādēļ sagatavošanas režīma izvēlei jābūt individualizētai, ņemot vērā pacienta vispārējo stāvokli un blakusslimības.

1.4.2. Diētas ierobežojumi pirms izmeklējuma

Diētas ieteikumi pirms kolonoskopijas ir būtisks faktors zarnu tīrības nodrošināšanā. Ir pierādīts, ka bezšķiedru diēta divas trīs dienas pirms izmeklējuma ir tikpat efektīva kā tikai šķidruma diēta, vienlaikus ievērojami uzlabojot pacientu komfortu un līdzestību (Nguyen et al., 2016). Bezšķiedru diēta pieļauj uzturā lietot viegli sagremojamus ēdienus ar zemu šķiedrvielu saturu, piemēram, baltmaizi, makaronus, olas, baltos rīsus, turpretim jāizvairās no dārzeņiem, augļiem un pilngraudu produktiem.

1.4.3. Pacientu izglītošana un līdzestības veicināšana

Nepietiekama informācija ir viens no biežākajiem zarnu nepietiekamas sagatavošanas iemesliem. Literatūrā norādīts, ka strukturēta mutiska vai rakstiska apmācība, audiovizuālie līdzekļi vai mobilās lietotnes būtiski uzlabo pacientu sagatavošanās kvalitāti un līdzestību (Elvas et al., 2016). Turklāt pacientu atbalsta sistēmas, piemēram, īsziņu atgādinājumi vai mākslīgā intelekta asistētas aplikācijas, kas informē par sagatavošanās laikiem vai atļauto uzturu, uzlabo rezultātus un samazina nesekmīgu kolonoskopiju skaitu nepilnīgi sagatavotas zarnas dēļ (Zhu et al., 2023).

1.4.4. Īpašās pacientu grupas

Zarnu sagatavošana jāpielāgo arī īpašām pacientu grupām. Senioriem, pacientiem ar hroniskām slimībām, cukura diabētu vai gastroparēzi, kā arī hospitalizētiem pacientiem ir nepieciešama individuāla pieeja. Piemēram, diabēta pacientiem jākoriģē pretdiabēta medikamentu lietošana pirms gatavošanās šķidruma lietošanas, lai novērstu hipoglikēmijas risku (Agha et al., 2021). Tāpat hroniska aizcietējuma gadījumos apsverama papildu stimulējošu līdzekļu iekļaušana sagatavošanās protokolā (Wexner et al., 2006).

1.5. Cilvēka mikrobioms: tā sastāvs, funkcijas un homeostāze

Cilvēka mikrobioma jēdziens pirmo reizi tika definēts 1988. gadā (Whipps et al., 1988), raksturojot to kā kolektīvu mikroorganismu ekosistēmu noteiktā biotopā. Šī definīcija ietver ne tikai pašus mikroorganismus, bet arī to gēnus, ribonukleīnskābi (RNS), olbaltumvielas, metabolītus un ar tiem saistītos bioķīmiskos procesus, kā arī apkārtējos vides faktorus (Whipps et al., 1988; Labus, 2017). Mikrobioma funkcionālais potenciāls būtiski ietekmē cilvēka fizioloģiju, tostarp vielmaiņu, imūnregulāciju un neiroendokrīnos mehānismus, un tas ir iesaistīts gan veselības uzturēšanā, gan slimību attīstībā (Brassler, 2012).

Savukārt mikrobiota attiecas uz konkrētā biotopā esošajām dzīvām mikroorganismu kopienām – baktērijām, sēnītēm, vienšūņiem un vīrusiem (Aagaard et al., 2020). Termini "mikrobiota" un "mikrobioms" nav sinonīmi: mikrobiota apzīmē mikroorganismus, bet mikrobioms ietver arī to ģenētisko un funkcionālo potenciālu (Berg et al., 2020). Mikrobioma struktūrā tiek iekļauti arī tādi nešūnu elementi kā bakteriofāgi, plazmīdas un brīvā DNS, kas funkcionāli ietekmē mikrobu kopienas dinamiku.

Cilvēka mikrobiotas sastāvs būtiski atšķiras dažādās ķermeņa lokalizācijās – zarnās, mutes dobumā, ādā un citur (The Human Microbiome Project Consortium, 2012). Mikrobu daudzveidību ietekmē uzturs, vide, ģenētiskie faktori un agrīnā dzīves posma mikrobiālā ekspozīcija (Turnbaugh et al., 2007). Mikrobioma attīstība sākas agrīnā dzīvē un saglabā augstu dinamiku visa mūža garumā, reaģējot uz uztura, dzīvesveida un medicīniskām intervencēm (Ursell et al., 2012).

Cilvēka organismā mitinās aptuveni 10–100 triljoni simbiotisku mikroorganismu šūnu, galvenokārt zarnu traktā. Jau Antonijs van Lēvenhuks novēroja mikrobu sastāva atšķirības dažādos ķermeņa reģionos (Lee et al., 2021). Mūsdienu pētījumi apstiprina ievērojamas intraindividuālas un interindividuālas variācijas ar īpaši augstu daudzveidību mutes dobumā un zarnās (Hou et al., 2022).

Atkarībā no lokalizācijas izšķir zarnu, mutes dobuma, ādas, plaušu un maksts mikrobiotu (Berg et al., 2020). No tām zarnu mikrobiota ir visplašāk pētītā, ņemot vērā tās nozīmi uzturvielu metabolismā, īso ķēžu taukskābju sintēzē, imūnsistēmas modulācijā un aizsardzībā pret patogēniem (Wang et al., 2018). Zarnu mikrobioma homeostāze ir kritiska sistēmiskas veselības uzturēšanai, savukārt disbioze ir saistīta ar dažādu hronisku slimību attīstību.

1.5.1. Mikrobioma sastāva un funkciju ietekmējošie faktori

Zarnu mikrobioma sastāvu un funkcionalitāti var mainīt uztura paradumi, ķirurģiskas iejaukšanās, medikamenti un vides ietekme, un šīs izmaiņas var ietekmēt saimniekorganisma veselību (Rothschild et al., 2018). Pētījumā, kurā piedalījās 8208 indivīdi, atklājās, ka

ģenētiskie faktori ietekmē tikai 6,6 % zarnu mikrobu taksonomisko vienību, turpretim 48,6 % mikrobiomu variāciju tika novērots starp indivīdiem, kas dzīvoja vienā mājsaimniecībā, uzsverot vides un dzīvesveida faktoru nozīmi (Gacesa et al., 2018).

Arī vecumam ir loma mikrobioma daudzveidībā, un būtiskas atšķirības dažādos dzīves posmos tiek novērotas zarnas, ādas un mutes mikrobiomos. Piemēram, zarnu mikrobioma sastāvs ievērojami atšķiras jauniem pieaugušajiem, senioriem un simtgadniekiem, iespējams, gan fizioloģisku izmaiņu, gan uzkrātās vides ietekmes dēļ (Wu et al., 2020). Ir novērotas arī dzimumu atšķirības – sievietēm parasti ir lielāka mikrobioma daudzveidība nekā vīriešiem; specifiskais mikrobu sastāvs var atšķirties hormonālās ietekmes un imūnsistēmas atšķirību dēļ (Yoon K, 2021).

1.5.2. Mikrobioma loma veselībā un slimībās

Cilvēka mikrobioms veicina indivīda veselību, veicot būtiskas funkcijas, piemēram vielmaiņas procesus, imūnmodulāciju un gļotādas barjeras uzturēšanu. Piemēram, īsās ķēdes taukskābes (SCFA), kas ir mikrobu fermentācijas produkti, kalpo kā enerģijas avoti resnās zarnas šūnām, un tām ir pretiekaisuma iedarbība (Berg et al., 2020). Mikrobioms piedalās barības vielu šķelšanā, būtisku vitamīnu (piemēram, K un B grupas vitamīnu) sintēzē un polisaharīdu degradācijā, kas tiešā veidā ietekmē saimniekorganisma enerģijas metabolismu un uzturvielu uzsūkšanos (Ley et al., 2005).

Nelīdzsvarotība mikrobiomā jeb disbioze ir saistīta ar vairākām slimībām, piemēram, metabolisko sindromu, autoimūniem stāvokļiem un gremošanas trakta saslimšanu. Disbiozi var izraisīt dažādi faktori, piemēram, antibiotiku lietošana, diētas izmaiņas vai hronisks stress, un tā norit ar mikrobu kopienas struktūras un funkciju traucējumiem (Maier et al., 2020). Akceptējot "zarnu–orgānu ass" konceptu, pēc kura zarnas mikrobioms ietekmē arī citas ķermeņa sistēmas, piemēram, aknas un centrālo nervu sistēmu, zarnas mikrobiotas izmaiņas ir saistītas arī ar sistēmiskām slimībām ārpus gremošanas trakta (Mizutani et al., 2022).

1.5.3. Mikrobioms kā terapeitiskas iejaukšanās mērķis

Ņemot vērā mikrobioma kritisko lomu indivīda veselības uzturēšanā, mikrobioms arvien vairāk tiek pētīts kā terapeitisks mērķis, jo īpaši personalizētai medicīnai vielmaiņas un autoimūno slimību gadījumā. Tādas stratēģijas kā diētas korekcijas, probiotikas, prebiotikas un fēču mikrobiotas transplantācija (FMT) uzrāda daudzsološus efektus mikrobioma sastāva modulēšanā un mikrobu līdzsvara atjaunošanā disbiozes gadījumos (Berg et al., 2020). FMT plaši izmanto atkārtotu *Clostridioides difficile* infekciju ārstēšanā, un to var izmantot arī citos gremošanas trakta un vielmaiņas traucējumos, lai gan tā mehānismi joprojām tiek pētīti (Ley et al., 2005).

Pieaugošā izpratne par mikrobioma sarežģīto mijiedarbību ar cilvēka ķermeni nodrošina daudzsološu ceļu slimību profilaksei un ārstēšanai. Pašreizējo pētījumu mērķis ir vēl vairāk noskaidrot mikrobioma īpašās lomas un izstrādāt metodes, kas šīs zināšanas izmantotu veselības uzlabošanai un slimību profilakses kontrolei.

1.6. Resnās zarnas mikrobioms: sastāvs un galvenie baktēriju pārstāvji resnās zarnas veselības uzturēšanā

Cilvēka zarnas mikrobioms ir plaša un sarežģīta mikroorganismu kopiena, un resnajā zarnā atrodas visblīvākā mikrobu populācija organismā; tiek uzskatīts, ka tajā ir vairāk nekā 1000 sugu un triljoniem atsevišķu šūnu (Sender et al., 2016). Šī mikrobu ekosistēma veic vairākas būtiskas funkcijas resnās zarnas veselības uzturēšanai, tostarp barības vielu metabolismu, imūnās sistēmas modulāciju un aizsardzību pret patogēniem mikroorganismiem (Lynch et al., 2016). Pētījumi arvien vairāk uzsver specifisku baktēriju sugu un ģinšu nozīmi, un katrai no tām ir unikāla loma homeostāzes un vispārējās cilvēka veselības veicināšanā.

1.6.1. Zarnas mikrobioma sastāvs

Zarnu mikrobiomu pārsvarā veido baktērijas, lai gan atrodami arī vienšūņi, sēnes un vīrusi. Baktērijas resnajā zarnā tiek iedalītas četrās primārajās dzimtās: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* un *Proteobacteria* (Qin et al., 2010). Šīs grupas darbojas sinerģiski un veic šķiedrvielu fermentāciju, SCFA sintēzi un saimniekorganisma imūnsistēmas modulāciju (Lozupone et al., 2012). Papildus šīm dominējošajām sugām sastop arī retākus pārstāvjus, piemēram, *Verrucomicrobia* un *Fusobacteria* (Eckburg et al., 2005).

Katra indivīda zarnu mikrobioma sastāvs atšķiras, un to ietekmē diēta, vecums, ģenētika un dzīvesveida faktori (Zhernakova et al., 2016). Šīs dinamiskās iezīmes ļauj mikrobiomam pielāgoties vides izmaiņām, bet disbioze, mikrobu skaita nelīdzsvarotība, ir saistīta ar, piemēram, iekaisīgām zarnu slimībām (IZS), aptaukošanos un kolorektālo vēzi (Halfvarson et al., 2017).

1.6.2. Galvenās baktēriju dzimtas

Firmicutes

Viena no biežāk sastopamajām grampozitīvajām dzimtām resnajā zarnā. *Firmicutes* ģintis ir *Faecalibacterium*, *Clostridioides*, *Ruminococcus* un *Lachnospira* (Lagier et al., 2012). Daudzas no šīm baktērijām ir pazīstamas ar savu lomu šķiedrvielu fermentācijā par SCFA – butirātu, acetātu un propionātu, kas ir neatņemamas resnās zarnas veselības sastāvdaļas. SCFA, īpaši butirāts, kalpo kā primārais enerģijas avots kolonocītiem, atbalsta gļotādas integritāti jeb veselumu, nodrošinot pretiekaisuma efektus (Canani et al., 2011). Pateicoties tās pretiekaisuma īpašībām un spējai modulēt imūnās atbildes reakcijas resnajā zarnā, *Faecalibacterium*

prausnitzii, viena no visizplatītākajām *Firmicutes* sugām, bieži tiek uzskatīta par veselīgas zarnas marķieri (Miquel et al., 2013).

Bacteroidetes

Gramnegatīvas baktērijas, īpaši svarīgas ir *Bacteroides* un *Prevotella* ģintis. Šīs baktērijas ir iesaistītas ogļhidrātu metabolismā, un tām ir nozīmīga loma šķiedrvielu sadalīšanā vienkāršākās molekulās, ko citas zarnu baktērijas var izmantot enerģijas ražošanai (Flint et al., 2012). *Bacteroides* sugas spēj šķelt uztura savienojumus, kurus cilvēka enzīmi nesagremo, tādā veidā paplašinot saimniekorganisma vielmaiņas spējas (Wexler, 2007). Mijiedarbojoties ar saimnieka imūnām šūnām un veicinot līdzsvarotu imūnreakciju, kas ir būtiska hroniska iekaisuma profilaksei, *Bacteroidetes* dzimtas locekļi palīdz uzturēt imūno homeostāzi (Round et al., 2009).

Aktinobaktērijas

Aktinobaktērijas ir mazāk izplatītas nekā *Firmicutes* un *Bacteroidetes*. Šajā grupā ietilpst *Bifidobacterium* – ģints, kas ir īpaši nozīmīga ar krūti barotu zīdaiņu zarnu mikrobiotā, un ir zināms, ka tā ražo etiķskābi un pienskābi, kas pazemina zarnu pH un kavē patogēnu kolonizāciju (O'Callaghan et al., 2016). Šīs baktērijas arī ražo SCFA, kam ir imūnmodulējoša darbība, uzlabojot regulējošo T-šūnu darbību (Turroni et al., 2014). *Bifidobacterium* trūkums vai izsīkums parasti tiek novērots disbiotiskos stāvokļos, piemēram, iekaisīgu zarnu slimību gadījumos (Davenport et al., 2014).

Proteobaktērijas

Proteobaktēriju skaits var palielināties disbiozes gadījumā, kalpojot par potenciālu zarnu iekaisuma un slimību biomarķieri (Shin et al., 2015). *Escherichia*, *Klebsiella* un *Enterobacter* ir izplatītas ģintis, un to aktīvāka augšana bieži ir saistīta ar iekaisīgām zarnu slimībām un citiem gremošanas trakta traucējumiem (Mukhopadhya et al., 2012). Lai gan daži proteobaktēriju locekļi ir komensāli, citi, īpaši patogēni celmi, var veicināt iekaisumu un ietekmēt zarnu sieniņas integritāti.

1.6.3. Galveno ģinšu funkcionālās lomas

Daudzveidīgās baktēriju ģintis darbojas kopā, lai veiktu vielmaiņas funkcijas, kas ir būtiskas resnās zarnas veselības uzturēšanai. Piemēram, *Faecalibacterium* un *Clostridioides* sugas ražo butirātu, kas atbalsta epitēlija barjeru un kam piemīt pretiekaisuma darbība (Canani et al., 2011). *Bacteroides* un *Prevotella* šķeļ saliktos polisaharīdus par SCFA un citiem metabolītiem, nodrošinot enerģiju citām mikrobu sugām (Flint et al., 2012). Bifidobaktēriju

sugas palīdz uzturēt zemu pH līmeni zarnās, radot vidi, kas kavē patogēnu augšanu (O'Callaghan et al., 2016).

Šī simbiotiskā saikne starp dažādām baktēriju sugām ir būtiska, lai aizsargātu saimniekorganismu pret patogēniem mikrobiem un ražotu pretmikrobu savienojumus. Šī līdzsvara traucējumi var izraisīt disbiozes stāvokli, kad labvēlīgo mikrobu kopienu izkonkurē potenciāli patogēnās baktērijas, izraisot hronisku iekaisumu (Lopetuso et al., 2013).

1.7. Resnās zarnas mikrobiotas funkcijas

Galvenās mikrobiotas funkcijas ietver šķiedrvielu fermentāciju par SCFA, gļotādas barjeras veseluma uzturēšana un imūnsistēmas modulācija. Mijiedarbība starp resnās zarnas mikrobiotu un saimniekorganisma fizioloģiju ir sarežģīta, ietekmējot saimniekorganisma saslimšanas riskus, kā arī vispārējo vielmaiņu (O'Hara et al., 2006; Sonnenburg et al., 2016).

1.7.1. Resnās zarnas mikrobiotas vielmaiņas funkcijas

Resnās zarnas mikrobiotas vielmaiņas spējas ievērojami uzlabo saimnieka iespējas iegūt enerģiju no nesagremojamiem uztura komponentiem. Viens no svarīgākajiem mikrobu fermentācijas produktiem ir SCFA, īpaši butirāts, acetāts un propionāts, kas rodas, sadaloties šķiedrvielām (Macfarlane et al., 2012). Butirāts ir galvenais kolonocītu enerģijas avots, un to galvenokārt ražo *Faecalibacterium*, *Roseburia* un *Eubacterium* baktēriju ģintis (Flint et al., 2012). Zarnu mikrobiotas ražotās SCFA veicina dažādas fizioloģiskas funkcijas. Piemēram, butirāts veicina pretiekaisuma ceļus, kas atbalsta zarnu barjeras integritāti un var regulēt gēnu ekspresiju, izmantojot epiģenētiskus mehānismus (Canani et al., 2011). Butirāts darbojas kā histona dezacetilāzes (HDAC) inhibitors, izraisot pastiprinātu histona acetilāciju. Tādā veidā hromatīna struktūra pavājinās, ļaujot labāk piekļūt transkripcijas faktoriem DNS un veicināt to gēnu ekspresiju, kas iesaistīti zarnu barjeras integritātes uzturēšanā (Canani et al., 2012). Papildus butirāts nomāc NF-κB signālu ceļu, kas ir galvenais iekaisuma regulators. Inhibējot NF-κB, butirāts samazina proiekaisuma citokīnu veidošanos, veicinot stabilāku un mazāk caurlaidīgu zarnu barjeru (Segain et al., 2000).

Propionāts un acetāts tiek absorbēti asinsritē, kur tiem ir nozīme glikozes homeostāzē, lipīdu metabolismā un apetītes regulēšanā (Louis et al., 2014). Pētījumi liecina, ka diēta ar augstu šķiedrvielu daudzumu, kas veicina SCFA sintēzi, ir saistīta ar samazinātu vielmaiņas slimību risku, vēl vairāk uzsverot resnās zarnas mikrobiotas nozīmi vielmaiņas funkciju nodrošināšanā (De Filippo et al., 2010).

1.7.2. Imunoloģiskās funkcijas un imūnmodulācija

Resnās zarnas mikrobiotai ir būtiska loma imūnsistēmas izglītošanā un modulēšanā. Līdzsvarots mikrobioms atbalsta imūno toleranci, savukārt disbioze vai mikrobu sastāva nelīdzsvarotība var izraisīt vai saasināt iekaisuma procesus (Belkaid et al., 2014). Pastāv vairāki mehānismi, ar kuriem zarnu mikrobiota spēj modulēt imūnreakciju, piemēram, mijiedarbība ar ar zarnām saistītajiem limfoīdajiem audiem (GALT), metabolītu, piemēram, SCFA un citokīnu ražošanas regulācija.

Zarnu baktērijas cieši mijiedarbojas ar GALT, kas satur imūnās šūnas, piemēram, makrofāgus, dendrītiskās šūnas un T un B limfocītus. Butirāts uzlabo regulējošo T-šūnu (*Tregs*) diferenciāciju, kas ir svarīgas imūnās tolerances uzturēšanai (Smith et al., 2013). Veicinot *Treg* šūnu diferenciāciju, butirāts veicina līdzsvarotu imūnreakciju, kas palīdz novērst autoimūnas un iekaisuma slimības.

Specifiski mikrobu komponenti, piemēram, lipopolisaharīdi (LPS) no gramnegatīvām baktērijām un peptidoglikāni no grampozitīvām baktērijām, var stimulēt imūnreceptorus, piemēram, *Toll* līdzīgus receptorus (TLR) uz zarnu epitēlija šūnu un imūno šūnu virsmas. Šī stimulācija aktivē signālceļus, kas izraisa iekaisuma reakcijas, apmācot imūnsistēmu atšķirt patogēnās un komensālās baktērijas (Round et al., 2009). Šī mijiedarbība ir svarīga, lai izveidotu labi regulētu imūnsistēmu, kas var aizsargāties pret patogēniem, vienlaikus saglabājot toleranci pret labvēlīgiem mikrobiem.

1.7.3. Resnās zarnas mikrobiotas aizsargājošās lomas

Viena no resnās zarnas mikrobiotas primārajām aizsargfunkcijām ir novērst patogēnu mikroorganismu kolonizāciju. Resnās zarnas mikrobiota izveido stabilu kopienu, kas konkurē ar potenciālajiem patogēniem par barības vielām un piestiprināšanas vietām uz gļotādas virsmas. Šis process pazīstams kā "kolonizācijas rezistence" (Buffie et al., 2013). Radot konkurējošu vidi, komensālās baktērijas kavē patogēno baktēriju augšanu un vairošanos zarnās. Butirāta sintēze vēl vairāk nostiprina šo aizsargbarjeru, uzlabojot gļotādas slāņa integritāti. Tiek stimulēta mucīna ražošana kausveida šūnās, veidojot biezu gļotu slāni, kas darbojas kā fiziska barjera starp zarnu mikrobiem un epitēlija virsmu (Wrzosek et al., 2013). Gļotu slānis apvienojumā ar pretmikrobu peptīdiem, ko ražo zarnu epitēlijs, veido divu līmeņu aizsardzības sistēmu pret patogēniem. Šis slānis ierobežo baktēriju translokāciju un samazina sistēmisku infekciju risku (Johansson et al., 2013).

Resnās zarnas mikrobiota spēj ražot dažādus pretmikrobu savienojumus, piemēram, bakteriocīnus, kas selektīvi kavē patogēnu augšanu. *Lactobacillus* un *Bifidobacterium* ražo šīs vielas, lai kavētu konkurējošo patogēno baktēriju augšanu (Anjana et al., 2022). Šī pretmikrobu

iedarbība palīdz uzturēt līdzsvarotu mikrobu vidi un neļauj patogēnajiem mikrobiem augt pāraktīvi.

1.7.4. Gļotādas barjeras integritātes uzturēšana

Resnās zarnas mikrobiotai ir izšķiroša loma zarnu epitēlija barjeras integritātes saglabāšanā. Šī barjera atdala saimnieka iekšējo vidi no ārējās mikrobu pasaules. Butirāts veicina blīvo savienojumu proteīnu ekspresiju, kas stiprina šūnu adhēziju, tādējādi samazinot zarnu caurlaidību (Ghosh S et al.). Šis efekts ir būtisks, lai novērstu kaitīgo mikrobu un toksīnu iekļūšanu asinsritē, ja tas tiek traucēts, attīstās fenomens, ko dēvē par zarnas caurlaidīgumu jeb *leaky gut*.

Saglabājot ciešo savienojuma integritāti, mikrobiota palīdz novērst mikrobu pārvietošanos, kas izraisa sistēmisku iekaisumu un veicina tādu slimību attīstību kā metabolais sindroms un IZS (Di Vincenzo F et al., 2024). Ar SCFA izraisītā ciešo savienojumu nodrošināšana, kā arī gļotu un pretmikrobu peptīdu sintēze liecina, kā resnās zarnas mikrobiota veicina gļotādas barjeras fizisko aizsardzību.

1.8. Mikrobiotas un saimnieka mijiedarbība

1.8.1. Mikrobiota un imūnsistēmas iesaistīšanās

Zarnu mikrobiota ir neatņemama saimnieka imūnsistēmas attīstības un funkcionēšanas sastāvdaļa, un tai ir būtiska loma imūno šūnu diferenciācijā, gļotādas imunitātē un aizsardzībā no patogēniem (Honda et al., 2016; Belkaid et al., 2014). Mikroorganismu antigēni, piemēram, LPS no gramnegatīvām baktērijām un peptidoglikāni no grampozitīvām baktērijām, tiek atpazīti ar modeļa atpazīšanas receptoriem (*pattern recognition receptors – PRR*) imūnās šūnās. Starp šiem receptoriem svarīgākie ir *Toll* tipa receptori (TLR) un NOD tipa receptori (*nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors*), kuru aktivācija uzsāk signālceļus, kas regulē gan iedzimtās, gan adaptīvās imūnās atbildes reakcijas (Round & Mazmanian, 2009).

Viena no galvenajām mijiedarbībām starp mikrobiotu un imūnsistēmu ir regulējošo T-šūnu (*Tregs*) inducēšana, kas ir būtiska imūnai tolerancei un iekaisuma profilaksei (Atarashi et al., 2011). Ir pierādīts, ka SCFA, piemēram, butirāts, ko ražo komensālas baktērijas, fermentējot uztura šķiedrvielas, izraisa *Treg* diferenciāciju, iesaistoties imūnās šūnās ar G-proteīnu savienotajiem receptoriem (GPR) un modulējot histona acetilāciju, kas maina gēnu ekspresiju (Furusawa et al., 2013). Šī mijiedarbība parāda, kā mikrobu metabolīti tieši ietekmē imūno šūnu darbību un veicina gļotādas homeostāzes uzturēšanu, kas ir ļoti svarīga, lai novērstu tādus apstākļus kā IZS.

Mikrobiotas komponenti ietekmē arī citas imūnās šūnas, piemēram, dendrītiskās šūnas un makrofāgus. Dendritiskās šūnas apstrādā un prezentē mikroorganismu antigēnus T-šūnām,

veicinot toleranci pret komensālajām baktērijām, savukārt zarnu makrofāgi veic patogēnu fagocitozi, vienlaikus saglabājot zemu iekaisuma līmeni (Hooper et al., 2012).

1.8.2. Mikrobu metabolīti

Mikrobiotas metabolīti kalpo kā molekulāri signāli, kas ietekmē saimniekšūnu funkcijas ārpus gremošanas trakta. SCFA butirātam, acetātam un propionātam ir būtiska loma šūnu enerģijas metabolismā un zarnu barjeras integritātes nodrošināšanā (Schulthess J et al., 2019). Kvalitatīva, intakta zarnas barjera ierobežo patogēnu un mikroorganismu produktu translokāciju asinsritē, mazinot sistēmisku iekaisumu un aizsargājot pret metabolo sindromu un citiem iekaisīgiem stāvokļiem (Takiishi T, 2017).

Citi SCFA metabolīti, piemēram, indola atvasinājumi no triptofāna metabolisma, ietekmē imūno signālu ceļus. Šie atvasinājumi mijiedarbojas ar arilogļūdeņraža receptoru (AhR), kas ir saimniekšūnu transkripcijas faktors un regulē imūnās atbildes reakcijas un epitēlija šūnu diferenciāciju. AhR aktivācija ir saistīta ar pastiprinātu zarnu barjeru un līdzsvarotu imūnreakciju, uzsverot no mikrobiotas iegūto metabolītu lomu gļotādas veselībā (Zelante et al., 2013).

Svarīga ir arī mikrobu žultsskābju metabolisma loma. Zarnu mikroorganismi pārveido primārās žultsskābes par sekundārajām, kas mijiedarbojas ar receptoriem, piemēram, farnesoīda X receptoru (FXR) un G-proteīnu saistīto žultsskābju receptoru (TGR5). Šī mijiedarbība regulē lipīdu metabolismu, glikozes homeostāzi un iekaisuma procesus, tādējādi mikrobiotas metabolīti būtiski ietekmē ne tikai lokālu, bet arī sistēmisku saimnieka veselību (Ridlon et al., 2014).

1.9. Disbiozes jēdziens, veidi, cēloņi un sekas

Termins “disbioze” apzīmē nelīdzsvarotību mikrobu ekosistēmā, īpaši zarnu traktā, kur mikroorganismu kopienas novirzās no eibiozes jeb veselīga vai līdzsvarota stāvokļa. Labi funkcionējošs zarnas mikrobioms atbalsta gremošanas, imūnās funkcijas un vielmaiņas procesus, taču disbioze izjauc šos procesus, izraisot dažādus veselības traucējumus.

1.9.1. Disbiozes veidi

Disbioze izpaužas dažādos veidos:

1. Samazināta mikrobu daudzveidība

Pilnvērtīgs zarnas mikrobioms ir daudzveidīgs, ar dažādām baktēriju sugām, kurām ir atšķirīgas un papildinošas funkcijas. Samazināta daudzveidība bieži nozīmē, ka dominē ierobežots sugu skaits, kas samazina sistēmas funkcionālās spējas. Šī daudzveidības samazināšanās ir saistīta ar IZS, aptaukošanos un citiem hroniskiem stāvokļiem (Lozupone

et al., 2012). Zema daudzveidība ierobežo mikrobu funkciju izpildi, piemēram, SCFA ražošanu, kā rezultātā tiek traucētas imūnās un vielmaiņas funkcijas.

2. Patogēno sugu pāraktīva augšana

Disbiozi raksturo patogēno vai oportūnistisku patogēnu aktīva augšana un vairošanās. Piemēram, tievās zarnas baktēriju pāraktīvas augšanas (SIBO) gadījumā novēro baktēriju pārmērīgu kolonizāciju tievajā zarnā, izraisot tādus simptomus kā vēdera pūšanās, caureja un pat malabsorbcija (Pimentel et al., 2020). *Clostridioides difficile* infekcija ir vēl viens piemērs, kad var rasties patogēna pāraktīva augšana un vairošanās, bieži pēc antibiotiku lietošanas, izraisot smagu zarnas gļotādas iekaiumu un progresējošu caureju (Leffler et al., 2015).

3. Labvēlīgo baktēriju zudums

Daudzas labvēlīgās baktērijas, piemēram, *Lactobacillus* un *Bifidobacterium* sugas, palīdz uzturēt zarnu veselību, ražojot SCFA, uzlabojot barjeras funkciju un modulējot imūnās atbildes (Rios-Covian et al., 2016). Disbioze, kas saistīta ar šo labvēlīgo mikrobu skaita samazināšanos, var palielināt uzņēmību pret infekcijām, traucēt imūno regulāciju un izraisīt hronisku iekaisumu. Šis labvēlīgo mikrobu zudums sastopams tādos apstākļos kā kairinātas zarnas sindroms un aptaukošanās (DeGruttola, A. K. et al., 2018).

1.9.2. Disbiozes cēloņi

Disbiozi var izraisīt dažādi faktori – diēta, antibiotiku lietošana, dzīvesveida paradumi un ģenētiski faktori. Katram faktoram ir unikāla ietekme uz mikrobu kopienām, bieži vien atbalsot vidi, kurā var attīstīties patogēnās sugas un samazināties labvēlīgo sugu skaits.

1. Diēta

Ēšanas paradumi būtiski ietekmē zarnas mikrobioma sastāvu. Diētas, kas bagātas ar šķiedrvielām, veicina labvēlīgo baktēriju vairošanos, savukārt diētas ar augstu rafinētu cukuru un tauku saturu veicina proinflamatoro baktēriju augšanu un vairošanos (Graf et al., 2015). Piemēram, diēta, kas balstīta uz dzīvnieku izcelsmes produktu lietošanu uzturā, ir saistīta ar *Bacteroides* pieaugumu un *Firmicutes* samazināšanos, kas bieži ir saistīts ar iekaisuma reakcijām un disbiozi (Rinninella, E. et al., 2023).

2. Antibiotikas

Lai gan antibiotikas ir būtiskas bakteriālu infekciju ārstēšanai, tās var izjaukt zarnu mikrobioma līdzsvaru, kopā ar patogēniem likvidējot arī labvēlīgās baktērijas. Antibiotiku izraisīta disbioze var saglabāties ilgi pēc terapijas, radot vidi, kas ir uzņēmīga pret tādiem patogēniem kā *C. dicile* (Jernberg et al., 2010). Atkārtota vai ilgstoša antibiotiku lietošana vēl vairāk pasliktina šo nelīdzsvarotību, izraisot ilgstošas izmaiņas, kas var izraisīt hroniskas slimības.

3. Dzīvesveida faktori

Mazkustīgs dzīvesveids, hronisks stress un slikta miega kvalitāte var veicināt disbiozi. Fiziskās aktivitātes ir saistītas ar palielinātu mikrobu daudzveidību, savukārt hronisks stress, mainoties zarnu kustīgumam, var izraisīt izmaiņas zarnas mikrobiotā un sekojoši arī imūnsistēmā (Wegierska, A. E. et al., 2022). Nepietiekams un nekvalitatīvs miegs veicina disbiozi, kas var rezultēties ar vielmaiņas traucējumiem (Sun, J. et al., 2023).

4. Ģenētiska predispozīcija

Ģenētiskajiem faktoriem ir nozīme arī indivīda mikrobiotas sastāva noteikšanā. Daži ģenētiski varianti var ietekmēt imūnās atbildes reakciju pret zarnu mikrobiem, padarot indivīdus jutīgākus pret stāvokļiem, saistītiem ar disbiozi, piemēram, IZS un citiem autoimūniem traucējumiem (Cohen, L. J. et al., 2019).

1.9.3. Disbiozes sekas

1. Iekaisums

Disbioze bieži izraisa proiekaisuma stāvokli zarnās, kas var rezultēties ar sistēmisku iekaisumu. Patogēnās baktērijas, mijiedarbojoties ar imūnajām šūnām un atbrīvojot endotoksīnus, piemēram, LPS, kas stimulē iekaisuma citokīnu izdalīšanos, var veicināt iekaisumu (Kamada et al., 2013). Hronisks iekaisums, ko izraisa disbioze, ir riska faktors gan metabolajam sindromam, gan aptaukošanās iespējamībai un 2. tipa diabētam (Cani et al., 2008).

2. Pastiprināta zarnas barjeras caurlaidība

Disbioze var apdraudēt zarnu barjeras integritāti, izraisot pastiprinātu zarnas caurlaidību, ko dēvē par *leaky gut*. Šis stāvoklis ļauj baktērijām un toksīniem iekļūt asinsritē, potenciāli izraisot imūnās atbildes reakcijas un iekaisumu. Pastiprināta zarnas barjeras caurlaidība ir saistīta ar dažādām autoimūnām slimībām, piemēram, reimatoīdo artrītu un celiakiju (Fasano, 2020).

3. Metabolas izmaiņas

Disbioze ir saistīta ar vielmaiņas izmaiņām, kas ietekmē arī jutību pret insulīnu. Izmainītais mikrobioma sastāvs var samazināt SCFA ražošanu, kas regulē enerģijas homeostāzi un lipīdu metabolismu. Līdz ar to disbioze var izraisīt insulīna rezistenci un metabolo sindromu (Tilg & Moschen, 2014). Zināms, ka *Firmicutes* un *Bacteroidetes* attiecības skaita palielināšanās ir saistītas ar aptaukošanos (Ley et al., 2005).

1.10. Zarnu mikrobiotas loma kolorektālu adenomu attīstībā

Zarnas mikrobiota ir atzīta par nozīmīgu faktoru kolorektālu adenomu, kas ir labdabīgi KRV prekursori, attīstībā. Tiek uzskatīts, ka adenomu veidošanos sekmē dažādas baktēriju sugas un ar mikrobiotu saistīti mehānismi, piemēram, mikroorganismu toksīni, iekaisums un tiešie DNS bojājumi.

1.10.1. Mikrobu ietekme uz adenomu attīstību

Pieaug pierādījumu skaits, kas liecina par specifisku baktēriju sugu saistību ar kolorektālo adenomu veidošanos. Svarīgākās no tām ir *Fusobacterium nucleatum*, *Escherichia coli* un *Bacteroides fragilis*, kurām ir potenciāli nozīmīga loma audzēja ģenēzes agrīnajos posmos.

Fusobacterium nucleatum

Pētījumi konsekventi apliecina, ka obligāti anaerobā baktērija *Fusobacterium nucleatum* ir konstatējama gan kolorektālo adenomu, gan KRV audos, turklāt tās relatīvā sastopamība korelē ar audzēja progresijas pakāpi (Kostic et al., 2013; Castellarin et al., 2012). Šie dati norāda, ka *F. nucleatum* var būt iesaistīta agrīnos neoplastiskos procesos un potenciāli piedalīties adenomu transformācijā uz invazīvu karcinomu.

Molekulārā līmenī *F. nucleatum* iedarbība uz epitēliju ir saistīta ar vairāku signālceļu aktivāciju. Viens no centrālajiem mehānismiem ir *FadA* (*Fusobacterium adhesin A*) adhezīna mijiedarbība ar E-kadherīnu uz resnās zarnas epitēlija šūnu virsmas. *FadA* un E-kadherīna saistīšanās destabilizē E-kadherīna un β-katenīna kompleksu, veicinot β-katenīna translokāciju uz kodolu un Wnt/β-katenīna signālceļa aktivāciju (Rubinstein et al., 2013). Kodola βkatenīns inducē proliferācijas gēnu, tostarp *MYC* un *CCND1*, ekspresiju, tādējādi veicinot šūnu cikla progresiju un proliferāciju – mehānismu, kas ir centrāls adenomas attīstībā.

Papildus Wnt ceļa aktivācijai *F. nucleatum* spēj aktivēt *Toll* līdzīgo receptoru 4 (TLR4) uz epitēlija šūnām un imūnšūnām, kas izraisa MyD88 atkarīgu NF-κB signālceļa aktivāciju (Kostic et al., 2013; Yang et al., 2017). NF-κB aktivācija veicina proiekaisuma citokīnu, piemēram, IL-6, IL-8 un TNF-α, ekspresiju, radot hronisku zemas pakāpes iekaisuma mikrovidi, kas sekmē audzēja veidošanos. IL-6 savukārt aktivē JAK/STAT3 signālceļu, kas stimulē šūnu izdzīvošanu, proliferāciju un angioģenēzi.

F. nucleatum virsmas proteīns Fap2 papildus veicina audzēja progresiju, saistoties ar TIGIT receptoru uz dabīgajām killer (NK) šūnām un T-limfocītiem, tādējādi nomācot pretaudzēja imūnreakciju (Gur et al., 2015). Šī imūnsupresīvā iedarbība ļauj audzēja šūnām izvairīties no imūnās kontroles un sekmē mikrovides toleranci pret neoplastiskām šūnām.

Turklāt pierādīts, ka *F. nucleatum* aktivē PI3K/AKT un MAPK/ERK signālceļus, kas papildina proliferatīvo un antiapoptotisko signālu kaskādi (Yu et al., 2017). Šo ceļu aktivācija veicina šūnu izdzīvošanu, samazina apoptozi un var veicināt ķīmijrezistences attīstību progresējošos KRV gadījumos.

Kopumā *F. nucleatum* ietekme uz adenomu attīstību balstās uz trim savstarpēji saistītiem mehānismiem – Wnt/β-katenīna ceļa aktivāciju un proliferācijas stimulāciju, TLR4/NF-κB mediētu hroniska iekaisuma uzturēšanu un imūnmodulāciju caur Fap-TIGIT mijiedarbību un adaptīvās imunitātes nomākšanu. Šo signālceļu sinerģiska aktivācija rada mikrovidi, kas veicina epitēlija šūnu proliferāciju, genoma nestabilitāti un audzēja progresiju.

Escherichia coli

Patogēnie *Escherichia coli* celmi, īpaši tie, kas satur *pks* genoma saliņu, ir saistīti ar KRV attīstību. *Pks* saliņa kodē kolibaktīnu – toksīnu, kas izraisa DNS dubultspirāles pārtraukumus saimniekšūnās, veicinot genoma nestabilitāti un mutāciju uzkrāšanos (Nougayrède et al., 2006). Pētījumi liecina, ka *E. coli* celmi, kas spēj sintezēt kolibaktīnu, biežāk sastopami pacientiem ar adenomām un KRV, norādot uz to iespējamo lomu adenomatozas transformācijas ierosināšanā (Arthur et al., 2012).

Bacteroides fragilis

Enterotoksigēnais *Bacteroides fragilis* (ETBF) producē *B. fragilis* toksīnu (BFT), kas izraisa resnās zarnas iekaisumu un veicina audzēju attīstību dzīvniekiem. BFT izjauc epitēlija šūnu integritāti, izraisot E-kadherīna degradāciju un proinflamatoro un onkogēno signālceļu aktivizēšanu (Sears, 2009). Cilvēku un dzīvnieku pētījumi apstiprina, ka ETBF infekcija ir saistīta ar paaugstinātu adenomu un KRV risku, iespējams, tās spējas ierosināt iekaisuma izraisītu audzēja ģenēzi dēļ (Toprak et al., 2006).

1.10.2. Ar mikrobiotu saistītie adenomu veidošanās mehānismi

Zarnu mikrobiotas ietekme uz adenomu attīstību nav reducējama uz izolētiem faktoriem, bet drīzāk atspoguļo savstarpēji pastiprinošu mehānismu kopumu, kurā genotoksisku baktēriju metabolītu iedarbība, hroniska zemas pakāpes iekaisuma uzturēšana un oksidatīvā stresa inducēti DNS bojājumi darbojas sinerģiski.

Kolibaktīns, ko producē *pks+ E. coli* celmi, izraisa DNS dubultspirāles pārtraukumus, noved pie hromosomu nestabilitātes un mutagēnu procesu pastiprināšanās (Cuevas-Ramos et al., 2010). Šie bojājumi aktivizē ATR/CHK1 un p53 atbildes mehānismus, bet nepilnīgas reparācijas gadījumā veicina hromosomu nestabilitāti un mutāciju uzkrāšanos. Jaunākie genoma mēroga pētījumi ir identificējuši specifisku kolibaktīna mutācijas parakstu cilvēka

kolorektālajos audzējos, kas apstiprina šī toksīna tiešu iesaisti kanceroģenēzē (Pleguezuelos-Manzano et al., 2020). Savukārt enterotoksigēnais *Bacteroides fragilis* producē BFT (*B. fragilis toxin*), cinka atkarīgu metaloproteāzi, kas šķeļ E-kadherīnu epitēlijā, izjaucot šūnu un šūnu adhēziju un palielinot epitēlija caurlaidību (Boleij & Tjalsma, 2012). E-kadherīna degradācija izraisa β-katenīna translokāciju uz kodolu, aktivējot Wnt signālceļu un proliferācijas gēnu ekspresiju. Paralēli tiek inducēta NF-κB aktivācija un IL-17 mediēta iekaisuma kaskāde, kas rada protumorigēnu mikrovidi.

Hronisks iekaisums ir centrāls mehānisms adenomu progresijā. Baktērijas, piemēram, *Fusobacterium nucleatum* un ETBF, aktivē NF-κB un Wnt/β-katenīna ceļus, stimulējot TNF-α, IL- 6 un IL-1β sintēzi (Dai Z et al., 2019; Ivleeva et al., 2022). *F. nucleatum* FadA adhezīns tieši saistās ar E-kadherīnu, tādējādi aktivējot β-katenīna signālceļu un veicinot proliferāciju.

Iekaisuma mikrovidē aktivēti makrofāgi un neitrofili producē reaktīvās skābekļa un slāpekļa daļiņas (ROS/RNS), kas izraisa oksidatīvus DNS bojājumus, piemēram, 8-oxo-dG veidošanos un bāzu modifikācijas (Arthur et al., 2012). ROS inducē gan tiešus mutagēnus bojājumus, gan traucē DNS reparācijas mehānismus, pastiprinot genoma nestabilitāti. Turklāt kolibaktīna radītie DNS pārrāvumi var kļūt letāli šūnām ar jau esošu oksidatīvo bojājumu slogu, tādējādi veidojot sinerģisku efektu starp genotoksicitāti un iekaisuma inducētu stresu.

Pandey et al. (2023) uzsver, ka mikrobiotas disbioze var pastiprināt NADPH oksidāzes un inducējamās slāpekļa oksīda sintāzes (iNOS) aktivāciju, veicinot hronisku oksidatīvu stresu resnās zarnas epitēlijā. Tādējādi adenomu attīstībā iespējams izdalīt trīspakāpju patogēno asi:

1) baktēriju producēta genotoksicitāte (kolibaktīns un citi toksīni),
2) barjeras disfunkcija un NF-κB/Wnt mediēts hronisks iekaisums,
3) iekaisuma inducēts oksidatīvais stress ar sekundāriem DNS bojājumiem.

Šie mehānismi veido savstarpēji pastiprinošu loku, kurā mikrobiota veicina mutāciju uzkrāšanos, proliferācijas signālu aktivāciju un audzēja mikrovides remodelāciju, kas kopumā sekmē adenomu iniciāciju un progresiju uz kolorektālo vēzi.

1.10.3. Mikrobioms kā adenomu veidošanās riska faktors

Disbiozi raksturo labvēlīgo baktēriju sugu, piemēram, *Bifidobacterium* un *Lactobacillus*, skaita samazināšanās un potenciālo patogēno baktēriju, piemēram, *F. nucleatum*, *E. coli* un *B. fragilis*, skaita palielināšanās (Louis et al., 2014).

Indivīdiem ar samazinātu zarnu mikrobiotas daudzveidību vai pārmērīgu proiekaisuma baktēriju sugu pārstāvību ir lielāks kolorektālo adenomu sastopamības biežums (Ahn et al., 2013). 2016. gada pētījums, ko veica *Baxter* ar līdzautoriem (Baxter et al., 2016.) atklāja, ka

mikrobu kopienas sastāvs pacientiem ar adenomām ir bagāts ar *F. nucleatum*, *Porphyromonas* un citām baktērijām, kas saistītas ar iekaisumu un KRV, turpretim labvēlīgo baktēriju, kas varētu aizsargāt pret audzēja ģenēzi, šajās kopienās trūkst. Šie atklājumi apstiprina iespējamu mikrobioma profilēšanas izmantošanu kā neinvazīvu kolorektālu adenomu riska biomarķieri.

Nesenie pētījumi vēl vairāk apstiprina mikrobiotas kā adenomu veidošanās riska faktora lomu. Piemēram, pētījums, kurā novēroja pacientus ar augstu adenomas attīstības risku, demonstrēja, ka sākotnēji novērotie disbiozes modeļi paredzēja adenomu atkārtošanos pēc polipektomijas (Yin, L. L. et al., 2024). Šie dati uzsver nepieciešamību lūkoties uz zarnu mikrobiotu ne tikai kā adenomu riska marķieri, bet arī kā modificējamu faktoru, izmantojot, piemēram, diētu, probiotikas vai antibiotikas, lai samazinātu adenomas recidīvus.

1.11. Mikrobu metabolīti un to loma KRV attīstībā

Zarnas mikrobiota ražo metabolītus, kuriem ir izšķiroša nozīme kā resnās zarnas veselības uzturēšanā, tā arī kolorektālo adenomu un audzēja ģenēzes procesā. Šiem metabolītiem var pieskaitīt īsās ķēdes taukskābes (SCFA), žultsskābes, vitamīnus un citus sekundāros metabolītus. Metabolītiem var būt kā aizsargājošas pretiekaisuma funkcijas, tā arī karcinoģenēzi veicinošs potenciāls disbiotiskos apstākļos.

1.11.1. SCFA loma KRV adenomas attīstībā

SCFA, galvenokārt acetāts, propionāts un butirāts, ir šķiedrvielu fermentācijas produkti, ko sintezē specifiskas zarnu baktērijas, jo īpaši *Firmicutes* un *Bacteroidetes*. Butirātam piemīt pretiekaisuma un pretkancerogēnas īpašības (Louis et al., 2014). Tas kalpo kā primārais enerģijas avots resnās zarnas epitēlija šūnām, saglabājot gļotādas barjeras integritāti un novēršot iekaisumu (Salvi, P. S. et al., 2021).

Butirātam zināmi vairāki mehānismi, kas var novērst kolorektālu adenomu veidošanos. Tas izraisa aberanto šūnu apoptozi un modulē gēnu ekspresiju, kas saistīta ar šūnu cikla regulāciju, diferenciāciju un apoptozi, izmantojot histona dezacetilāzes (HDAC) inhibīciju (Kostic et al., 2013). Šī funkcija ir svarīga, lai novērstu izmainīto šūnu nekontrolētu proliferāciju, kas ir audzēja ģenēzes pazīme (Rubinstein et al., 2013). Turklāt butirāts inhibē kodolfaktora kapa gaismas ķēdes pastiprinātāju aktivēto B šūnu (NF-κB) signalizāciju, ceļu, kas iesaistīts iekaisumos un vēža veidošanās procesā, kas nodrošina pretiekaisuma iedarbību un vēl vairāk samazina adenomu veidošanās riskus (Grivennikov et al., 2010). Butirāts spēj inhibēt audzēja augšanu un samazināt proiekaisuma citokīnu ekspresiju (Cuevas-Ramos et al., 2010). Turklāt butirāta ietekme uz līdzsvarotas imūnās atbildes saglabāšanu un regulējošo T-šūnu (*Treg*) diferenciācijas veicināšanu palīdz mazināt hronisku iekaisumu, tādējādi samazinot audzēja ģenēzes risku (Arthur et al., 2012). Butirātam ir aizsargājoša loma kolorektālu adenomu

veidošanās novēršanā agrīnās stadijās, izmantojot vielmaiņas, imūnmodulācijas un pretiekaisuma efektus.

1.11.2. Žultsskābes un sekundārie metabolīti

Žultsskābes, ko ražo akna un modificē zarnu mikrobiota, ne tikai piedalās tauku metabolismā, bet var ietekmēt arī resnās zarnas veselību. Pēc iekļūšanas zarnā tās baktērijas primārās žultsskābes pārvērš sekundārajās žultsskābēs, piemēram, deoksiholskābē (DCA) un litoholskābē (LCA) (Brennan et al., 2016). Disbioze veicina šo sekundāro žultsskābju pārprodukciju, kam var būt karcinogēna ietekme uz resnās zarnas gļotādu.

Sekundārās žultsskābes veicina oksidatīvo stresu, DNS bojājumus, iekaisumu un rezultātā kolorektālu adenomu veidošanos (Sears, 2009). DCA ir saistīta ar palielinātu šūnu proliferāciju, epitēlija bojājumiem un iekaisumu, radot vidi, kas veicina audzēju veidošanos. Tā aktivē *farnesoid* X receptoru (FXR) un TGR5 signālceļus, kas var izraisīt reaktīvo skābekļa daļiņu (ROS) pieaugumu un veicināt iekaisuma citokīnu veidošanos (Louis et al., 2014).

Augsts DCA un LCA līmenis var izraisīt DNS bojājumus un oksidatīvo stresu, izraisot mutācijas, kurām ir loma pārejā no adenomas uz karcinomu (Baxter et al., 2016). Turklāt sekundārās žultsskābes var modulēt zarnu imūnreakciju, ietekmējot T-šūnu diferenciāciju un veicinot proiekaisuma mediatoru izdalīšanos, tādējādi saasinot iekaisuma izraisītu audzēja ģenēzi (Toprak et al., 2006). Tāpēc, lai gan žultsskābes ir būtiskas gremošanas procesiem, to disregulētais metabolisms disbiotiskā mikrobiotā var izraisīt apstākļus, kas veicina adenomu veidošanos un progresēšanu par ļaundabīgu audzēju.

1.11.3. Prokarcinogēnu metabolītu ietekme uz adenomas veidošanos

Papildus SCFA un žultsskābēm disbiotiskā mikrobiota rada arī citus metabolītus, kas var potencēt adenomu attīstību. Patogēnās baktērijas, piemēram, *Escherichia coli* un *Enterotoxigenic Bacteroides fragilis* (ETBF), ražo toksīnus, kas veicina audzēja attīstību.

Kolibaktīns, toksīns, ko ražo *E. coli* celmi, kas satur 54-kilobāzes poliketīda sintetāzi (*pks)*, izraisa DNS dubultspirāles pārrāvumus, izraisot genoma nestabilitāti, kas ir nozīmīgs adenomu progresēšanas faktors (Nougayrède et al., 2006). Kolibaktīna izraisītais DNS bojājums var izraisīt agrīnu stadiju audzēja ģenēzi, īpaši, ja DNS atjaunošanas mehānismi nav pietiekami. Kolibaktīnu ražojošie *E. coli* celmi biežāk tiek konstatēti pacientiem ar adenomām un kolorektālo vēzi, kas liecina par tā tiešu lomu adenoma ģenēzē (Arthur et al., 2012).

ETBF ražo *B. fragilis* toksīnu (BFT), kas izjauc ciešos savienojumus starp resnās zarnas epitēlija šūnām un palielina zarnu caurlaidību (Kostic et al., 2013). Šis "caurlaidīgās zarnas" stāvoklis ļauj antigēniem un proiekaisuma molekulām iekļūt epitēlijā un uztur hronisku iekaisumu. Papildus gļotādas integritātes ietekmēšanai BFT aktivē iekaisuma signālceļus,

piemēram, NF-κB, kas veicina citokīnu veidošanos, kas var sekmēt šūnu proliferāciju un potenciāli izraisīt adenomu ģenēzi (Grivennikov et al., 2010).

Sērūdeņradis (H_2S), metabolīts, ko ražo sulfātus reducējošās baktērijas, piemēram, *Desulfovibrio*, ir toksisks resnās zarnas epitēlija šūnām. Ir pierādīts, ka H_2S pasliktina mitohondriju darbību, izraisa oksidatīvo stresu un DNS bojājumus, līdz ar to var veicināt adenomu attīstību (Lin, H. et al., 2023). Paaugstināts H_2S līmenis zarnās ir saistīts ar disbiotiskām mikrobu kopienām, kas var vēl vairāk sekmēt audzēju ģenēzei.

1.12. Disbiozes un imunoloģiskā ietekme kolorektālu adenomu un KRV attīstībā. Resnās zarnas un imūnsistēmas mijiedarbība

Zarnas mikrobiotai ir izšķiroša loma imūnās homeostāzes uzturēšanā un sistēmiskās imūnās atbildes ietekmēšanā. Viens no galvenajiem zarnu mikrobiotas imūnās regulēšanas dalībniekiem ir T-šūnas. Komensālās baktērijas ietekmē T-šūnu diferenciāciju, īpaši regulējošo T-šūnu (*Tregs*) attīstību, kurām ir izšķiroša nozīme imūnās tolerances uzturēšanā un autoimunitātes novēršanā. Mikrobu signāli ir būtiski *Tregs* indukcijai zarnās, kas savukārt palīdz kontrolēt iekaisuma reakcijas (Round & Mazmanian, 2009). Papildus T-šūnām arī makrofāgi zarnu gļotādā mijiedarbojas ar mikrobu signāliem, uzturot imūnās tolerances vidi. Šie makrofāgi no mikrobiotas atvasinātu molekulu, piemēram, SCFA, ietekmē var uzturēt imūnās tolerances stāvokli zarnā, nomācot pārmērīgas iekaisuma reakcijas (Arpaia et al., 2013). Zarnu mikrobiota un tās metabolīti modulē saimniekorganisma citokīnu veidošanos un imūnās atbildes profile, kas mediē imūnās atbildes. Disbioze var izjaukt šo regulējošo tīklu, izraisot izmaiņas citokīnu profilā. Piemēram, izmainīta proiekaisuma citokīnu, piemēram, interleikīna-17 (IL-17) un audzēja nekrozes faktora-alfa (TNF-α), sintēze ir hroniska iekaisuma pazīme, kas ir būtisks kolorektālo adenomu un KRVattīstības un progresēšanas riska faktors (Zhao, H. et al., 2021).

1.12.1. Iekaisums un imūnsistēmas disregulācija

Fusobacterium modulē vietējo imūno vidi, veicinot mieloīdo šūnu un T-helperu 17 (Th17) šūnu aktivāciju, kas ražo proiekaisuma citokīnus, piemēram, IL-17 (Kostic et al., 2013). Šis mikrobu izraisītais iekaisums var izraisīt pāreju no imūnās tolerances uz imūnsistēmas aktivizēšanu, tādējādi veicinot audu bojājumu, hroniska iekaisuma attīstību un iespējamās neoplastiskas transformācijas procesus resnās zarnas gļotādā (Ionica et al., 2021).

Pacientiem ar kolorektālām adenomām un KRV ir konstatētas specifiskas zarnu mikrobiotas izmaiņas. Viens no visvairāk pētītajiem mikroorganismiem šajā kontekstā ir *Fusobacterium nucleatum*, kura pārmērīga sastopamība ir saistīta ar iekaisuma reakciju inducēšanu un audzējam labvēlīgas mikrovides veidošanos (Schwabe et al., 2013). Šis

mikroorganisms spēj modulēt lokālo imūno vidi, veicinot mieloīdo šūnu un T-helperu 17 (Th17) šūnu aktivāciju, kas savukārt izdala proiekaisuma citokīnus, piemēram, interleikīnu-17 (IL-17) (Kostic et al., 2013). Šāds mikrobu izraisīts hronisks iekaisums var izjaukt normālo imūno toleranci un izraisīt imūnsistēmas aktivāciju, tādējādi veicinot adenomatozo veidojumu progresēšanu un kolorektālā vēža attīstību.

1.12.2. Imūnā mikrovide adenomās un KRV

Audzēja mikrovidei (TME) ir izšķiroša nozīme kolorektālo adenomu progresēšanā līdz KRV, un zarnu mikrobiota ir svarīgs šīs vides modulators. Adenomu un KRV imūno vidi veido sarežģīta mijiedarbība starp audzēja šūnām, imūnšūnām un mikrobiotu. Adenomu gadījumā TME bieži raksturo iekaisuma šūnu – makrofāgu, dendrītisko šūnu un T-šūnu – infiltrāts, kas var nomākt vai veicināt audzēja augšanu atkarībā no to aktivācijas stāvokļa (Quail, D. F. et al., 2013).

Adenomām progresējot līdz KRV, šī iekaisuma mikrovide kļūst izteiktāka, veicinot izturību pret terapeitisku iejaukšanos, mieloīdu nomācošo šūnu (MDSC) un regulējošo T-šūnu (*Tregs*) piesaisti, kas nomāc pretvēža imunitāti un sekmē audzēja progresēšanu (Shakhpazyan, N. K. et al., 2024). Labvēlīgie mikrobi, īpaši tie, kas ražo SCFA, piemēram, butirātu, inducē pretiekaisuma citokīnus, piemēram, IL-10, un veicina *Treg* diferenciāciju, kas palīdz ierobežot audzēja progresēšanu (Smith et al., 2013). IL-6, TNF-α un IL-1β ne tikai veicina imūno šūnu piesaisti, bet arī rada labvēlīgu vidi audzēja augšanai, veicinot šūnu proliferāciju un kavējot apoptozi (Shakhpazyan, N. K. et al., 2024). Adenomām progresējot līdz KRV, šī iekaisuma mikrovide kļūst izteiktāka, veicinot izturību pret terapeitisku iejaukšanos (Shakhpazyan, N. K. et al., 2024).

1.13. Mikrobioma testēšanas diagnostiskais un terapeitiskais potenciāls. Mikrobioms kā biomarķieris

Mikrobiota var kalpot kā vērtīgs biomarķieris kolorektālo adenomu un KRV riska novērtēšanai. Izmaiņas mikrobu sastāvā un vielmaiņas funkcijās ir saistītas ar polipu rašanos un progresēšanu. Zarnas mikrobiotu var izmantot ne tikai risku novērtēšanai, bet arī kolorektālo adenomu agrīnai noteikšanai. Vairākas mikrobu sugas ir identificētas kā potenciālie adenomas riska biomarķieri. Piemēram, *Fusobacterium nucleatum*, baktērijas, kas pazīstama ar savu audzēju veicinošo iedarbību, sastopamības palielināšanās ir saistīta gan ar adenomām, gan KRV. *F. nucleatum* veicina audzēja veidošanos, aktivējot TLR4-NF-κB signālceļu, izraisot hronisku iekaisumu kolorektālajos audos (Kostic et al., 2013). Turklāt pacientiem ar kolorektālām adenomām, salīdzinot ar veseliem indivīdiem, bieži tiek novēroti mikrobu profili, kam raksturīga samazināta daudzveidība un pārmērīgs *Bacteroides* un *Enterococcus* skaits

(Song, M. et al., 2019). Sasniegumi nākamās paaudzes sekvencēšanā (NGS) un metagenomiskajā analīzē ir ļāvuši precīzāk identificēt uz mikrobiotu balstītus biomarķierus kolorektālās adenomas noteikšanai. Mikrobu, kas iegūti no fēcēm un gļotādas audu paraugiem, pazīmes ļauj atšķirt pacientus ar adenomām no veseliem indivīdiem vai tiem, kuriem ir citi gremošanas trakta traucējumi. Pētījums, kurā tika izmantota 16S rRNS gēnu sekvencēšana, parādīja, ka noteiktas mikrobiotas kompozīcijas ar augstu jutību un specifiskumu var atšķirt pacientus ar kolorektālām adenomām no kontroles indivīdiem (Yin, L. L. et al., 2024). Tādējādi uz mikrobiomu balstīta diagnostika var tikt izskatīta kā neinvazīva un metode, lai identificētu personas, kurām ir augsts adenomu risks, ļaujot uzsākt agrīnākus skrīninga izmeklējumus.

Papildus iepriekš aprakstītajiem mikrobiālajiem biomarķieriem jaunākie *shotgun* metagenomikas pētījumi ir identificējuši arī iepriekš nekultivētus un taksonomiski nesen klasificētus mikroorganismus kā potenciālus adenomu riska indikatorus. Viens no šādiem kandidātiem ir *UBA7597 sp003448195 – Genome Taxonomy Database* (GTDB) klasifikācijā definēts *metagenoma-assembled genome* (MAG) taksons (Parks et al., 2022). Šis mikroorganisms identificēts, izmantojot augstas izšķirtspējas metagenomisko sekvencēšanu un genoma rekonstrukcijas pieejas, kas ļauj analizēt arī iepriekš nekultivējamus vai tradicionālajās datubāzēs neiekļautus mikroorganismus (Almeida et al., 2019). Lai gan tā precīzā metaboliskā loma vēl nav pilnībā raksturota, funkcionālā anotācija liecina par iespējamu iesaisti anaerobās fermentācijas procesos un mikrovides redoksa balansa regulācijā, kas potenciāli var ietekmēt iekaisuma mikrovidi un epitēlija proliferācijas signālceļus. Šī atraduma nozīmīgums uzsver *shotgun* metagenomikas priekšrocības salīdzinājumā ar 16S rRNS pieeju, jo tā ļauj identificēt arī taksonus, kas nav reprezentēti tradicionālajās kultivēto mikroorganismu kolekcijās.

Mikrobioma modulācija

Zarnu mikrobiotas modulācija pēdējos gados tiek intensīvi pētīta kā potenciāla stratēģija kolorektālo adenomu un vēža profilaksei. Tiek izstrādātas dažādas pieejas, kas vērstas uz mikrobiotas līdzsvara atjaunošanu un saimnieka aizsargspēju uzlabošanu, tai skaitā diētas modifikācija, probiotikas, prebiotikas un FMT.

Diētai ir izšķiroša nozīme zarnu mikrobiotas sastāva veidošanā, un ir pierādīts, ka uztura izmaiņas ietekmē gan mikrobu sastāvu, gan KRV risku. Diētas ar augstu šķiedrvielu saturu – augļi, dārzeņi un pilngraudi – veicina labvēlīgo baktēriju, piemēram, bifidobaktēriju un laktobacillu, augšanu, kas ir saistītas ar mazāku kolorektālo adenomu risku (Terry et al., 2019). Šķiedrvielas mikrobiota metabolizē par SCFA, piemēram, par butirātu, kam piemīt pretiekaisuma un pretkarcinogēnas īpašības. Butirāts inhibē histona dezacetilāzi un veicina

regulējošo T-šūnu diferenciāciju, izraisot pastiprinātu imūno kontroli un audzēja ģenēzes nomākšanu (Rivière et al., 2016).

Papildus daudzsološas mikrobioma modulācijas stratēģijas ir probiotikas un prebiotikas. Probiotikas, kas definētas kā dzīvi mikroorganismi, kuri labvēlīgi ietekmē saimniekorganismu, uzlabo zarnas mikrobu līdzsvaru un var palīdzēt novērst kolorektālo adenomu veidošanos. Dažiem probiotiku celmiem, piemēram, *Lactobacillus* un *Bifidobacterium*, ir pretiekaisuma iedarbība, veicinot gļotādas integritāti un kavējot ar kolorektālo vēzi saistīto baktēriju augšanu (Shang, F. et al., 2018, 2020). Prebiotikām, kas ir nesagremojamas šķiedrvielas, kuras veicina labvēlīgo mikrobu augšanu, ir protektīva iedarbība pret kolorektālo vēzi. Uzlabojot SCFA sintēzi un atbalstot veselīgu mikrobiomu, prebiotikas var samazināt adenomas veidošanās risku.

Vēl viena novatoriska pieeja, kas tiek pētīta, lai novērstu kolorektālo adenomu attīstību, ir FMT, kas ietver materiāla pārnešanu no vesela donora uz recipienta disbiotisko gremošanas traktu. Šī procedūra atjauno mikrobu daudzveidību un nomāc patogēnās baktērijas, tādējādi mazinot iekaisumu un, iespējams, novēršot audzēju veidošanos. Dzīvnieku modeļos pierādīts, ka FMT samazina audzēju veidošanos un modulē imūnreakciju, kas liecina par tās terapeitisko potenciālu kolorektālā vēža profilaksē (Chen, D. et al., 2018).

Uz mikrobiomu mērķētas terapijas nākotne adenomu un KRV profilaksei ir daudzsološa, un pašlaik tiek pētītas vairākas uz mikrobiotu balstītas ārstēšanas metodes. Uz mikrobiotu balstīti biomarķieri piedāvā daudzsološu pieeju riska novērtēšanai un agrīnai diagnostikai, savukārt mikrobioma modulācija, izmantojot diētu, probiotikas, prebiotikas un FMT, varētu samazināt kaitīgo mikroorganismu, piemēram, *Fusobacterium nucleatum* un *Enterococcus faecalis*, daudzumu, kas ir saistīti ar audzēja ģenēzi (Duan, Y. et al., 2022).

Pieaugoša interešu joma ir imūnterapija, kuras mērķis ir mikrobioms. Zarnas mikrobiota var ietekmēt vēža imūnterapijas efektivitāti, modulējot audzēju imūno mikrovidi. Noteiktas mikrobiotas kompozīcijas var uzlabot reakciju uz imūnsistēmas inhibitoriem, piemēram, PD-1/PD-L1 blokatoriem, pacientiem ar kolorektālo vēzi (Gopalakrishnan et al., 2018).

Papildus esošajām mikrobioma modulācijas stratēģijām perspektīvā īpaši nozīmīga var kļūt mērķēta mikrobioma gēnu inženierija, kas ļautu selektīvi ietekmēt ar karcinoģenēzi saistītus mikroorganismus vai to funkcionālos gēnus. Atšķirībā no probiotikām vai FMT, kas iedarbojas relatīvi nespecifiski, gēnu rediģēšanas pieejas teorētiski ļautu precīzi modulēt konkrētus patogēnos mehānismus, saglabājot pārējo mikrobiotas struktūru.

Viena no daudzsološākajām tehnoloģijām šajā jomā ir CRISPR – *Cas* sistēmu izmantošana mikrobioma selektīvai rediģēšanai. Teorētiski iespējama stratēģija būtu mērķēt uz baktēriju virulences vai genotoksicitātes gēniem, piemēram, *pks* saliņu, kas kodē kolibaktīna sintēzi *pks*+ *E. coli* celmos, vai uz *bft* gēnu enterotoksigēnajā *Bacteroides fragilis*. Selektīva šo

gēnu inaktivācija samazinātu genotoksisko un proiekaisuma potenciālu, vienlaikus saglabājot mikroorganismu ekoloģisko lomu mikrobiotā. Šāda pieeja potenciāli varētu pārtraukt genotoksicitātes–iekaisuma–oksidatīvā stresa ciklu, kas veicina adenomu attīstību.

Vēl viena iespējamā pieeja būtu fāgu terapijas kombinācija ar CRISPR tehnoloģijām, izmantojot ģenētiski modificētus bakteriofāgus, kas selektīvi mērķē uz konkrētām baktēriju sugām, piemēram, *Fusobacterium nucleatum*, kuras ir saistītas ar Wnt/β-katenīna un NF-κB signālceļu aktivāciju. Šāda stratēģija ļautu samazināt audzēju veicinošo mikroorganismu relatīvo sastopamību bez plaša spektra antibiotiku lietošanas un ar mazāku disbiozes risku.

Nākotnē varētu attīstīties arī sintētiskās probiotikas, kas būtu ģenētiski modificētas, lai izdalītu pretiekaisuma molekulas, SCFA vai pat specifiskus onkoproteīnu inhibitorus tieši gļotādas mikrovidē. Piemēram, modificēti *Lactobacillus* vai *Bifidobacterium* celmi varētu tikt programmēti inducējami ekspresēt molekulas, kas bloķē NF-κB vai STAT3 signālceļus iekaisuma situācijā, tādējādi nodrošinot lokālu un kontrolētu terapiju. Tomēr šādu pieeju klīniskā ieviešana prasīs rūpīgu drošības izvērtējumu. Būtiski izaicinājumi ietver horizontālās gēnu pārneses risku, ekosistēmas stabilitātes traucējumus un ilgtermiņa ietekmi uz mikrobiomu. Tādēļ mikrobioma gēnu inženierija, visticamāk, sākotnēji tiks izmantota augsta riska pacientu grupās ar molekulāri definētu disbiozes profilu. Personalizēta mikrobioma terapija nākotnē varētu balstīties uz integrētu pieeju, kas apvieno metagenomisko profilēšanu, uz mikrobiotu balstītus biomarķierus un precīzi mērķētu mikroorganismu vai to metabolisko ceļu modulāciju. Šāda stratēģija varētu ne tikai samazināt adenomu risku, bet arī mainīt agrīnos neoplastiskos procesus vēl pirms histoloģiski konstatējamu izmaiņu attīstības.

Papildus probiotikām, prebiotikām un FMT pēdējos gados arvien lielāka uzmanība tiek pievērsta arī postbiotikām kā potenciālai drošākai un mehāniski precīzākai mikrobioma modulācijas stratēģijai. Postbiotikas definē kā mikroorganismu atvasinātas bioaktīvas molekulas vai inaktivētu mikroorganismu preparātus, kas spēj radīt labvēlīgu ietekmi uz saimniekorganismu (Salminen et al., 2021). Atšķirībā no probiotikām, postbiotikas nesatur dzīvotspējīgus mikroorganismus, tādēļ tām ir zemāks infekcijas vai horizontālās gēnu pārneses risks, kas ir īpaši nozīmīgi onkoloģisko pacientu populācijā.

Kolorektālo adenomu un KRV kontekstā visvairāk pētītās postbiotikas ir SCFA, īpaši butirāts, propionāts un acetāts. Butirāts, ko producē šķiedrvielas fermentējošas baktērijas (piemēram, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia spp.*), darbojas kā histona dezacetilāzes (HDAC) inhibitors, inducējot epiģenētiskas izmaiņas, kas veicina diferenciāciju un apoptozi neoplastiskajās šūnās (Donohoe et al., 2012). Butirāts arī aktivē G-proteīnu saistītos receptorus GPR41 un GPR43, modulējot iekaisuma atbildi un veicinot regulējošo T-šūnu diferenciāciju

(Furusawa et al., 2013). Šie mehānismi potenciāli kavē adenomu progresēšanu, īpaši agrīnā stadijā.

Papildus SCFA tiek pētīti arī citi postbiotiski metabolīti, tostarp indola atvasinājumi, sekundārie žultsskābju metabolīti un baktēriju šūnu sienas komponenti (piem., peptidoglikāni un lipoteihoskābes), kas spēj modulēt TLR signālceļus un zarnu barjeras funkciju. Indola-3-propionskābe, piemēram, aktivē arilhidrokarbona receptoru (AhR), kas regulē epitēlija barjeras integritāti un iekaisuma atbildi (Zelante et al., 2013). AhR aktivācija ir saistīta ar samazinātu proiekaisuma citokīnu ekspresiju un labāku gļotādas homeostāzi.

Eksperimentālos modeļos pierādīts, ka specifisku postbiotisku metabolītu ievadīšana var mazināt audzēju slogu, samazināt NF-κB un STAT3 aktivāciju un kavēt proliferācijas signālceļus (Louis et al., 2014). Turklāt postbiotikas var ietekmēt arī oksidatīvā stresa līmeni, samazinot ROS veidošanos un stabilizējot redoksa vidi zarnu mikrovidē.

Postbiotikas potenciāli var kļūt par starpposmu starp uztura intervencēm un mērķētu mikrobioma gēnu inženieriju. Atšķirībā no dzīvām probiotikām, postbiotikas ļauj precīzāk dozēt un standartizēt bioloģiski aktīvos komponentus, tādējādi samazinot individuālās variabilitātes ietekmi un palielinot terapijas prognozējamību. Nākotnē iespējama personalizēta postbiotiku terapija, balstoties uz metagenomisku un metabolomisku profilu, kas ļautu kompensēt specifisku metabolisko ceļu deficītu vai pārmērīgu prokancerogēnu metabolītu veidošanos.

Tomēr jāuzsver, ka lielākā daļa pierādījumu par postbiotiku ietekmi uz kolorektālo karcinoģenēzi šobrīd balstās uz *in vitro* un dzīvnieku modeļiem un nepieciešami labi strukturēti randomizēti klīniskie pētījumi, lai izvērtētu to efektivitāti adenomu profilaksē cilvēkiem.

1.14. Jaunās tehnoloģijas un metodes mikrobioma un adenomu pētījumos

1.14.1. Metagenomika un augstas caurlaidspējas sekvencēšana

Metagenomika, ko veicina augstas caurlaidspējas sekvencēšanas tehnoloģijas, ir mainījusi mūsu spēju pētīt cilvēka mikrobiomu un tā lomu kolorektālo adenomu un KRV attīstībā. Tradicionālajām mikrobioloģiskajām metodēm, piemēram, kultivēšanai, bija ierobežotas iespējas noteikt mikrobiotas daudzveidību. Metagenomika ļauj veikt visaptverošu, no kultūras neatkarīgu mikrobu kopienu analīzi, tieši sekvencējot DNS, kas iegūta no paraugiem, piemēram, fēcēm, biopsijām vai gļotādas.

Viena no visbiežāk izmantotajām metodēm ir 16S rRNS gēnu sekvencēšana, kas ļauj identificēt baktērijas līdz ģints vai sugas līmenim. Lai gan šī metode ir salīdzinoši vienkārša, tai trūkst izšķirtspējas, kas nepieciešama detalizētai funkcionālai analīzei un nebakteriālu mikroorganismu, piemēram, vīrusu un sēnīšu, noteikšanai, tāpēc arvien vairāk tiek izmantota

visa genoma *shotgun* sekvencēšana, kas nodrošina padziļinātu analīzi, nosakot visu mikrobu kopienas genoma saturu, sniedzot ieskatu ne tikai taksonomiskajā sastāvā, bet arī mikrobiotas funkcionālajā potenciālā (Johnson, J. S. et al., 2019).

Kolorektālo adenomu kontekstā metagenomiskā sekvencēšana ir palīdzējusi atklāt atšķirīgas mikroorganismu pazīmes, kas saistītas ar adenomu progresēšanu līdz KRV. Piemēram, pacientiem ar adenomām un KRV bieži tiek novērota *Fusobacterium nucleatum* daudzuma palielināšanās un mikrobu daudzveidības samazināšanās (Kostic et al., 2013). Metagenomiskie dati arvien vairāk tiek integrēti multiomiskās pieejās, kur mikrobioma sastāvs korelē ar saimnieka genoma, transkripta un imunoloģiskajiem profiliem. Šī integrētā pieeja piedāvā izpratni par to, kā mikrobiota var ietekmēt adenomu un KRV attīstību.

1.14.2. Metabolomika un funkcionālā profilēšana

Metagenomika sniedz informāciju par mikrobu kopienas struktūru, bet metabolomika un funkcionālā profilēšana ļauj izprast, kā mikroorganismu kopienas mijiedarbojas ar saimniekorganismu bioķīmiskā un molekulārā līmenī. Mikroorganismu metabolīti, piemēram, SCFA, žultsskābes, vitamīni un citi mikrobu blakusprodukti, regulē saimniekorganisma imūnās atbildes reakciju un uztur zarnas homeostāzi. Disbioze var traucēt šo metabolītu veidošanos, izraisot hronisku iekaisumu un karcinoģenēzi. Metabolisma profilēšana, kas ietver metabolītu analīzi bioloģiskajos paraugos, ir kļuvusi par būtisku instrumentu, lai izprastu mikrobu sastāva funkcionālās sekas kolorektālo adenomu kontekstā. Masu spektrometrija (MS) un magnētiskās rezonanses spektroskopija ir divas galvenās metodes, ko izmanto metabolomiskos pētījumos. Šīs metodes var noteikt plašu metabolītu klāstu bioloģiskajos šķidrumos, fēcēs vai audu paraugos. Piemēram, butirātam, galvenajai SCFA, ko ražo šķiedrvielas fermentējošās baktērijas, piemīt pretiekaisuma un pretkarcinogēnas īpašības, un tā līmenis bieži ir zemāks cilvēkiem ar disbiozi vai KRV (Rivière et al., 2016). Šī kombinētā pieeja var nodrošināt paredzamus adenomu riska biomarķierus un sniegt izpratni par uz mikrobiotu mērķētu terapeitisko stratēģiju izstrādi, kuru mērķis ir atjaunot nepieciešamās mikrobu funkcijas, lai novērstu kolorektālo adenomu augšanu.

Metagenomikas un transkriptomikas pieejas ļauj noteikt zarnu mikrobu kopienu funkcionālo potenciālu, identificējot gēnu ceļus, kas saistīti ar metabolītu ražošanu, barības vielu metabolismu un imūnmodulāciju. Šī pieeja palīdz identificēt specifiskas mikrobu funkcijas, kas ietekmē kolorektālo adenomu patoģenēzi. Ir pierādīts, ka funkcionālie profili, kas saistīti ar toksisku metabolītu, piemēram, sērūdeņraža un sekundāro žultsskābju, ražošanu, veicina iekaisumu un DNS bojājumus, kas, iespējams, var sekmēt adenomu veidošanos (Rivas-Domínguez, A. et al., 2021).

Metabolisma datu sasaiste ar mikrobioma sekvencēšanu sniedz ieskatu dinamiskajās attiecībās starp mikrobiotas sastāvu un saimniekorganisma metabolismu. Šī kombinētā pieeja var nodrošināt paredzamus adenomu riska biomarķierus un sniegt izpratni par terapeitisko stratēģiju izstrādi, mērķētu uz mikrobiotu, kuru mērķis ir atjaunot nepieciešamās mikrobu funkcijas, lai novērstu kolorektālo adenomu veidošanos.

1.14.3. Izaicinājumi un ierobežojumi mikrobioma izpētē

Neskatoties uz milzīgo progresu mikrobioma izpētē, joprojām pastāv izaicinājumi un ierobežojumi, jo īpaši kolorektālo adenomu un KRV pētījumu kontekstā. Viena no galvenajām problēmām ir atšķirības starp indivīdiem. Zarnu mikrobiomu ietekmē multipli faktori – diēta, ģenētika, vecums, ģeogrāfiskā atrašanās vieta, lietotie medikamenti, slimības u. c. Šie faktori apgrūtina universālu mikrobiomu biomarķieru noteikšanu adenomām vai KRV, jo mikrobu sastāvs indivīdiem ar adenomām var ievērojami atšķirties (Goodrich et al., 2014). Turklāt dzīvesveida faktori, piemēram, antibiotiku lietošana, var būtiski mainīt zarnu mikrobiotu, izmainot rezultātus pētījumos, kuru mērķis ir identificēt uz mikrobiomu balstītus KRV riska faktorus. Arī paraugu apstrādes procesā iespējamas potenciālas kļūdas. Piemēram, variācijas paraugu ņemšanas metodēs, DNS ekstrakcijas protokolos un sekvencēšanas platformās var ietekmēt mikrobu profilus, kas iegūti no viena un tā paša bioloģiskā parauga. Lai to risinātu un nodrošinātu salīdzināšanas iespējas pētījumos, ir būtiska protokolu standartizācija un stabilu kvalitātes kontroles pasākumu izstrāde. Vēl viens nozīmīgs ierobežojums mikrobioma pētījumos ir metagenomisko un metabolomisko datu interpretācija. Mikrobioma sarežģītība apvienojumā ar mikrobu sugu daudzveidību rada izaicinājumus datu interpretācijas ziņā. Daudzas mikroorganismu funkcijas joprojām ir nepilnīgi izprotamas, un metagenomisko datu funkcionālais apraksts var būt nepilnīgs vai neprecīzs. Lai efektīvi analizētu un interpretētu lielo datu apjomu, ko sekmē sekvencēšanas metožu pilnveide, ir nepieciešami uzlaboti bioinformātikas rīki un skaitļošanas pieejas. Lai gan ar KRV saistītie mikrobi tiek identificēti arvien vairāk, šo atklājumu pielietošanai klīniskajā praksē joprojām ir šķēršļi. Lai izmantotu uz mikrobiomu balstītu diagnostiku un nodrošinātu klīnisko lietderību, ir nepieciešama nopietna validācija un standartizācija.

Jaunās tehnoloģijas, piemēram, metagenomika, metabolomika un funkcionālā profilēšana, maina izpratni par zarnu mikrobiotas lomu kolorektālās adenomas attīstībā un progresēšanā. Šīs metodes ļauj pētīt mikrobu kopienu sastāvu un funkcijas, sniedzot jaunu ieskatu par to, kā disbioze veicina kolorektālā vēža risku. Tomēr tādi izaicinājumi kā mainīgums starp indivīdiem, paraugu apstrāde un datu interpretācija joprojām ir nozīmīgi

šķēršļi, kas jānovērš. Neskatoties uz šiem izaicinājumiem, šo progresīvo tehnoloģiju integrācija sola mainīt veidu, kā mēs pieejam kolorektālās adenomas profilaksei un ārstēšanai.

2. Materiāli un metodes

2.1. Pētījuma dizains

Šķērsgriezuma gadījuma-kontroles pētījums tika veikts "Veselības centra 4" Diagnostikas centra Gastrointestinālās endoskopijas nodaļā, Akadēmiskajā histoloģijas laboratorijā un Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā no 2021. gada 1. aprīļa līdz 2024. gada 22. septembrim. Pētījums tika apstiprināts Latvijas Centrālajā medicīnas ētikas komitejā (Nr. 01-29.1.2/1751). Visi dalībnieki parakstīja informētu piekrišanu, un procedūras tika veiktas saskaņā ar Helsinku deklarācijas principiem.

Kolonoskopijas veica viens pieredzējis endoskopists (ADR 36 % skrīninga populācijā), nodrošinot metodoloģisku vienveidību.

Iekļaušanas kritēriji: vecums ≥ 18 gadi, kolonoskopija medicīnisku indikāciju dēļ un piekrišana dalībai.

Izslēgšanas kritēriji:

- kolonoskopija anamnēzē,
- iekaisīgas zarnu slimības,
- iedzimts polipozes sindroms,
- zināma KRV diagnoze,
- nozīmīgas zarnu operācijas (piemēram, zarnu rezekcija, bariatriskā ķirurģija), izņemot apendektomiju,
- jebkādas kontrindikācijas polipektomijai,
- nepilnīga zarnu sagatavošana (BBPS 0–1 jebkurā no trim segmentiem),
- standarta kontrindikācijas kolonoskopijai (piemēram, akūts divertikulīts vai aizdomas par perforāciju),
- nepilnīga kolonoskopija (tehnisku iemeslu dēļ vai sliktas sagatavošanas dēļ),
- grūtniecība vai zīdīšana,
- jebkura akūta slimība iekļaušanas brīdī,
- mazāk nekā 3 gadi kopš onkoloģiskas diagnozes noteikšanas vai specifiskās terapijas beigām,
- hroniskas nieru slimības, autoimūnas slimības, HIV, B vai C hepatīta vīrusa infekcija,
- hronisks alkoholisms,
- antibakteriālu, probiotisku, imūnsupresīvu, glikokortikosteroīdu vai protonu sūkņa inhibitoru lietošana pēdējo divu mēnešu laikā,
- caureja pēdējo divu nedēļu laikā.

Papildus tika veikta kolonoskopijas datu salīdzinošā analīze (2022.09.–2023.02.), salīdzinot adenomu noteikšanas rādītājus pacientiem < 50 un ≥ 50 gadu vecumā saistībā ar EOCRC pieaugumu. Visi polipi tika klasificēti atbilstoši Pasaules Veselības organizācijas (PVO) kritērijiem (Odze, R. D. et al., 2019).

2.2. Materiālu iegūšana un uzglabāšana

2.2.1. Fēču paraugu iegūšana un uzglabāšana

No 1363 pacientiem, kuriem tika rekomendēta kolonoskopija, 146 piekrita dalībai pētījumā un saņēma fēču savākšanas komplektu (*Zymo Research*). Paraugi tika savākti dienu pirms zarnu sagatavošanas. Ierodoties uz izmeklējumu, tie tika uzglabāti −20 °C temperatūrā un 24 stundu laikā pārvietoti uz −80 °C. Metagenomiskai analīzei sākotnēji bija pieejami 136 paraugi (56 adenomu grupā un 80 kontroles grupā). Pēc sekvenēšanas datu kvalitātes kontroles un saimniekorganisma izcelsmes nolasījumu izslēgšanas turpmākajā mikrobioma analīzē tika iekļauti 123 paraugi.

2.2.2. Kolonoskopijas izmeklējums

Kolonoskopijas tika veiktas ar *Olympus EVIS EXERA III* (CF-HQ190L/l) videokolonoskopu. Visus izmeklējumus veica viens pieredzējis endoskopists (9 gadu pieredze, ~ 1300 kolonoskopiju gadā), nodrošinot metodoloģisku vienveidību. Resnās zarnas gļotāda sākotnēji tika izvērtēta baltās gaismas režīmā, konstatētie polipi papildus analizēti ar šaurjoslas attēlveidošanu (NBI) un klasificēti saskaņā ar NICE kritērijiem (Hewett et al., 2012); šīs pieejas diagnostiskā precizitāte iepriekš validēta (Vilkoite et al., 2022).

Izmeklējumi veikti anesteziologa uzraudzībā, izmantojot intravenozu propofola sedāciju. Zarnu sagatavošanas kvalitāte tika vērtēta pēc Bostonas zarnu sagatavošanas skalas (BBPS); pacienti ar nepilnīgu sagatavošanu (0–1 jebkurā segmentā) tika izslēgti. Minimālais instrumenta evakuācijas laiks bija ≥ 7 minūtes.

Visi polipi tika dokumentēti atbilstoši Parīzes un NICE klasifikācijai (Hewett et al., 2012), precizējot to lokalizāciju un izmēru. Biopsijas materiāls un ablēti polipi tika nosūtīti histopatoloģiskai izmeklēšanai; pirms polipektomijas tika ņemti vismaz divi biopsiju paraugi.

Izmeklējums ietvēra retroversiju taisnajā zarnā, aklās zarnas kupola un tārpveida piedēkļa atveres fotodokumentāciju, kā arī, ja iespējams, retroversiju kupolā. Labā zarna tika pārbaudīta divkārt, izmantojot NBI; otrās evakuācijas laikā tika veikta hromoendoskopija ar metilēnzilo plakano polipu noteikšanas uzlabošanai.

Polipi < 1 cm tika noņemti ar aukstās cilpas tehniku, > 1 cm ar diatermokoagulāciju. Ja endoskopiska ablācija nebija iespējama, tika ņemtas biopsijas un pacients nosūtīts ķirurģiskai ārstēšanai.

2.2.3. Kolonoskopijas laikā konstatēto veidojumu morfoloģiskā diagnostika

Visi kolonoskopijas laikā ablētie polipi un biopsiju paraugi tika nosūtīti uz Akadēmiskās histoloģijas laboratoriju (Rīga, Latvija) morfoloģiskai izvērtēšanai. Paraugus analizēja eksperti-patologi saskaņā ar PVO klasifikācijas kritērijiem (Odze, R. D. et al., 2020).

Veidojumi tika klasificēti kā zobainie polipi, zemas pakāpes displāzija (LGD), augstas pakāpes displāzija (HGD), virspusēja submukozāla invazīva karcinoma (SM-s; < 1000 μm) vai dziļa submukozāla invazīva karcinoma (SM-d; ≥ 1000 μm). Metodoloģija atbilst iepriekš validētai pieejai (Vilkoite et al., 2022).

Morfoloģiski netika konstatētas tradicionālas zobainas adenomas (TAS), sēdoši zobaini veidojumi ar displāziju (SSL-D) vai neklasificētas zobainas adenomas.

Zema riska polipi tika definēti kā < 10 mm tubulāras adenomas ar LGD, savukārt augsta riska polipi – adenomas ar villozu struktūru, HGD, diametru > 10 mm vai ≥ 3 adenomas neatkarīgi no izmēra (Levin et al., 2008), ņemot vērā to paaugstināto KRV risku.

2.2.4. Metagenoma sekvencēšana un mikrobioma kompozīcijas noteikšana

Mikrobiālā DNS tika izolēta no pētījuma dalībnieku fekāliju paraugiem, izmantojot *FastDNA Spin Kit for Soil* (MP Biomedicals, LLC, USA) saskaņā ar ražotāja protokolu. DNS koncentrācija un kvalitāte tika novērtēta ar *Qubit dsDNA HS Assay Kit*. Sekvencēšanu veicošajiem pētniekiem nebija piekļuves personu identificējošai informācijai. DNS paraugi tika uzglabāti −20 °C temperatūrā.

Metagenoma bibliotēkas tika sagatavotas no 300 ng mikrobiālās DNS, izmantojot *MGIEasy Universal DNA Library Prep Kit* (*MGI Tech Co., Ltd.)*. Sagatavošana ietvēra DNS fragmentēšanu, adapteru ligēšanu, PCR amplifikāciju, attīrīšanu un kvalitātes kontroli (*Agilent Bioanalyzer 2100, Qubit® 2.0*). Sekvencēšana tika veikta ar *DNBSEQ-G400RS* platformu (PE150), paredzot aptuveni 20 miljonus nolasījumu uz paraugu. Sekvencēšanas dziļums varēja variēt atkarībā no mikrobu daudzveidības un saimnieka DNS piemaisījuma.

Mikrobioma kompozīcijas noteikšanai tika izmantota *shotgun* metagenomikas pieeja, kas sekvencē visu paraugā esošo ģenētisko materiālu (baktērijas, vīrusus, arhejas, sēnes), nodrošinot plašu mikrobu kopienas raksturojumu. Šī metode ļauj identificēt mikroorganismus līdz sugas un dažkārt celma līmenim (Lloyd-Price et al., 2016), kas ir būtiski, analizējot specifisku celmu iespējamo lomu veselībā un slimību patoģenēzē.

Shotgun pieeja sniedz arī ieskatu mikrobiotas funkcionālajā potenciālā, identificējot gēnus un metabolisma ceļus, kas saistīti ar ogļhidrātu šķelšanu, vitamīnu sintēzi, īso ķēžu taukskābju (SCFA) veidošanos un citiem procesiem (Franzosa et al., 2014). Tāpat iespējams noteikt antibiotiku rezistences gēnus, kas atspoguļo rezistences potenciālu mikrobiotā (Sommer

et al., 2009). Funkcionālā analīze ļauj izvērtēt mikrobiotas iespējamo ietekmi uz zarnu barjerfunkciju, imūnmodulāciju un vielmaiņas procesiem.

Metodes ierobežojumi ietver augstākas izmaksas salīdzinājumā ar 16S rRNS sekvencēšanu, bioinformātisko analīžu sarežģītību un iespējamu saimnieka DNS piesārņojumu fekāliju paraugos, kas var ietekmēt datu kvalitāti (Lindgreen et al., 2016). Tomēr atsevišķos gadījumos saimnieka DNS klātbūtne var sniegt papildu informāciju par saimnieka un mikrobioma mijiedarbību.

Shotgun sekvencēšana balstās uz nejaušu DNS fragmentēšanu un individuālu fragmentu sekvencēšanu, pēc kuras tiek rekonstruēts genoma saturs. Ar šo pieeju iespējams noteikt relatīvo mikroorganismu daudzumu un iegūt detalizētu priekšstatu par mikrobu kopienas struktūru.

Statistiskajā analīzē tika salīdzināta mikroorganismu relatīvā sastopamība pacientu grupās. Asociāciju izvērtēšanai tika izmantoti lineāri jauktu efektu modeļi (LME), aprēķinot koeficientus (log(koeficients)), p vērtības un q vērtības (FDR korekcija). Modeļos tika iekļauti fiksētie efekti (piemēram, gremošanas trakta slimības) un ņemti vērā iespējamie kovariāti, tostarp ĶMI un dzimums. Vairāku hipotēžu testēšanas korekcija tika veikta, lai samazinātu viltus pozitīvu rezultātu risku.

2.2.5. Datu analīze

Nolasījumu kvalitāte tika novērtēta ar *FastQC* (Andrews, 2010), bet adapteru un zemas kvalitātes fragmentu apgriešana veikta ar *fastp* (Chen et al., 2018). Turpmākai analīzei tika saglabāti sapārotie nolasījumi ≥ 100 bp. Cilvēka izcelsmes nolasījumi tika noņemti ar *Bowtie2* (Langmead & Salzberg, 2012), izmantojot GRCh38 references genomu.

Taksonomiskā klasifikācija veikta ar *Kraken2* (Wood et al., 2019) un *Bracken* (Lu et al., 2017), izmantojot UHGG v2 datubāzi (Almeida et al., 2021), līdz sugas līmenim. Funkcionālā analīze veikta ar *HUMAnN* 3 (Beghini et al., 2021), piesaistot gēnus MetaCyc metabolisma ceļiem un normalizējot relatīvās pārpilnības. Paraugi ar < 100 000 kvalitātes nolasījumu tika izslēgti.

2.2.6. Statistiskā analīze

Statistiskā analīze tika veikta *R Studio* vidē (R 4.4.1; R Core Team, 2023). Alfa daudzveidība tika aprēķināta ar *vegan* pakotni (Oksanen et al., 2022), analizējot Šenona, Simpsona un apgriezto Simpsona indeksu, rezultātus izsakot kā vidējā vērtība ± SD. Normalitāte tika pārbaudīta ar Lillieforsa testu (Lilliefors, 1967). Grupas tika salīdzinātas, izmantojot Welča t-testu vai Vilkoksona rangu summas testu atkarībā no datu sadalījuma; statistiskā nozīmība noteikta $p < 0,05$.

Beta daudzveidība tika vērtēta ar Aitčisona distanci (Aitchison, 1982) pēc CLR transformācijas (scikit-bio 0.5.5; scikit-bio development team, 2019), izslēdzot taksonus ar relatīvo pārpilnību < 0,01 % vismaz 90 % paraugu. Dati tika vizualizēti ar galveno komponentu analīzi (PCA), izmantojot *scikit-learn* (Pedregosa et al., 2011).

Diferenciālās sastopamības analīze veikta ar *limma* (Ritchie et al., 2015), normalizējot datus ar *voom* funkciju. Paraugi ar < 100 000 nolasījumu tika izslēgti. Papildus diferenciālie taksoni un funkcionālie rādītāji analizēti ar *MaAsLin2* (Mallick et al., 2021), iekļaujot adenomas statusu, dzimumu, ĶMI, smēķēšanu un blakusslimības kā fiksētos efektus. Vairāku salīdzinājumu korekcijai izmantots FDR. MaAsLin2 analīzē q <0,25 tika izmantots kā eksploratīvs atlases slieksnis; q <0,05 tika uzskatīts par konvencionālo statistiskās nozīmības slieksni.

3. Rezultāti

3.1. Pacientu raksturojums

Pētījuma ietvaros 146 pacientiem tika veikts kolonoskopijas izmeklējums. 85 no tiem resnās zarnas adenomas netika konstatētas, bet 61 pacientam tika konstatēta vismaz 1 kolorektāla adenoma. No pētījuma tika izslēgti 10 pacienti (3 pacienti ar čūlainu kolītu, 3 ar kolorektālu vēzi, 4 nepilnīgi sagatavotas resnās zarnas dēļ). Pamatojoties uz endoskopisko atradi, 136 pacienti tika sadalīti divās grupās: adenomu pozitīvā grupa (41 %, n = 56) un adenomu negatīvā jeb kontrolgrupa (59 %, n = 80) (3.1. tabula).

3.1. tabula

Pacientu sadalījums pēc iekļaušanas, izslēgšanas kritērijiem un kolonoskopijas izmeklējuma rezultātiem

Pacienti	n	%
Veikta kolonoskopija	146	100
Izslēgti	10	6,85
Iekļauti	136	93,15
Adenomu pozitīvā grupa	56	41,18
Adenomu negatīvā grupa	80	58,82

3.2. Demogrāfiskie dati

3.2.1. Vecums

Adenomu grupā dalībnieku vidējais vecums bija 53,03 ± 5,4 gadi. Kontroles grupā populācija bija jaunāka- 45,61 ± 3,0 gadi (3.2. tabula). Velča t-tests atklāja statistiski nozīmīgu vecuma atšķirību starp adenomu un kontroles grupām ($t = 9,42$, $df = 114,2$, $p < 0,001$). Datu normalitāte tika pārbaudīta ar Lillieforsa testu un apstiprināja, ka vecuma sadalījums abās grupās ir pietiekami tuvs normālam.

3.2. tabula

Pacientu vidējais vecums adenomu un kontroles grupās

Grupa	Vidējais vecums (gadi) ± SD
Adenomu grupa	53,03± 5,4
Kontroles grupa	45,61± 3,0
p vērtība	< 0,001

3.2.2. Dzimums

Adenomu grupā vīriešu īpatsvars bija skaitliski augstāks nekā kontroles grupā (48,21 % vs. 32,50 %), taču atšķirība nesasniedza statistisko nozīmīgumu (Pearson $\chi^2=3,42$; $p=0,064$).

3.3. tabula

Pacientu sadalījums pēc dzimuma

Grupa	Vīrieši, n (%)	Sievietes, n (%)	Kopā (n)	χ^2	p vērtība
AD	27/56 (48,21)	29/56 (51,79)	56	–	–
CO	26/80 (32,50)	54/80 (67,50)	80	3,42	0,064
Kopā	53 (39)	83 (61)	136	–	–

3.2.3. Pacientu dzīvesvieta

Adenomu grupā 57,14 % pacientu dzīvoja galvaspilsētā, savukārt kontroles grupā šis īpatsvars bija tikai 25,00 % (3.4. tabula). Hī kvadrāta testa rezultāts ($p < 0,001$) norāda uz statistiski nozīmīgu saistību starp dzīvesvietu un adenomu klātbūtni, kas var liecināt par iespējamu pilsētvides dzīvesveida vai vides faktoru ietekmi uz adenomu attīstību.

3.4. tabula

Pacientu dzīvesvieta

Grupa	Galvaspilsēta, n (%)	Ārpus galvaspilsētas, n (%)
AD	32/56 (57,14)	24/56 (42,86)
CO	20/80 (25,00)	60/80 (75,00)

3.2.4. Pacientu izglītība

Lielākajai daļai adenomu grupas dalībnieku bija bakalaura vai līdzvērtīgs grāds (83,90 %), kamēr kontroles grupā šis īpatsvars bija ievērojami mazāks – 46,25 %. Atšķirība bija statistiski nozīmīga ($p < 0,001$) (3.5. tabula).

3.5. tabula

Pacientu izglītība

Grupa	Augstākā, n (%)	Vidējā un zemāka, n (%)
AD	47/56 (83,9)	9/56 (16,1)
CO	37/80 (46,25)	43/80 (53,75)

3.3. Dzīvesveida faktori

Dzīvesveids, īpaši fiziskā aktivitāte un smēķēšana, ir būtiski kolorektālā vēža riska modificējošie faktori. Šajā sadaļā analizēti aptaujāto pacientu dzīvesveida paradumi un to saistība ar adenomām.

3.3.1. Fiziskā aktivitāte

Fiziskā aktivitāte būtiski atšķīrās abu grupu dalībniekiem. Adenomu grupā fiziski aktīvi bija 73,2 % (41 no 56) dalībnieku, savukārt kontroles grupā tikai 17,5 % (14 no 80). Atšķirība ir statistiski nozīmīga ($p < 0,001$) (3.6. tabula).

3.6. tabula

Fiziskās aktivitātes izplatība adenomu un kontroles grupā

Grupa	Fiziski aktīvs, n (%)	Fiziski neaktīvs, n (%)
AD	41/56 (73,2)	15/56 (26,8)
CO	14/80 (17,50)	66/80 (82,50)

3.3.2. Smēķēšana

Smēķēšanas paradumi starp grupām būtiski neatšķīrās. Adenomu grupā smēķēja 8,93 % (5 no 56) dalībnieku, savukārt kontroles grupā 3,75 % (3 no 80). Starpība nav statistiski nozīmīga ($p = 0,28$) (3.7. tabula).

3.7. tabula

Smēķēšana

Grupa	Smēķē, n (%)	Nesmēķē, n (%)
AD	5/56 (8,93)	51/56 (91,07)
CO	3/80 (3,75)	77/80 (96,25)

3.3.3. Alkohola lietošana

Alkohola lietošanas biežums starp grupām būtiski atšķīrās. Augsta alkohola patēriņa grupā (≥ 3 reizes nedēļā vai katru dienu) adenomas tika konstatētas 85,7 % (48 no 56) adenomu grupas pacientu, savukārt kontroles grupā augsts alkohola patēriņš bija 37,5 % (30 no 80) pacientu. Zema alkohola patēriņa grupā (≤ 2 reizes nedēļā vai nelieto) adenomas tika konstatētas 14,3 % (8 no 56) pacientu, bet kontroles grupā šis īpatsvars bija 62,5 % (50 no 80). Atšķirība bija statistiski nozīmīga ($p < 0,001$) (3.8. tabula).

3.8. tabula

Alkohola lietošana

Biežums	Kopā	AD	CO
Nelieto	10	2	8
Izņēmuma gadījumos	10	2	8
1–2× nedēļā	38	4	34
≥ 3× nedēļā	36	22	14
Katru dienu	42	26	16

Pētījuma rezultāti (3.9. un 3.10. tabula) liecina par būtiskām atšķirībām starp adenomu un kontroles grupu vairākos demogrāfiskos un dzīvesveida rādītājos. Adenomu grupas pacienti bija statistiski nozīmīgi vecāki ($p < 0,001$), biežāk dzīvoja galvaspilsētā ($p < 0,001$), bija ar augstāku izglītību ($p < 0,001$) un ievērojami fiziski aktīvāki ($p < 0,001$), salīdzinot ar kontroles grupu. Tāpat konstatētas statistiski nozīmīgas atšķirības dzimumu sadalījumā ($p = 0,027$) un ķermeņa masas indeksā (ĶMI) ($p = 0,039$). Smēķēšanas starpība nebija statistiski nozīmīga.

3.9. tabula

Starpgrupu salīdzinošā analīze pēc demogrāfiskiem un dzīvesveida rādītājiem

Mainīgais	AD	CO	Statistiskais tests	p vērtība
Vecums (gadi, vidējais ± SD)	53,03 ± 5,4	45,61 ± 3,0	*Welch's t-test*	< 0,001
Vīrieši (%)	48,21	32,50	*Chi-square*	0,027
Dzīvo galvaspilsētā (%)	57,14	25	*Chi-square*	< 0,001
Augstākā izglītība (%)	83,9	46,25	*Fisher's exact*	< 0,001
Fiziski aktīvs (%)	73,2	17,50	*Chi-square*	< 0,001
Smēķētājs (%)	8,93	3,75	*Fisher's exact*	0,280
Augsts alkohola patēriņš (%)	85,7	37,5	*Chi-square*	< 0,001

3.10. tabula

Adenomu un kontroles grupas pacientu demogrāfiskais raksturojums

	Kopā (136)	AD (56)	CO (80)	p vērtība
Vecums (gadi, vidējais ± SD)		53,03 ± 5,4	45,6 ± 13,0	p < 0,001
Dzimums, n %				
Vīrieši	53	27	26	0,064
Sievietes	83	29	54	
ĶMI kg/m^2 (vidējais ± SD)		27,5 ± 4,2	25,7 ± 5,2	0,039
Dzīvesvieta				0,053
Galvaspilsēta	52	32	20	<0,001
Pilsētas un rajoni	84	24	60	
Izglītība				
Augstākā	84	47	37	<0,001
Vidējā un zemāka	52	9	43	
Dzīvesveids				< 0,001
Fiziski aktīvs	55	41	14	<0,001
Fiziski neaktīvs	81	15	66	
Smēķēšana				
Smēķētājs	8	5	3	
Nesmēķētājs	128	51	77	
Alkohola lietošana				
Augsts patēriņš	78	48	30	<0,001
Zems patēriņš	58	8	50	

Kopumā 56 pacientiem konstatētas 77 adenomas. No 56 pacientiem 8 bija augsta riska adenomas (14,3 %) un 48 bija zema riska adenomas (85,7 %), p < 0,001. Starp pacientiem ar adenomām 49 % bija vīrieši (27 pacienti) un 51 % sievietes (29 pacienti); p = 0,05. Vīriešu un sieviešu attiecība adenomu un kontroles grupās bija attiecīgi 27/29 un 26/54. Kopumā 51,79 % sieviešu un 48,2 % vīriešu bija vismaz viena kolorektālā adenoma (p < 0,001). Adenomu pozitīvo pacientu vidējais vecums bija 53,03 ± 5,4, savukārt adenomu negatīvo pacientu vidējais vecums bija 45,6 ± 13 (p < 0,001). Vīriešu vidū 15,4 % no visām atklātajām kolorektālajām adenomām bija augstas pakāpes displāzija (HGD), salīdzinot ar 11,1 % sieviešu

(p = 0,704). Kopumā 41 pacientam (73,2 %) bija viena tubulāra adenoma un 15 (26,8 %) pacientiem bija vairākas tubulāras adenomas (p < 0,001).

3.11. tabulā sniegtie dati ilustrē 77 adenomu sadalījumu pēc lieluma. Adenomu izmēri iedalīti trijās grupās: mazākas par 5 mm, 5–9 mm un 10 mm un lielākas. Biežuma sadalījums šajās kategorijās parāda ievērojamas adenoma lieluma atšķirības pētītajā kohortā. No 77 analizētajām adenomām lielākā daļa ietilpst vidējā izmēra diapazonā 5–9 mm, kas veido 55 adenomas (71,4 %). Turpretim mazākas adenomas (< 5 mm) un lielākas adenomas (≥ 10 mm) ir salīdzinoši mazāk izplatītas, un katra no tām ir 11 gadījumi (14,3 %).

3.11. tabula

Adenomu izmērs un skaits

Adenomu izmērs (mm)	Adenomu skaits (n = 77)
< 5 mm	11
5–9 mm	55
10 mm un lielākas	11

Adenomu izmēru sadalījums liecina, ka vidēja izmēra adenomas (5–9 mm) dominē pacientu vidū, kas atbilst iepriekšējās literatūras datiem par biežāk sastopamajiem polipu izmēriem skrīninga kohortās.

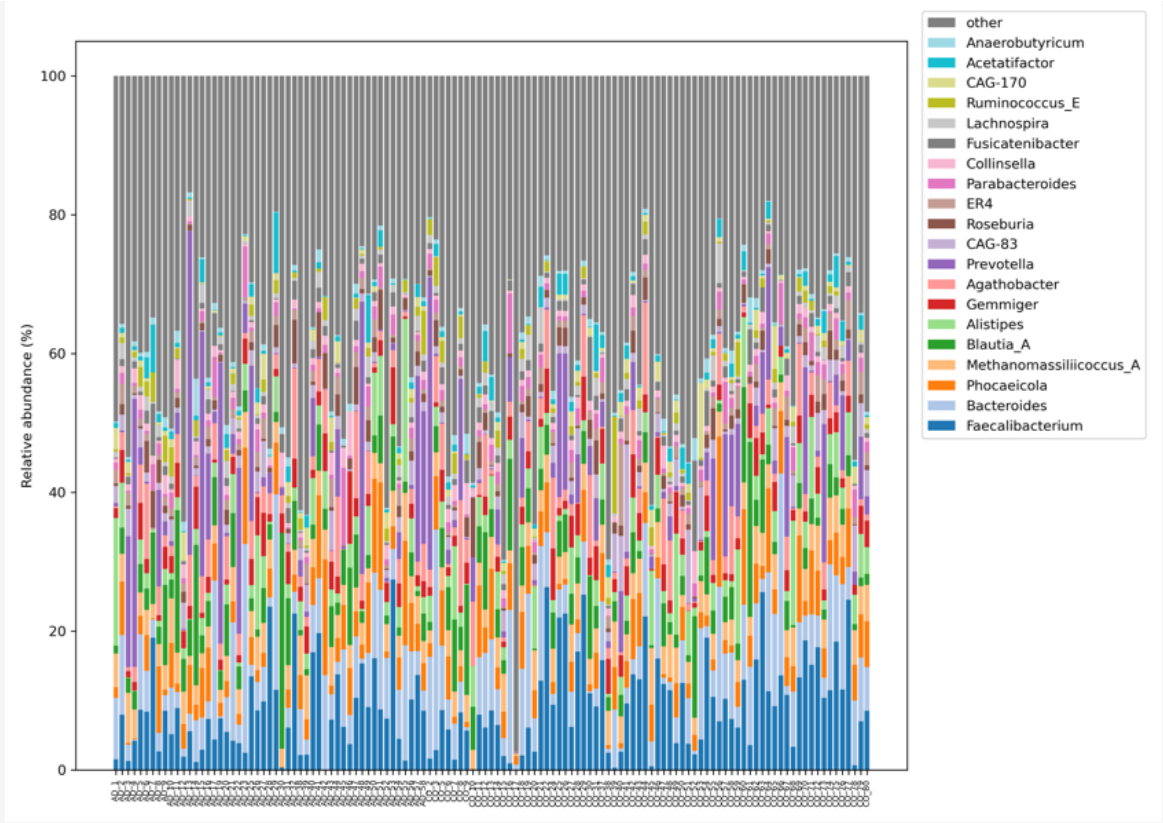
Pacientu ĶMI adenomu grupā bija 27,51 ± 4,18, bet kontroles grupā 25,73 ± 5,22 (p = 0,039).

3.4. Mikrobioma kompozīcija ģinšu līmenī

Iegūto pāru galu nolasījumu vidējā vērtība bija 22830377 (IQR 10336229). Pēc kvalitātes pārbaudes un saimniekorganisma nolasījumu izslēgšanas no 136 paraugiem saglabājās vidēji 22658664 (IQR 10326052) rādījumi (n = 123). Klasificēto nolasījumu vidējā procentuālā daļa bija 88,76 % (IQR 2,71 %).

Izplatītāko ģinšu relatīvā sastopamība pacientiem ar kolorektālām adenomām (AD) un pacientiem bez adenomām (CO) ir attēlota 3.1. attēlā. Abās grupās izplatītākās ģintis bija *Faecalibacterium* (zils), *Bacteroides* (gaiši zils), *Blautia_A* (oranžs), *Alistipes* (dzeltens), *Prevotella* (sarkans) un Roseburia (gaiši violets). Turklāt tika konstatēts, ka arheju pārstāvis *Methanomassiliicoccus_A* (zaļgani dzeltens) bija sastopams starp 20 izplatītākajām ģintīm.

Katra kolonna apzīmē atsevišķu paraugu, un katra krāsainā segmenta augstums atbilst konkrētas ģints proporcionālajai sastopamībai. Ģinšu relatīvās proporcijas norāda uz būtisku starpindividuālu mainīgumu, kas redzams kolonnu augstumu un krāsu sadalījuma daudzveidībā. Detalizēta informācija par dominējošajām ģintīm katrā paraugā un to piederību AD vai CO grupai atspoguļota 3.12. tabulā.



3.1. attēls. **Fēču mikrobioma kompozīcija katrā no pētītajiem paraugiem ģinšu līmenī**

20 izplatītākās ģintis, n = 123

3.12. tabula

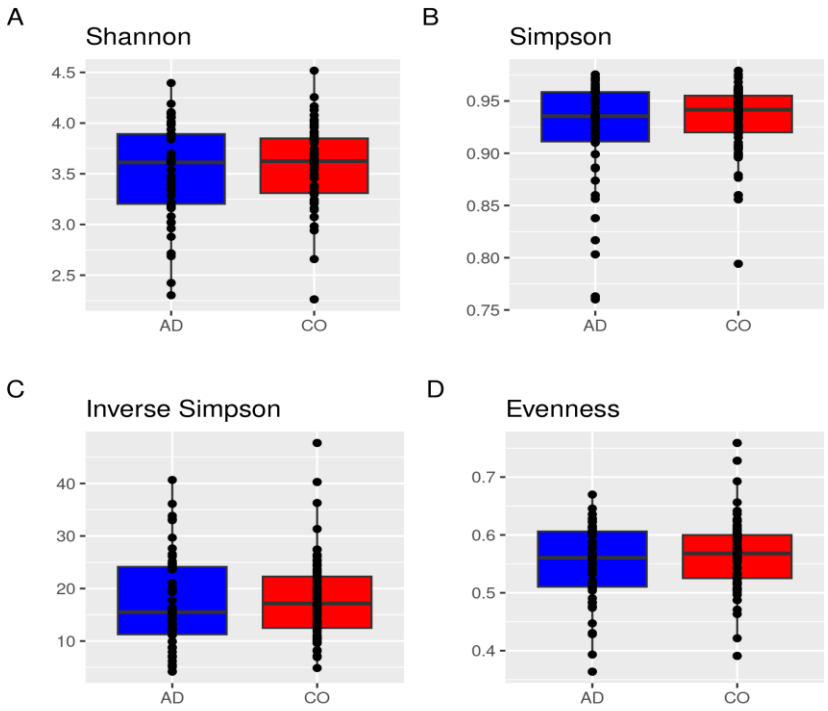
Atšķirības baktēriju sastāvā starp adenomu (AD) un kontroles (CO) grupu, izceļot biežāk sastopamās ģintis

Ģints	AD	CO
Faecalibacterium	Samazināts (~ 10–20 %) lielākajā daļā paraugu	Dominējošs (~ 40–50 %)
Bacteroides	Dominējošs (~ 55–65 %) lielākajā daļā paraugu	Mērens (~ 20–30 %)
Phocaeicola	Sastopamāks (~ 15–25 %)	Mazāk sastopams (~ 8–12 %)
Methanomassiliicoccus_A	Nedaudz vairāk izplatīts salīdzinājumā ar kontrolgrupu (~ 3–5 %)	Mazāk izplatīts, salīdzinot ar adenomu grupu (~ 2–3 %)
Blautia_A	Mēreni izplatīts (~ 5–10 %)	Vairāk izplatīts (~ 10–15 %)
Alistipes	~ 3–7 % paraugu	~ 8–12 % paraugu
Gemmiger	Zema izplatība (~ 3–5 %)	Izplatība (~ 7–11 %)
Agathobacter	Izplatība 5–11 %	Izplatība (~ 7–12 %)
Prevotella	Izplatība 15–20 %	Izplatība 20–25 %
CAG-83	Izplatība 8–12 %	Izplatība 12–17 %

3.5. Daudzveidības analīze ģinšu līmenī

3.5.1. Alfa daudzveidība

Neviens no alfa daudzveidības rādītājiem neuzrādīja statistiski nozīmīgas atšķirības starp AD un CO grupas pacientiem (3.2. attēls). Alfa daudzveidības rādītāji tika raksturoti ar mediānu un interkvartiļu diapazonu (IQR), un grupu salīdzināšanai tika izmantots Mann–Whitney U tests



3.2. attēls. **Alfa daudzveidība**

Šenona indekss (A attēls), kas atspoguļo gan bagātību (sugu skaitu), gan vienmērīgumu (cik vienmērīgi sugas ir sadalītas paraugā), neuzrādīja statistiski nozīmīgu atšķirību starp AD un CO grupu (vidējais Šenona indekss: AD = 3,6, CO = 3,8; p = 0,31). Interkvartiļu diapazoni (IQR) AD un CO grupai bija attiecīgi 3,3–3,9 un 3,5–4,0, ar būtisku pārklāšanos starp abām grupām. Tas norāda, ka kopējā mikroorganismu sugu daudzveidība, kā arī to izplatība abās grupās ir līdzīga.

Simpsona indekss (B attēls) mēra varbūtību, ka divi nejauši atlasīti indivīdi no izlases pieder vienai sugai (sugu dominēšana), atklāja salīdzināmas vērtības starp abām grupām (vidējais Simpsona indekss: AD = 0,92, CO = 0,93; p = 0,29). IQR AD un CO grupai bija attiecīgi 0,88–0,94 un 0,90–0,94. Šie dati liecina, ka nevienai grupai nav būtiskas nelīdzsvarotības sugu dominēšanā, atspoguļojot līdzīgus mikroorganismu daudzveidības līmeņus.

Apgrieztais Simpsona indekss (C attēls) norāda uz sugu bagātību, neuzrādīja būtisku atšķirību starp AD un CO grupu (vidējais inversais Simpsona indekss: AD = 15,4, CO = 14,8;

p = 0,25). AD grupai bija nedaudz lielāka mainība (IQR = 12,1–18,7), salīdzinot ar CO grupu (IQR = 12,5–16,9), taču šī atšķirība nesasniedza statistisku nozīmīgumu. Šis rādītājs vēl vairāk apstiprina būtisku atšķirību trūkumu sugu bagātību starp grupām.

Vienmērīgums (D attēls) – sugu izplatības viendabīguma mērs – arī neuzrādīja būtiskas atšķirības starp AD un CO grupu (vidējais vienmērīgums: AD = 0,58, CO = 0,60; p = 0,34). IQR bija 0,55–0,62 AD grupai un 0,57–0,62 CO grupai. Tas norāda, ka mikroorganismu kopienas abās grupās ir līdzīgi vienmērīgi sadalītas, bez būtiskām sugu dominēšanas izmaiņām (3.13. tabula).

AD un CO grupu alfa daudzveidības rādītāji tika salīdzināti ar Mann–Whitney U testu; nevienam no analizētajiem rādītājiem statistiski nozīmīga starpgrupu atšķirība netika konstatēta.

3.13. tabula

Alfa daudzveidība ģinšu līmenī

Mērījums	Mediāna (AD)	Mediāna (CO)	p vērtība	Interpretācija
Šenona indekss	3,6	3,8	0,31	Nav būtisku atšķirību bagātībā + vienmērīgumā
Simpsona indekss	0,92	0,93	0,29	Nav būtisku atšķirību sugu dominēšanā
Apgrieztais Simpsona indekss	15,4	14,8	0,25	Nav būtisku atšķirību bagātībā
Vienmērīgums	0,58	0,6	0,34	Nav būtisku atšķirību vienveidībā

Tā kā nevienam no alfa daudzveidības rādītājiem netika konstatētas statistiski nozīmīgas atšķirības, šie rezultāti liecina par līdzvērtīgu mikrobiotas daudzveidības profilu starp pacientiem ar adenomām un kontrolgrupu ģinšu taksonomiskajā līmenī.

3.5.2. Beta daudzveidība sugu līmenī

Beta daudzveidība tika analizēta, lai novērtētu mikroorganismu kopienas sastāva atšķirības starp AD un CO grupām, izmantojot paraugus, kas pēc kvalitātes kontroles bija piemēroti metagenomiskai analīzei. Atšķirību vizualizācijai tika izmantota galveno komponentu analīze (PCA).

Beta daudzveidība tika izvērtēta ar ordinācijas analīzi, kurā iekļauti 123 paraugi, kas atbilda metagenomiskās kvalitātes kritērijiem. Tika izveidots biplots – izmantojot PCA, iekļaujot abu grupu paraugus (3.3. attēls). Biplots ir vizuāls attēlojums, kas atspoguļo gan paraugus (piemēram, indivīdu mikrobiomi), gan mikroorganismu pazīmes (piemēram, baktēriju

sugas vai ģintis). Šāds attēlojums palīdz izprast paraugu atšķirības un noteikt mikroorganismus, kas visvairāk ietekmē šīs atšķirības. Rezultāti norāda uz skaidrām atšķirībām starp grupām.

Beta daudzveidības diagramma atspoguļo mikroorganismu kopienas strukturālās atšķirības starp AD (adenomas) grupu (oranži apļi) un CO (kontroles) grupu (zili trīsstūri) sugu līmenī. Galveno komponentu analīze (PCA) tiek izmantota, lai vizualizētu mikroorganismu sastāva atšķirības starp šīm grupām.

Oranžās (AD) un zilās (CO) elipses ir atšķirīgas, kas norāda uz atšķirībām mikrobiotas sastāvā. AD grupai ir izkliedētāks sadalījums, kas liecina par lielākām mikrobiomu sastāva atšķirībām salīdzinājumā ar CO grupu. CO grupa grupējas ciešāk, kas nozīmē stabilāku un vienmērīgāku mikrobiomu.

Mikroorganismi, kas vairāk saistīti ar AD grupu (oranži identificētāji):

- *Prevotella* sugas (piemēram, *Prevotella sp900029075, Prevotella sp900519615, Prevotella sp900376765*),
- *Holdemanella sp002299315*,
- *Collinsella* sugas (piemēram, *Collinsella sp900454545, Collinsella sp900763055*),
- *Granulicatella* sugas (piemēram, *Granulicatella sp900163355*),
- *Bacillus* sugas.

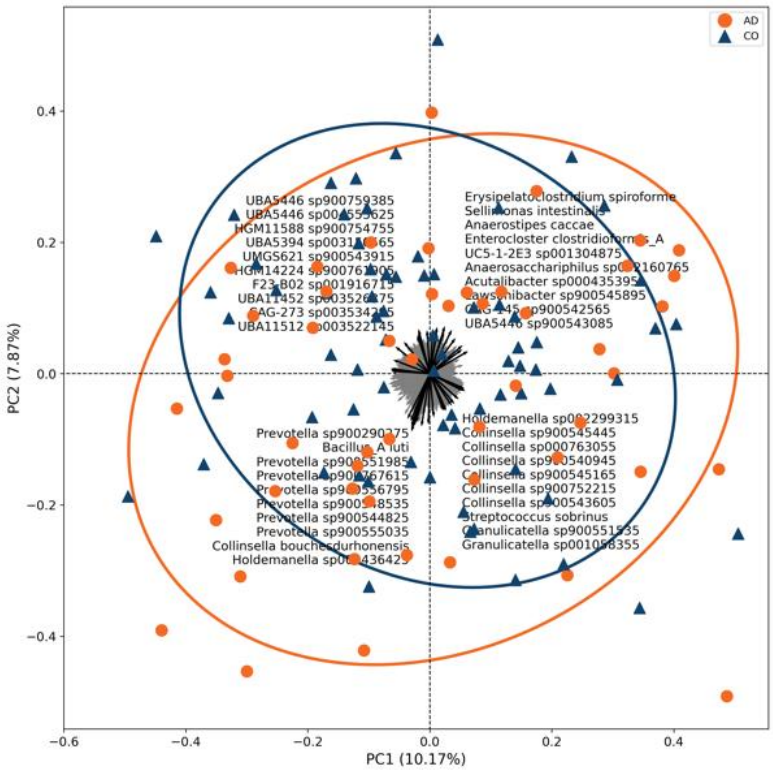
Mikroorganismi, kas vairāk saistīti ar CO grupu (zili identificētāji):

- *Faecalibacterium sugas*,
- *Erysipelatoclostridium spiroforme*,
- *Sellimonas intestinalis*,
- *Anaerostipes caccae*,
- *Enterocloster clostridioformis*,
- *Anaeromassiliicoccus_A*,
- *Acutalibacter sp000453395*.

Lai gan starp abām grupām nav pilnīgi skaidras robežas, AD un CO paraugu grupēšana pēc PCA asīm liecina par smalkām atšķirībām mikroorganismu kopienas struktūrā. Šādas tendences uz grupēšanos liecina par mikroorganismu kopienas strukturālām atšķirībām, kas, iespējams, saistītas ar adenomu klātbūtni.

PCA izkliedes diagramma parāda skaidru diferenciāciju starp AD (oranži apļi) un CO (zili trijstūri) grupu. PC1 (10,17 %) izskaidro lielāko daļu dispersijas, norādot uz būtiskām atšķirībām mikroorganismu sastāvā. PC2 (7,87 %) mazāk ietekmē novirzi, taču joprojām izceļ nelielas atšķirības un sniedz papildu informāciju par nelielām variācijām. AD grupas paraugi koncentrējas diagrammas kreisajā pusē, savukārt CO grupas – labajā pusē. CO grupa ir bagātināta ar *Faecalibacterium*, *Anaerostipes* un citiem labvēlīgiem mikroorganismiem,

savukārt AD grupa vairāk saistīta ar *Bacteroides*, *Prevotella* un *Collinsella*, kas atspoguļo disbiozi un iespējamu iekaisuma klātbūtni.



3.3. attēls. **Beta daudzveidība**

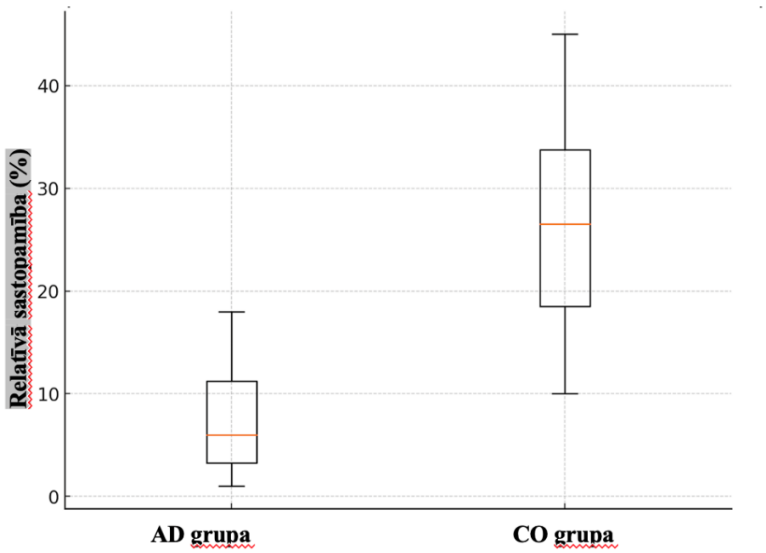
Paraugu izplatība

PCA diagramma (plots) ilustrē noteicošos mikroorganismus, kas identificē AD un CO grupu:

Starpgrupu mainīgums: paraugi no AD grupas (oranži punkti) un CO grupas (zili trijstūri) daļēji pārklājas, bet arī veido atsevišķas kopas, kas liecina par daļēju diferenciāciju starp grupām.

Grupu iekšējais mainīgums: AD grupai ir plašāka izkliede salīdzinājumā ar CO grupu, par ko liecina lielāka ticamības elipse. Tas liecina par lielāku mikrobiotas heterogenitāti, salīdzinot ar CO grupu, kuras paraugi ir viendabīgāki.

Beta daudzveidība tika raksturota, izmantojot Aitčisona distanci un vizualizēta PCA telpā. AD un CO grupu paraugi daļēji pārklājās, vienlaikus uzrādot atšķirīgu grupēšanās tendenci; AD grupā bija novērojama arī lielāka paraugu izkliede. Statistiskā starpgrupu atšķirība interpretējama pēc beta daudzveidības analīzei atbilstoša inferenciālā testa rezultātiem.



3.4. attēls. **Mikroorganismu sastopamības salīdzinājums AD un CO grupā**

3.14. tabula

Grupu statistiskais salīdzinājums (vidējās vērtības AD un CO)

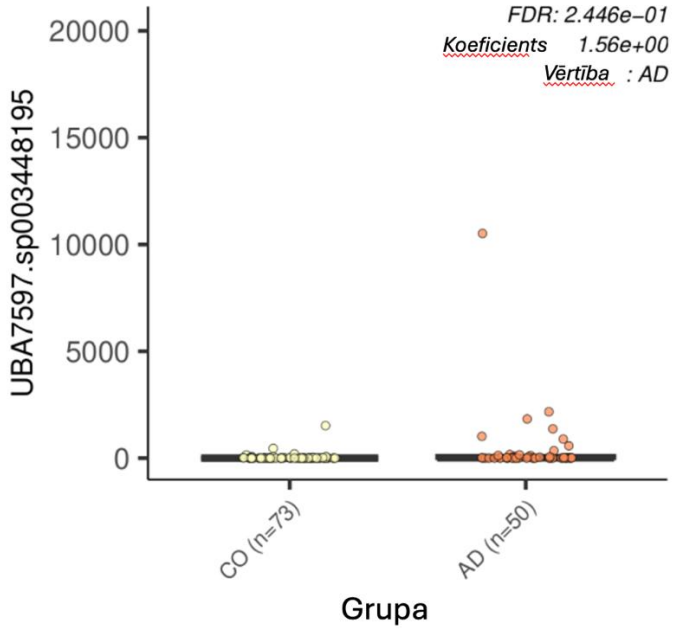
Ģints	AD grupa (%)	CO grupa (%)	CO un AD atšķirības
Faecalibacterium	10,0	40,2	+30,2 (vairāk CO gr.)
Bacteroides	59,2	25,0	−34,2 (vairāk AD gr.)
Prevotella	18,0	23,0	+5,0 (vairāk CO gr.)
Phocaeicola	19,0	10,0	−9,0 (vairāk AD gr.)
Collinstella	6,0	12,8	+6,8 (vairāk CO gr.)
Anaerostipes	5,6	18,0	+12,4 (vairāk CO gr.)

3.6. Diferenciālās sastopamības analīze starp pacientiem ar kolorektālām adenomām un pacientiem bez tām

Visu taksonu salīdzinājumos sākotnējās p vērtības tika koriģētas, izmantojot kļūdas atklāšanas biežuma (FDR) metodi, lai novērstu daudzkārtējas testēšanas radīto kļūdas risku; par statistiski nozīmīgiem rezultātiem tika uzskatītas asociācijas ar FDR < 0,25 (MaAsLin2 noklusējuma slieksnis). Kopumā tika analizēti 123 mikrobiotas metagenomiskie paraugi.

Limma analīze atklāja vienu taksonu ar statistiski nozīmīgu relatīvās sastopamības atšķirību starp AD un CO grupām: *UBA7597 sp003448195* bija ievērojami vairāk izplatīts AD grupā (*LogFC* = 3,44; FDR = 0,0023), kas atbilst vairāk nekā desmitkārtīgam pieaugumam salīdzinājumā ar CO grupu. Pozitīvā *LogFC* vērtība norāda, ka mikroorganisma relatīvā sastopamība ir palielināta AD grupā.

AD grupā, salīdzinot ar CO grupu, mikroorganismam *UBA7597 sp003448195* konstatēja statistiski nozīmīgi augstāku relatīvo sastopamību (logFC = 3,4458; AveExpr = −2,6435; t = 5,1366; p = 1,03 × 10^{-6}; FDR = 0,0023; B = 4,6811). (skat. 3.5. attēlu).



3.5. attēls. **Limma diferenciālās sastopamības analīzes rezultāti: *UBA7597 sp003448195* sastopamība AD un CO grupā**

3.7. Mikroorganismu ģintis ar būtiskām relatīvās sastopamības atšķirībām pētījumā analizēto faktoru ietekmē

3.15. tabulā ir sniegti mikrobiotas analīzes rezultāti, identificējot baktēriju taksonus, kas saistīti ar specifiskiem klīniskiem mainīgajiem lielumiem, piemēram, gremošanas trakta (GI) slimībām (GERS, gastrītu, peptisku čūlu), ĶMI un smēķēšanu. Analīzē tika izmantota viltus atklāšanas rādītāja (false discovery rate, FDR) korekcija. $q < 0,05$ tika uzskatīts par konvencionālo statistiskās nozīmības slieksni, savukārt MaAsLin2 analīzē $q < 0,25$ tika izmantots kā eksploratīvs atlases slieksnis. Rezultāti ar $0,05 \leq q < 0,25$ tika interpretēti kā eksploratīvas asociācijas, kurām nepieciešama turpmāka validācija.

Pozitīvs koeficients (log(koeficients)) norāda uz sugām, kas biežāk sastopamas pacientiem ar noteiktiem klīniskajiem faktoriem. Negatīvs koeficients – uz sugām, kuru sastopamība ir samazināta; p vērtība norāda uz statistisko nozīmīgumu starp mikroorganismu sugām un konkrēto faktoru.

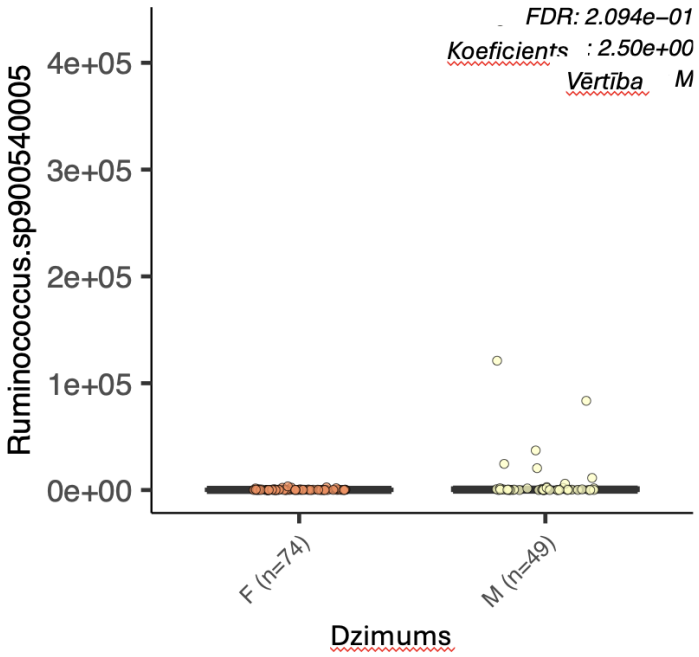
3.15. tabulā attēlotas mikroorganismu ģintis, kur fiksētais efekts ir kāda no gremošanas trakta slimībām (tabulā *value*).

Coef (*LogFC, Log Fold Change*) raksturo relatīvās sastopamības izmaiņas logaritmiskajā skalā: pozitīvs *LogFC* vērtējums – palielināta relatīvā sastopamība pacientiem ar šo fiksēto efektu, negatīvs *LogFC* – samazināta relatīvā sastopamība.

Stderr apzīmē standarta kļūdu, kas atspoguļo *LogFC* mainīgumu, N – kopējais analizēto paraugu skaits, *N.not.0* – paraugu skaits, kuros baktērija tika konstatēta, p vērtība – statistiskā

nozīme, norāda uz atšķirības statistisko ticamību. Q vērtība (FDR) – viltus atklāšanas rādītāja korekcija (pielāgota p vērtība vairākiem salīdzinājumiem).

Ruminococcus.sp900540005 uzrādīja lielāku sastopamību vīriešiem – koeficients 2,50 liecina par ievērojamu pieaugumu. Lai gan p vērtība $7{,}00 \times 10^{-5}$ norāda uz statistiski ticamu atšķirību, FDR (q = 0,209) liecina, ka šis rezultāts vairākkārtējas pārbaudes kontekstā ir jāinterpretē piesardzīgi. Tādējādi *Ruminococcus.sp900540005* var būt vairāk izplatīta vīriešu dzimuma indivīdiem (3.6. attēls).



3.6. attēls. ***Ruminococcus.sp900540005* relatīvā sastopamība atkarībā no dzimuma**

Spēcīgākās atšķirības tika novērotas, kad analīzē tika iekļauta gremošanas trakta diagnoze.

3.15. tabula

Atšķirīgi sastopamās mikroorganismu ģintis

Taksons	Metadati	Vērtība	Koef.	Stderr	N	N.not.0	pval	Qval
Collinsella sp900541645	GT slimība	Gastrīts	−4,721	0,866	123	19	2,97E-07	0,003
Collinsella sp900541645	GT slimība	Nav	−4,600	0,847	123	19	3,26E-07	0,003
Collinsella sp900541645	GT slimība	GERS	−4,387	0,868	123	19	1,68E-06	0,011
Sutterella faecalis	Smēķēšana	Jā	6,369	1,420	123	34	1,81E-05	0,091
Collinsella sp900541645	GT slimība	Pept čūla	−4,865	1,137	123	19	3,99E-05	0,161
CAG.103.sp004565696	GT slimība	Pept čūla	−4,277	1,086	123	117	0,0001	0,209

3.15. tabulas turpinājums

Taksons	Metadati	Vērtība	Koef.	Stderr	N	N.not.0	pval	Qval
Collinsella sp900754275	GT slimība	Nav	−2,626	0,660	123	20	0,0001	0,209
Dialister sp900543455	GT slimība	Gastrīts	−7,243	1,796	123	69	0,0001	0,209
Gemmiger sp900539695	GT slimība	Pept čūla	−6,619	1,627	123	40	8,85E-05	0,209
Holdemania massiliensis	ĶMI	ĶMI	−0,208	0,053	123	117	0,0001	0,209
Lawsonibacter sp900066645	ĶMI	ĶMI	−0,144	0,036	123	121	0,0001	0,209
Parolsenella massiliensis	GT slimība	Gastrīts	−5,087	1,248	123	22	8,63E-05	0,209
Parolsenella massiliensis	GT slimība	Nav	−4,886	1,233	123	22	0,0001	0,209
RC9.sp900546395	ĶMI	ĶMI	−0,129	0,032	123	116	0,0001	0,209
Ruminococcus sp900540005	Dzimums	M	2,495	0,604	123	102	7,00E-05	0,209

3.7.1. Saistība starp mikroorganismu ģintīm un gremošanas trakta slimībām

Ar gastrītu saistītie taksoni

Collinsella sp. – lai gan tikai 19 subjektiem, taču vērojama spēcīga negatīva saistība ar gastrīta stāvokli, kas liecina par potenciāli aizsargājošu vai samazinātu klātbūtni gastrīta gadījumos (koef.: −4,721, stderr: 0,866, pval: 2,97E-07 – statistiski ļoti nozīmīgs, qval: 0,003 – pēc korekcijas paliek nozīmīga, N.not.0: 19 no 123).

Dialister sp. – spēcīga negatīvā ietekme, pēc korekcijas nepaliek nozīmīga, tas varētu liecināt, ka šāds rezultāts var būt nejaušības dēļ (koef.: −7,243, stderr: 1,796, pval: 0,0001 – statistiski nozīmīgs, qval: 0,209 – nav nozīmīga pēc vairākkārtējas pārbaudes korekcijas, N.not.0: 69 no 123).

Parolsenella sp. – līdzīgi kā *Dialister* – sākotnēji šķiet nozīmīga, bet neiztur q vērtības korekciju (koef.: −5,087, stderr: 1,248, pval: 8.63E-05 – statistiski nozīmīgs, qval: 0,209 – nav nozīmīga pēc korekcijas, N.not.0: 22 no 123).

Apkopojums attēlots 3.16. tabulā.

3.16. tabula

Ar gastrītu saistītie taksoni

Taksons	Koeficients	p vērtība	q vērtība	Interpretācija
Collinsella sp.	−4,721	2,97E-07	0,003	Statistiski nozīmīga negatīva asociācija pēc FDR korekcijas (q=0,003)
Dialister sp.	−7,243	0,0001	0,209	Nav q-nozīmīga. Varētu būt nejaušība
Parolsenella sp.	−5,087	8,63E-05	0,209	Nav q-nozīmīga. Tendence uz negatīvu asociāciju

Tikai *Collinsella sp.* uzrāda statistiski nozīmīgu un spēcīgu negatīvu saistību ar gastrītu pat pēc korekcijas, taču *Dialister sp.* un *Parolsenella* uzrāda tendenci uz nozīmīgumu, bet nepaliek nozīmīgas pēc pielāgošanās vairākiem salīdzinājumiem.

Ar GERS saistītie taksoni

Collinsella sp. – lai gan tika atklāts tikai 19 no 123 paraugiem, vēro spēcīgu un nozīmīgu saistību.

Koeficients −4,387 liecina, ka lielāka *Collinsella sp.* klātbūtne ir stipri negatīvi saistīta ar GERS. Tas nozīmē, ka cilvēkiem ar GERS ir ievērojami mazāka iespēja, ka *Collinsella sp.* tiks konstatēta nozīmīgā līmenī.

Zema standarta kļūda (0,868) parāda, ka aprēķins ir salīdzinoši precīzs.

p vērtība (1,68E-06) – ļoti statistiski nozīmīgs, daudz zem 0,05 sliekšņa.

q vērtība (0,011) – arī pēc pielāgošanas vairākām pārbaudēm (piemēram, FDR korekcijai), kas liecina, ka tas, visticamāk, nav viltus atklājums.

Collinsella sp. ir statistiski nozīmīga un spēcīga negatīva saistība ar GERS, lai gan izlasē šis mikroorganisms ir sastopams salīdzinoši reti. Tas pastiprina iepriekšējo rezultātu, kas liecina par līdzīgu negatīvu saistību ar gastrītu, kas liecina, ka *Collinsella sp.* var būt aizsargājoša vai samazināta augšējā gremošanas trakta slimību gadījumos.

Analīzē *Collinsella sp.* uzrādīja statistiski nozīmīgu negatīvu saistību ar GERS (koeficients = −4,387; $p = 1{,}68 \times 10^{-6}$; q = 0,011). Negatīvais koeficients norāda uz apgrieztu saistību starp šā taksona relatīvo sastopamību un GERS. Rezultāts ļauj izvirzīt hipotēzi par iespējamu aizsargājošu lomu, tomēr tas nepierāda cēloņsakarību.

Ar peptisku čūlu saistītie taksoni

Collinsella sp. – potenciāli aizsargājoša loma peptiskas čūlas gadījumā, bet tikai 19 indivīdiem un neatbilst q vērtības slieksnim (koef.: −4,865, stderr: 1,137, pval: 3,99E-05 – statistiski nozīmīgi, qval: 0,161 – pēc korekcijas nav nozīmīga, N.not.0: 19 no 123).

CAG-103 sp. – spēcīga negatīva asociācija un plaši izplatīta, bet nav q-nozīmīga (koef.: −4,277, stderr: 1,086, pval: 0,0001 – statistiski nozīmīgs, qval: 0,209 – pēc korekcijas nav nozīmīga, N.not.0: 117 no 123). Negatīvais koeficients norāda uz zemāku *Collinsella sp.* relatīvo sastopamību pacientiem ar gastrītu/GERS; asociācijas bioloģiskā un cēloniskā nozīme šajā pētījumā nav nosakāma.

Gemmiger sp. – spēcīgākais efekta lielums un piemīt visiem paraugiem. Iespējams, sistēmiska atšķirība starp gadījumiem un kontrolēm, lai gan pēc vairākkārtējas testēšanas korekcijas tā nav nozīmīga (koef.: −6,619, stderr: 1,627, pval: 8,85E-05 – statistiski nozīmīgs,

qval: 0,209 – pēc korekcijas nav nozīmīga, N.not.0: 123 no 123). Šī saistība attēlota 3.17. tabulā.

3.17. tabula

Ar peptisku čūlu saistītie taksoni

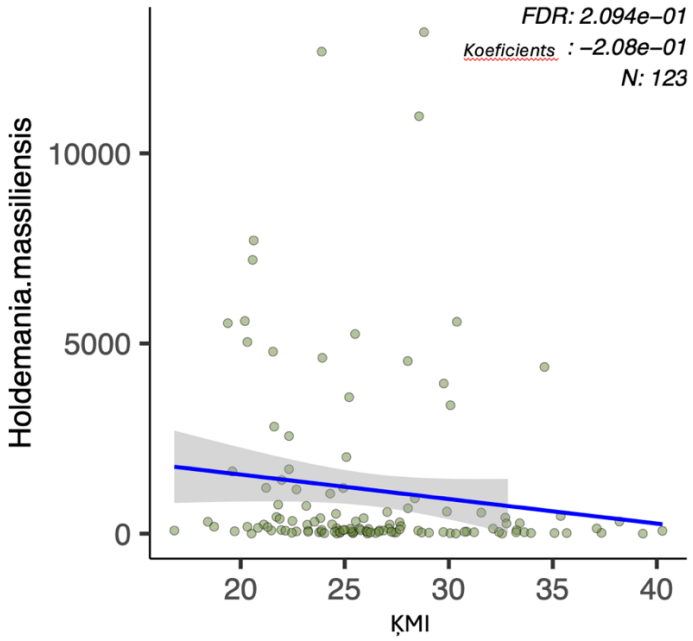
Taksons	Koeficients	p vērtība	q vērtība	Interpretācija
Collinsella sp.	−4,865	3,99E-05	0,161	Nomināli nozīmīga p vērtība; eksploratīva asociācija pēc FDR korekcijas (q=0,161); q>0,05
CAG-103 sp.	−4,277	0,0001	0,209	Nomināli nozīmīga p vērtība; eksploratīva asociācija pēc FDR korekcijas (q=0,209); q>0,05
Gemmiger sp.	–6,619	8,85E-05	0,209	Nomināli nozīmīga p vērtība; eksploratīva asociācija pēc FDR korekcijas (q=0,209); q>0,05

Visiem trim taksoniem bija nomināli statistiski nozīmīgas p vērtības, un to q vērtības sasniedza eksploratīvo MaAsLin2 q<0,25 slieksni. Tomēr neviena asociācija nesasniedza konvencionālo FDR slieksni q<0,05, tādēļ šīs atrades interpretējamas kā eksploratīvas un turpmāk validējamas.

3.7.2. Saistība starp mikroorganismu ģintīm un ķermeņa masas indeksu (ĶMI)

Trim taksoniem – *Holdemania, Lawsonibacter* un *RC9* – tika konstatēta negatīva saistība ar ĶMI, kas liecina, ka indivīdiem ar augstāku ĶMI šie mikroorganismi var būt mazāk izplatīti. Lai gan visiem novērotas zemas p vērtības, kas liecina par iespējami ticamām asociācijām, neviena no tām nav statistiski nozīmīga pēc vairākkārtējo testu korekcijas (q = 0,209 visiem).

Holdemania – koeficients −0,208 (mērena negatīva saistība), stderr 0,053, p = 0,0001. Taksons sastopams 117 no 123 paraugiem – plaši izplatīts. Neskatoties uz statistiski nozīmīgo p vērtību, q=0,209 norāda uz eksploratīvu asociāciju, kas nesasniedz q<0,05 slieksni. Šie rezultāti ir vizualizēti 3.7. attēlā, kur izkliedes diagramma parāda relatīvās sastopamības izmaiņas atkarībā no ĶMI. Regresijas līnijas norāda uz negatīvām tendencēm, savukārt koeficienti un FDR vērtības sniedz ieskatu statistiskajā nozīmīgumā.



3.7. attēls. ***Holdemania massiliensis*** **relatīvās sastopamības saistība ar ĶMI (nomināli statistiski nozīmīga p vērtība; pēc FDR korekcijas q=0,209, eksploratīva asociācija)**

Lawsonibacter – koeficients −0,144 (neliela negatīva saistība), stderr 0,036, p = 0,0001, q = 0,209. Sastopams 121 no 123 paraugiem, ļoti izplatīts. Tāpat kā iepriekš, *Lawsonibacter* asociācija sasniedza eksploratīvo q<0,25 slieksni (q=0,209), bet nesasniedza q<0,05.

RC9 – koeficients −0,129, stderr 0,032, p = 0,0001, q = 0,209. Sastopams 116 no 123 paraugiem. Līdzīgi, p vērtība ir nozīmīga, bet q nav.

RC9 asociācija sasniedza eksploratīvo q<0,25 slieksni (q=0,209), bet nesasniedza q<0,05. Visu trīs taksonu asociācijas sasniedza eksploratīvo MaAsLin2 q<0,25 slieksni, bet nesasniedza konvencionālo q<0,05 slieksni. Tādēļ tās interpretējamas kā eksploratīvas negatīvas asociācijas ar ĶMI. Taksoni ir ļoti izplatīti, padarot šīs tendences vērtējamas, pat ja tās nav statistiski koriģētas. Šī saistība attēlota 3.18. tabulā.

3.18. tabula

Saistība starp specifisku baktēriju taksonu sastopamību un ķermeņa masas indeksu (ĶMI): regresijas koeficienti un statistiskā nozīmība

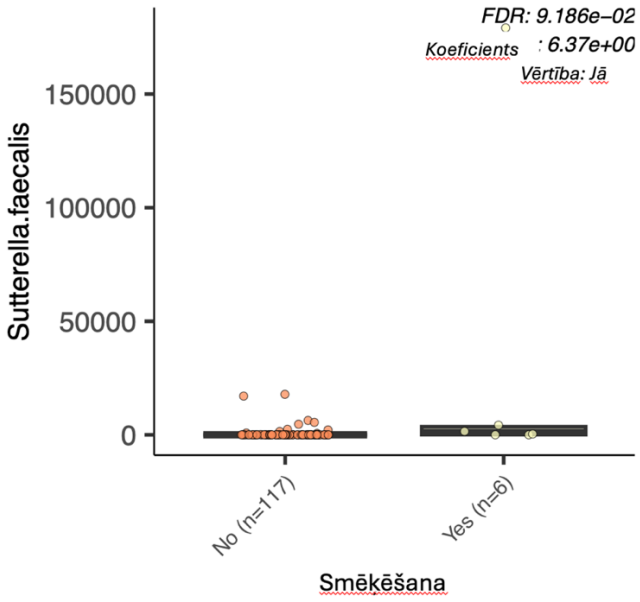
Taksons	Koeficients	FDR (q vērtība)	Interpretācija
Holdemania	−0,208	0,209	Eksploratīva negatīva asociācija; q=0,209, q>0,05
Lawsonibacter-	−0,145	0,209	Eksploratīva negatīva asociācija; q=0,209, q>0,05
RC9	−0,130	0,209	Eksploratīva negatīva asociācija; q=0,209, q>0,05

Visi trīs taksoni uzrāda konsekventu modeli, kurā tie ir biežāk sastopami indivīdiem ar zemāku ĶMI, taču asociācijas neiztur FDR korekciju, tāpēc tās jāinterpretē piesardzīgi.

3.7.3. Saistība starp mikroorganismu ģintīm un smēķēšanu

Sutterella faecalis uzrādīja pozitīvu asociāciju ar smēķēšanu (koeficients = +6,369; $p = 1{,}81 \times 10^{-5}$; q = 0,091). Asociācija sasniedza eksploratīvo MaAsLin2 q<0,25 slieksni, bet nesasniedza konvencionālo statistiskās nozīmības slieksni q<0,05.

Sutterella faecalis bija sastopams 34 no 123 indivīdiem – aptuveni 28 % no kopējās izlases, kas norāda uz izteiktu pieaugumu šī taksona sastopamībā smēķētājiem (skat. 3.8. attēlu un 3.19. tabulu).



3.8. attēls. **Saistība starp smēķēšanu un *Sutterella faecalis* izplatību (FDR > 0,05)**

3.19. tabula

Saistība starp smēķēšanu un *Sutterella faecalis* izplatību

Grupa	*Sutterella faecalis* izplatība	n	Interpetācija
Smēķētāji	Izteikti augstāka	6	Stipra pozitīva saistība
Nesmēķētāji	Zemāka	117	–
FDR	0,091		Eksploratīva pozitīva asociācija (q=0,091); nesasniedz q<0,05.

FDR koriģētā q vērtība bija 0,091. Tādējādi asociācija nesasniedza konvencionālo statistiskās nozīmības slieksni q<0,05, bet atbilda MaAsLin2 eksploratīvajam q<0,25 slieksnim un interpretējama kā eksploratīva atrade.

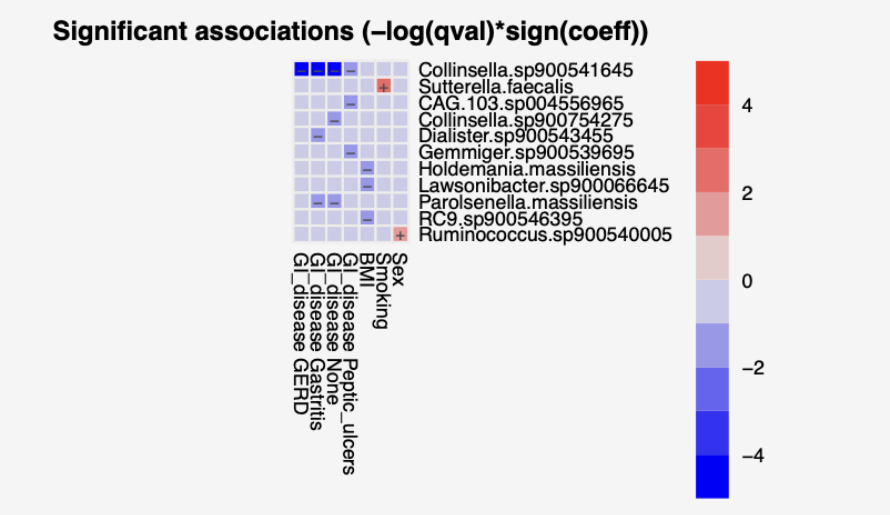
3.7.4. Nozīmīgās mikroorganismu asociācijas ar klīniskiem un demogrāfiskiem faktoriem (MaAsLin2 analīzes rezultātu vizualizācija karstuma kartē)

Karstuma kartē (3.9. attēls) attēlotas asociācijas starp mikroorganismu taksoniem un fiksētajiem efektiem, kas MaAsLin2 analīzē sasniedza iepriekš definēto eksploratīvo q<0,25 slieksni. Horizontālā X ass atspoguļo dažādus klīniskos vai demogrāfiskos mainīgos (fiksētos faktorus), bet vertikālā Y ass attēlo baktēriju taksonus.

Šūnas krāsa/vērtība apzīmē log(q vērtību), kas sareizināta ar koeficientu.

- Augstas pozitīvās vērtības (tumši sarkana) liecina par spēcīgu pozitīvu saistību ar zemu q vērtību (statistiski nozīmīga).
- Augstas negatīvās vērtības (tumši zila) liecina par spēcīgu negatīvu saistību ar zemu q vērtību.
- Gaiši sarkana vai gaiši zila krāsa norāda uz nelielu efektu lielumu un/vai augstu q vērtību, tādējādi šīs asociācijas var nebūt statistiski nozīmīgas.

Karstuma karte ir statistiski nozīmīgu mikroorganismu asociāciju saspiesta vizualizācija. Asociācijām ir koriģēta q vērtība. Spēcīgas negatīvas asociācijas (zilā krāsā) norāda uz taksoniem, kuru relatīvā sastopamība ir zemāka konkrētā klīniskā vai demogrāfiskā faktora ietekmē. Spēcīgas pozitīvas asociācijas (sarkanā krāsā) norāda uz biežāk sastopamiem taksoniem.



3.9. attēls. **Baktēriju taksonu eksploratīvās asociācijas ar klīniskajiem un demogrāfiskajiem fiksētajiem faktoriem, kas MaAsLin2 analīzē sasniedza q<0,25 slieksni**

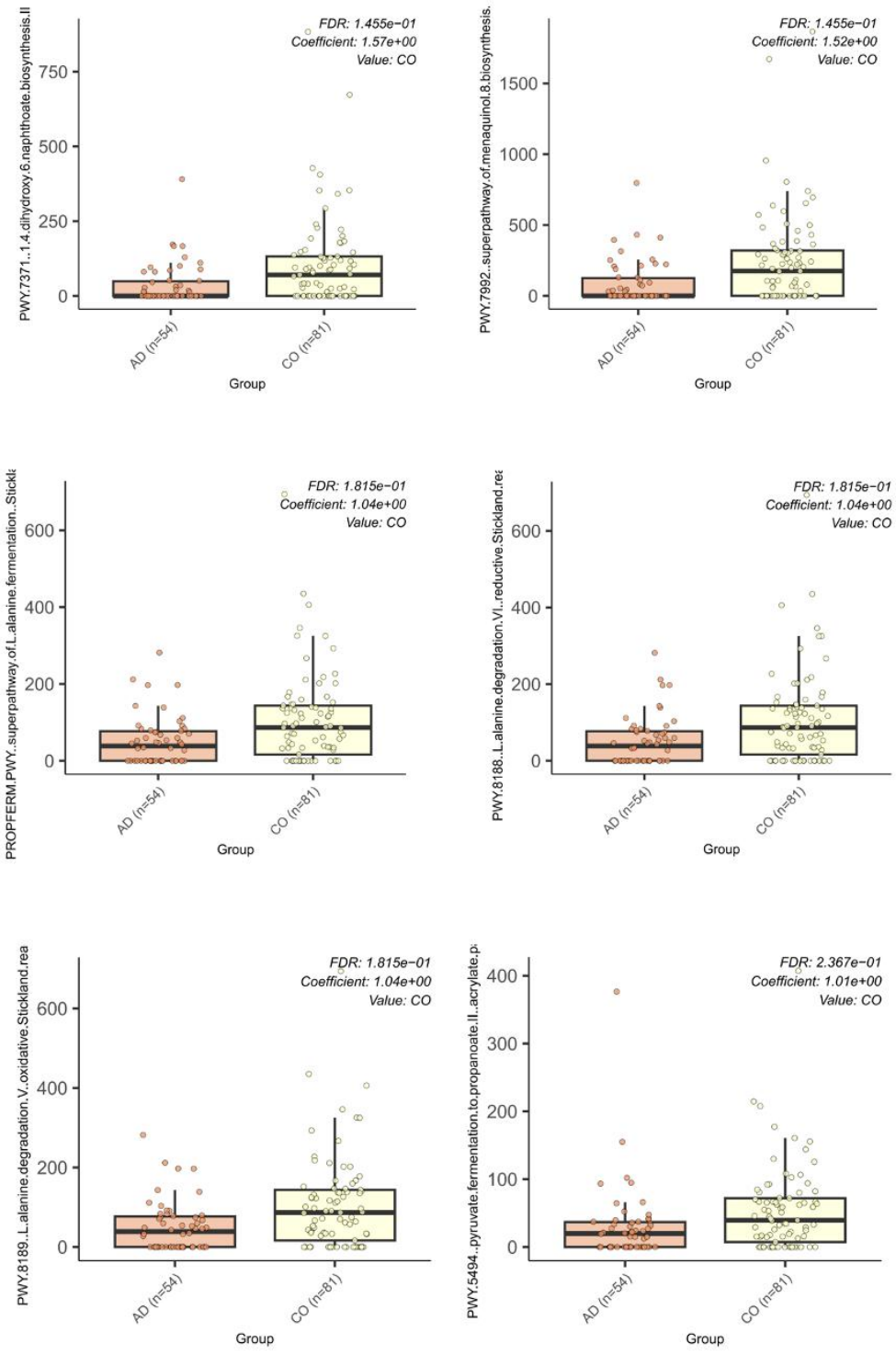
Tikai asociācijas ar $q < 0{,}25$ tika iekļautas karstuma kartē, ņemot vērā eksploratīvo raksturu un samērā nelielo izlases apjomu.

3.8. Mikrobioma funkcionālie ceļi ar eksploratīvām atšķirībām starp pacientiem ar kolorektālām adenomām (AD grupa) un pacientiem bez kolorektālām adenomām (kontroles grupa, CO)

Lai noskaidrotu iespējamās atšķirības mikroorganismu funkcijās atkarībā no kolorektālo adenomu statusa, tika novērtēts zarnu mikrobioma funkcionālais profils, izmantojot MaAsLin2. Kopumā tika analizētas 4511 mikroorganismu funkcijas. 243 funkcijas uzrādīja izteiktākas novirzes, taču daudzfaktoru asociācijas analīze, ņemot vērā dažādus fiksētos efektus, atklāja būtiskas atšķirības sešās funkcijās atkarībā no kolorektālo adenomu klātbūtnes.

Analizējot mikroorganismu funkcijas, kā nozīmīguma kritērijs tika izmantots MaAsLin2 ar FDR (viltus atklāšanas rādītāja) slieksnis < 0,25. Analīzes rezultāti ir apkopoti (3.10. attēls) – mikroorganismu funkcijas ar būtiskām atšķirībām pacientiem ar kolorektālām adenomām un bez tām. MaAsLin2 noklusējuma FDR < 0,25 tiek uzskatīts par statistiski nozīmīgu, n = 123.

Diagrammas ilustrē specifisku mikroorganismu ceļu vai funkciju sastopamību abās grupās (CO pret AD). Katrs ceļš ir apzīmēts ar tā nosaukumu un nozīmīguma vērtībām (FDR, koeficients). FDR vērtības katram ceļam norāda statistiskā nozīmīguma līmeni. Zemākas FDR vērtības norāda uz stingrākiem atklājumiem. Koeficientu vērtības atspoguļo atšķirību virzienu un lielumu starp AD un CO grupu. Negatīvie koeficienti liecina par samazinātu sastopamību AD grupā.



3.10. attēls. **Mikroorganismu funkcionālie ceļi ar eksploratīvām atšķirībām starp pacientiem ar kolorektālām adenomām un kontroles grupu** (MaAsLin2 analīze)

3.8.1. PWY-7371 (1,4-dihidroksi-6-naftoāta biosintēze II) ceļš

Šis ceļs ir daļa no menahinona (K2 vitamīna) biosintēzes, kas var ietekmēt zarnu mikrobiotu un citus vielmaiņu procesus.

Mikrobu metabolisma ceļu analīze atklāja menahinona biosintēzes ceļa PWY-7371: 1,4-dihidroksi-6-naftoāta biosintēzes II relatīvā daudzuma samazināšanos indivīdiem ar kolorektālām adenomām (AD), salīdzinot ar kontroles grupu (CO) (3.10. attēls).

Lai gan atšķirība nesasniedza statistisko nozīmīgumu pēc viltus atklāšanas rādītāja korekcijas (FDR = 0,1455), novērotā efekta lielums bija ievērojams (koeficients = +1,57), kas norāda uz lielāku ceļa sastopamību kontroles grupā. Ceļa sastopamības sadalījums kontroles grupā uzrādīja plašāku interkvartila diapazonu un vairākas augstas vērtības novirzes, turpretim adenomu grupai bija stingrāks sadalījums ar lielu daļu gandrīz nulles vērtību. Tas liecina par iespējamu mikrobu kopienu, kas spēj veikt menahinona biosintēzi, zudumu vai nomākšanu adenomu kohortā. Lai gan šī tendence nav statistiski nozīmīga, tā var atspoguļot bioloģiski nozīmīgas izmaiņas zarnu mikrobu metabolismā, kas saistītas ar agrīnām neoplastiskām izmaiņām.

Nepieciešami papildu pētījumi, izmantojot lielākas kohortas un mehānisku apstiprināšanu, lai noteiktu, vai samazināta menahinona biosintēze veicina adenomu attīstību vai ir tās rezultāts.

3.20. tabula

PWY-7371 (1,4-dihidroksi-6-naftoāta biosintēze II) ceļa relatīvā sastopamība un raksturojums starp adenomu un kontroles grupu

Rādītājs	Vērtība
Ceļš	PWY-7371 (1,4-dihidroksi-6-naftoāta biosintēze II) ceļš
Grupas	AD, CO
Vidējā sastopamība	Vairāk Co grupā
Izplatība	Pašāk izplatīts CO grupā, cieši sagrupēts AD grupā
Koeficients	+1,58 (augstāks CO grupā)
FDR	0,1455 (statistiski nenozīmīgs) (FDR > 0,05)
Interpretācija	Reducēta ceļa relatīvā pārstāvība AD grupā
Iespējamā nozīme	Disbioze un mikroorganismu zemāks funkcionālais potenciāls

3.20. tabulā apkopota informācija par mikrobu metabolisma ceļu PWY-7371, kas ir daļa no menahinona (K2 vitamīna) biosintēzes. Analīze veikta, salīdzinot grupu ar kolorektālām adenomām (AD) un kontroles grupu (CO). Norādīti relatīvās sastopamības rādītāji, statistiskie parametri (koeficients, FDR), kā arī iespējama bioloģiskā interpretācija.

3.8.2. Menahinola-8 biosintēzes superceļš (PWY-7992)

PWY-7992 attiecas uz menahinola-8 biosintēzes superceļu, kas ir galvenais menahinona (K2 vitamīna) ražošanas ceļš, ko izmanto daudzi zarnu anaerobi. Menahinols ir samazināta menahinona forma, kas iesaistīta baktēriju elektronu transportēšanā un kam var būt arī saimniekorganismu aizsargājoša iedarbība.

Tika konstatēts, ka menahinola-8 biosintēzes superceļš (PWY-7992) ir samazināts indivīdiem ar kolorektālām adenomām (AD), salīdzinot ar veselajiem (CO) (3.10. attēls).

Lai gan atšķirība nesasniedza statistisku nozīmīgumu pēc viltus atklāšanas rādītāja (FDR) korekcijas (FDR = 0,1455), efekta lielums bija ievērojams (koeficients = +1,52), kas norāda uz lielāku šī ceļa relatīvo sastopamību kontroles grupā.

Kontroles grupai bija plašāks ceļu sastopamības vērtību sadalījums, un vairākiem indivīdiem bija izteikti paaugstināts līmenis (vērtības > 1500), savukārt adenomu grupā bija saspiests sadalījums, centrēts tuvu nullei.

Šie dati liecina par iespējamu menahinonu ražojošo mikrobu taksonu samazināšanos adenomu grupā. Menahinolam-8, samazinātai K2 vitamīna formai, ir izšķiroša loma mikroorganismu elektronu transportēšanā. Tendence uz samazinātu menahinona biosintēzi adenomu grupā apstiprina hipotēzi, ka mikroorganismu funkcionālais potenciāls tiek mainīts jau kolorektālās neoplāzijas sākumposmā.

3.21. tabula

Menahinola-8 biosintēzes superceļa (PWY-7992) relatīvā sastopamība un raksturojums starp adenomu un kontroles grupu

Rādītājs	Vērtība
Ceļš	Menahinola-8 biosintēzes superceļš (PWY-7992)
Grupas	AD, CO
Vidējā sastopamība	Vairāk Co grupā
Izplatība	Pašāk izplatīts CO grupā CO > AD
Koeficients	+1,52 (augstāks CO grupā)
FDR	0,1455 (statistiski nenozīmīgs, (FDR > 0,05))
Interpretācija	Reducēta K2 sintēze AD grupā

3.21. tabulā apkopoti dati par mikrobu metabolisma ceļu PWY-7992, kas saistīts ar menahinola-8 (K2 vitamīna reducētās formas) biosintēzi. Salīdzinot pacientus ar kolorektālām adenomām (AD) un bez (CO), tika novērota samazināta šī ceļa sastopamība AD grupā. Lai gan atšķirība nesasniedza statistisko nozīmīgumu pēc FDR korekcijas (FDR = 0,1455), efekta lielums (koeficients = +1,52) norāda uz iespējamu bioloģiski nozīmīgu mikrobioma funkcionālā potenciāla samazināšanos saistībā ar agrīnām neoplastiskām izmaiņām.

3.8.3. PROPFERM-PWY: L-alanīna fermentācijas superceļš jeb *Stickland* reakcija

Ietver aminoskābju pāru fermentāciju, ko veic noteiktas anaerobās baktērijas, tostarp *Clostridia* klases pārstāvji, un kurā L-alanīns var piedalīties kā elektronu donors vai akceptors. Zemāka L-alanīna fermentācijas superceļa relatīvā pārstāvība adenomu grupā var norādīt uz *Stickland* fermentācijā iesaistīto mikroorganismu funkcionālā potenciāla izmaiņām.

Tika konstatēts, ka ar aminoskābju fermentāciju saistītais mikrobu vielmaiņas ceļš PROPFERM-PWY: L-alanīna fermentācijas superceļš (*Stickland* reakcija) ir samazināts indivīdiem ar kolorektālām adenomām (AD), salīdzinot ar veselām kontrolēm (CO) (3.10. attēls).

Lai gan šī atšķirība nesasniedza statistisko nozīmīgumu pēc korekcijas vairākām pārbaudēm (FDR = 0,1815), novērotais efekta lielums (koeficients = +1,04) liecina par šī ceļa bagātināšanos kontroles grupā. Ceļa sastopamības sadalījums kontroles grupā atklāja augstāku vidējo un plašāku diapazonu ar vairākām augstas vērtības novirzēm (līdz ~ 600), turpretim adenomu grupā bija koncentrētāks sadalījums ar zemu vai gandrīz nulles vērtību pārsvaru. Šī tendence var liecināt par izmaiņām anaerobo baktēriju funkcionālajā potenciālā, kas saistīts ar aminoskābju fermentāciju adenomu grupā. *Stickland* fermentāciju veic noteiktas anaerobās baktērijas, tostarp *Clostridia* klases pārstāvji, un šim metabolismam ir nozīme mikroorganismu enerģijas ieguvē. Novērotais samazinājums var atspoguļot mikroorganismu funkcionalitātes maiņu kolorektālo neoplāziju agrīnās stadijās.

3.22. tabula

PROPFERM-PWY: L-alanīna fermentācijas superceļš jeb *Stickland* reakcijas relatīvā sastopamība un raksturojums starp adenomu un kontroles grupu

Rādītājs	Vērtība
Ceļš	PROPFERM-PWY: L-alanīna fermentācijas superceļš jeb *Stickland* reakcija
Grupas	AD, CO
Vidējā sastopamība	Vairāk CO grupā, CO grupā vēro lielāku ceļa ekspresiju CO > AD
Izplatība	Pašāk izplatīts CO grupā
Koeficients	+1,04 (augstāks CO grupā), lielāka aktivitāte kontroles grupā
FDR	0,1815 (statistiski nenozīmīgs) (FDR > 0,05)
Interpretācija	Mikrobiālā aminoskābju fermentācija traucēta AD grupā

3.8.4. PWY-8188: L-alanīna noārdīšanās VI (reduktīvā *Stickland* reakcija)

Attiecas uz L-alanīna noārdīšanos ar reduktīvo *Stickland* reakciju, kas ir anaerobās fermentācijas ceļš. Šo procesu arī veic anaerobi, piemēram, *Clostridioides*, un tas atbalsta mikroorganismu enerģijas ražošanu. *Stickland* fermentācijas reducējošais atzars savieno aminoskābju oksidēšanu un ir cieši saistīts ar zarnas mikroorganismu homeostāzi. Arī šis ceļš ir samazināts kolorektālo adenomu grupā, turpinot iepriekšējos ceļos novēroto tendenci. Tas

liecina par iespējamām funkcionālām izmaiņām zarnas mikrobiotā, kas saistītas ar kolorektālā vēža ģenēzi agrīnā stadijā.

Ceļš PWY-8188: L-alanīna noārdīšanās VI (reduktīvā *Stickland* reakcija) arī uzrādīja samazināšanos indivīdiem ar kolorektālām adenomām (AD), salīdzinot ar veselajiem (CO) (3.10. attēls). Lai gan pēc vairākkārtējas testēšanas korekcijas atšķirība nesasniedza statistisko nozīmīgumu (FDR = 0,1815), efekta lielums bija ievērojams (koeficients = +1,04), kas norāda uz lielāku šī ceļa izplatību kontroles grupā. Kontroles grupai bija augstāka vidējā vērtība un lielāka variabilitāte, tostarp vairākas lielas sastopamības novirzes, kas pārsniedza 600. Turpretim adenomu grupa uzrādīja koncentrētāku sadalījumu ar zemākām kopējām vērtībām. Novērotais šī fermentācijas ceļa samazinājums pacientiem ar kolorektālām adenomām var atspoguļot funkcionālus zudumus vai disbiozi zarnu mikroorganismu kopienā kolorektālu neoplāziju agrīnās stadijās. Šie atklājumi saskan ar iepriekšējām tendencēm, kas novērotas citos ar *Stickland* saistītos un menahinona biosintēzes ceļos, kas liecina par plašākiem anaerobo mikrobu metabolisma traucējumiem indivīdiem ar kolorektālām adenomām.

3.23. tabula

PWY-8188: L-alanīna noārdīšanās VI (reduktīvā *Stickland* reakcija) relatīvā sastopamība un raksturojums starp adenomu un kontroles grupu

Rādītājs	Vērtība
Ceļš	PWY-8188: L-alanīna noārdīšanās VI (reduktīvā *Stickland* reakcija)
Grupas	AD, CO
Vidējā sastopamība	Vairāk CO grupā, CO grupā vēro lielāku ceļa ekspresiju CO > AD
Izplatība	Pašāk izplatīts CO grupā
Koeficients	+1,04 (augstāks CO grupā), lielāka aktivitāte kontroles grupā
FDR	0,1815 (statistiski nenozīmīgs) (FDR > 0,05)
Interpretācija	Samazinātas mikroorganismu funkcijas AD grupā

3.8.5. PWY-8189: L-alanīna noārdīšanās V (oksidatīvā *Stickland* reakcija)

Šis ceļš ir *Stickland* reakcijas oksidatīvā daļa, kur L-alanīns tiek izmantots kā elektronu donors anaerobajā fermentācijā. Tas funkcionāli papildina PWY-8188 (reduktīvo *Stickland* reakciju). *Stickland* fermentācija, kas ir raksturīga anaerobu, piemēram, *Clostridium spp*. funkcijām, ir būtiska zarnu mikrobu enerģijas līdzsvaram.

Šis ir trešais ar *Stickland* saistītais ceļš (papildus PWY-8188 un PROPFERM-PWY), kam ir tāda pati tendence: samazināta ekspresija adenomu grupā. Tas var liecināt par sistemātisku funkcionālo anaerobu un ar to saistīto vielmaiņas aktivitāšu zudumu vai nomākšanu pacientiem ar kolorektālām adenomām.

Ceļš PWY-8189: L-alanīna noārdīšanās V (oksidatīvā *Stickland* reakcija) arī uzrāda samazinātu aktivitāti indivīdiem ar kolorektālām adenomām (AD), salīdzinot ar kontroles grupu (CO) (3.10. attēls). Lai gan pēc FDR korekcijas atšķirība nesasniedza statistisko nozīmīgumu

(FDR = 0,1815), efekta lielums (koeficients = +1, 04) norāda uz šī ceļa konsekventu bagātināšanos kontroles grupā. Kontroles grupai bija augstāka vidējā vērtība un plašāks vērtību sadalījums, ieskaitot novirzes, kas pārsniedza 400, turpretim adenomu grupai bija šaurāks sadalījums ar zemāku kopējo daudzumu. Šis ceļš atspoguļo *Stickland* reakcijas oksidatīvo atzaru, kurā L-alanīns tiek izmantots kā elektronu donors anaerobās fermentācijas laikā. Tās samazinātais daudzums adenomu grupā atspoguļo iezīmes, kas novērotas gan reduktīvajā *Stickland* grupā (PWY-8188), gan plašākajā *Stickland* superceļā (PROPFERM-PWY), kas liecina par aminoskābju fermentācijas spēju zudumu zarnu mikrobiomā indivīdiem ar kolorektālām neoplāzijām. Šie dati norāda uz potenciāliem anaerobo metabolisma pamatfunkciju traucējumiem agrīnās stadijas audzēja ģenēzes laikā un akcentē mikrobu aminoskābju metabolisma nozīmi kā zarnu veselības marķieri.

3.24. tabula

PWY-8189: L-alanīna noārdīšanās V (oksidatīvā *Stickland* reakcija) relatīvā sastopamība un raksturojums starp adenomu un kontroles grupu

Rādītājs	Vērtība
Ceļš	PWY-8189: L-alanīna noārdīšanās V (oksidatīvā *Stickland* reakcija)
Grupas	AD, CO
Vidējā sastopamība	Vairāk CO grupā, CO grupā vēro lielāku ceļa ekspresiju CO > AD
Izplatība	Pašāk izplatīts CO grupā
Koeficients	+1,04 (augstāks CO grupā), lielāka aktivitāte kontroles grupā
FDR	0,1815 (statistiski nenozīmīgs) (FDR > 0,05)
Interpretācija	Anaerobo mikroorganismu funkcijas zudums AD grupā, saskan ar citām *Stickland* un menahinona funkcijām

3.8.6. PWY-5494: piruvāta fermentācija līdz propanoātam II (akrilāta ceļš)

Akrilāta ceļš ir viens no mikrobu ceļiem piruvāta pārvēršanai par propionātu, īsās ķēdes taukskābi (SCFA), kam piemīt pretiekaisuma īpašības un loma kolonocītu enerģijas metabolismā, vēža šūnu proliferācijas kavēšanā, zarnu barjeras integritātes nodrošināšanā. Propionātu ražošana tiek uzskatīta par labvēlīgu resnās zarnas veselībai, bieži vien saistīta ar komensāliem anaerobiem, piemēram, *Clostridioides*, *Lachnospiraceae* un *Bacteroides*.

Šis ceļš uzrāda arī samazinātu aktivitāti kolorektālo adenomu grupā, turpinot novērotās iezīmes citos ceļos (menahinona biosintēze, *Stickland* reakcijas).

Lai gan tas nav statistiski nozīmīgs (FDR = 0,2367), efekta lielums (koeficients = +1,01) liecina par bioloģiski nozīmīgu maiņu. Dati norāda uz iespējamu SCFA veidojošo mikroorganismu funkciju zudumu adenomu pacientiem, kas var apdraudēt epitēlija veselību vai pretiekaisuma signālu pārraidi.

Mikrobu ceļš PWY-5494: piruvāta fermentācija līdz propanoātam II (akrilāta ceļš), kas veicina īsās ķēdes taukskābju propionāta mikroorganismu veidošanos, bija samazināts

indivīdiem ar kolorektālām adenomām (AD), salīdzinot ar kontroles grupu (CO) (3.10. attēls). Lai gan šī atšķirība nesasniedza statistisko nozīmīgumu pēc korekcijas vairākkārtējai pārbaudei (FDR = 0, 2367), pozitīvā efekta lielums (koeficients = +1, 01) norāda uz lielāku šī ceļa relatīvo sastopamību kontroles grupā. Kontroles paraugi uzrādīja plašāku sadalījumu un augstākas vidējās vērtības, tostarp vairākas novirzes, kas pārsniedza 150–200, savukārt adenomu grupai bija zemākas un ciešāk grupētas vērtības. Akrilāta ceļš ir galvenais mikroorganismu ceļš propionātu biosintēzei, kas ir metabolīts, kas pazīstams ar pretiekaisuma iedarbību un epitēlija aizsargājošām lomām resnajā zarnā. Novērotais šī ceļa samazinājums adenomu grupā saskan ar iezīmēm, kuras novērotas citos fermentācijas ceļos, kas liecina par iespējamu labvēlīgo mikrobu metabolisma funkciju samazināšanos, saistītu ar agrīnām neoplastiskām izmaiņām resnajā zarnā. Šie dati uzsver mikroorganismu īsās ķēdes taukskābju metabolisma nozīmi zarnu veselības uzturēšanā un attaisno turpmāku izmeklēšanu lielākos garengriezuma pētījumos.

3.25. tabula

PWY-5494: piruvāta fermentācijas līdz propanoātam II (akrilāta ceļa) relatīvā pārstāvība un raksturojums adenomu un kontroles grupā

Rādītājs	Vērtība
Ceļš	PWY-5494: piruvāta fermentācija līdz propanoātam II (akrilāta ceļš)
Grupas	AD, CO
Vidējā sastopamība	Vairāk CO grupā, CO grupā vēro lielāku ceļa relatīvo pārstāvību CO > AD
Izplatība	Pašāk izplatīts CO grupā
Koeficients	+1,01 (augstāks CO grupā), augstāka relatīvā pārstāvība kontroles grupā
FDR	0,2367 (statistiski nenozīmīgs) (FDR > 0,05)
Interpretācija	Zemākas propionāta biosintēzes funkcionālā potenciāla tendence AD grupā

3.8.7. Sešu mikroorganismu vielmaiņas ceļu salīdzinošā analīze

Sešu mikrobu vielmaiņas ceļu salīdzinošajā analīzē visiem analizētajiem ceļiem tika novērots vienāds izmaiņu virziens – zemāka relatīvā pārstāvība adenomu grupā salīdzinājumā ar kontroles grupu. Neviens no individuālajiem ceļiem nesasniedza konvencionālo statistiskās nozīmības slieksni pēc FDR korekcijas (FDR < 0,05); tādēļ šīs atrades interpretējamas kā eksploratīvas, hipotēzi ģenerējošas tendences.

Tika konstatēts, ka divi menahinona (K2 vitamīna) biosintēzes ceļi – PWY-7371: 1,4-dihidroksi-6-naftoāta biosintēze II un PWY-7992: menahinola-8 biosintēzes superceļš – uzrādīja augstāku relatīvo pārstāvību kontroles grupā, kas var liecināt par zemāku menahinona biosintēzes funkcionālo potenciālu adenomu grupā.

Trīs papildu ceļi bija saistīti ar *Stickland* fermentāciju, kas ir aminoskābju anaerobā metabolisma pazīme. Tie ietvēra PROPFERM-PWY: L-alanīna fermentācijas superceļu (*Stickland* reakcija), PWY-8188: L-alanīna noārdīšanos VI (reduktīvā *Stickland* reakcija) un PWY-8189: L-alanīna noārdīšanos V (oksidatīvā *Stickland* reakcija). Visos trijos gadījumos

ceļu funkcionālais potenciāls bija augstāka kontroles grupā (koeficients = +1,04). Šī atrade var norādīt uz zemāku anaerobās aminoskābju fermentācijas funkcionālo potenciālu adenomu grupā, taču, ņemot vērā FDR > 0,05, tā interpretējama kā eksploratīva tendence.

Adenomu grupā bija samazināts arī ceļš PWY-5494: piruvāta fermentācija par propanoātu II (akrilāta ceļš), kas veicina propionāta veidošanos (koeficients = +1,01).

Iegūtajos datos tika novērota vairāku funkcionāli saistītu mikrobioma vielmaiņas ceļu zemākas relatīvās pārstāvības tendence adenomu grupā, tostarp menahinona biosintēzes, *Stickland* fermentācijas un propionāta veidošanās ceļos. Tā kā neviens no šiem ceļiem nesasniedza FDR < 0,05, atrades interpretējamas kā eksploratīvs funkcionāls signāls, kam nepieciešama neatkarīga validācija.

3.26. tabulā apkopoti seši zarnu mikrobioma funkcionālie ceļi ar relatīvi augstu efektu lielumu (koeficients +1,01 līdz +1,57), kas biežāk sastopami kontroles grupā, salīdzinot ar pacientiem ar kolorektālām adenomām. Lai gan neviens no ceļiem nesasniedza statistisko nozīmīgumu pēc FDR korekcijas (FDR > 0,05), novērotās tendences norāda uz iespējamu bioloģiski nozīmīgu mikrobu metabolisma funkciju samazinājumu adenomu grupā. Identificētie ceļi attiecas uz menahinona (K2 vitamīna) biosintēzi, *Stickland* fermentāciju un īso ķēžu taukskābju (SCFA) veidošanos.

Funkcionālo ceļu konsekventā samazināšanās adenomu grupā norāda uz iespējamu pāreju no metaboliski stabilas, anaerobiem komensāliem bagātas mikrovides uz disbiotisku stāvokli ar samazinātu redoksa līdzsvara kapacitāti. Menahinona (K2 vitamīna) biosintēzes ceļu samazinājums var atspoguļot traucētu mikrobu elektronu transporta ķēžu aktivitāti, kas potenciāli ietekmē arī oksidatīvā stresa regulāciju zarnu lūmenā. Vienlaikus *Stickland* fermentācijas ceļu samazināšanās liecina par *Clostridiales* grupas funkcionālās aktivitātes mazināšanos – šī baktēriju grupa ir būtiska anaerobās enerģijas ražošanas un redoksa homeostāzes uzturēšanai.

Īpaši nozīmīgs ir propionāta biosintēzes (akrilāta ceļa) relatīvais samazinājums adenomu grupā. Propionāts, tāpat kā butirāts, piedalās kolonocītu enerģijas metabolismā, regulē histona deacetilāzes aktivitāti un modulē iekaisuma signālceļus. Samazināts SCFA sintēzes potenciāls var veicināt epitēlija barjeras funkcijas pavājināšanos, zema līmeņa hronisku iekaisumu un proliferatīvu mikrovidi, kas atbalsta agrīnu neoplastisku transformāciju.

Lai gan neviena no individuālajām funkcijām nesasniedza klasisko FDR < 0,05 slieksni, vairāku savstarpēji bioloģiski saistītu ceļu konsekventā samazināšanās liecina par sistēmisku funkcionālu pārbīdi, nevis nejaušu statistisku svārstību. Šāda konverģējoša tendence var būt agrīns mikrobioma disfunkcijas signāls kolorektālās neoplāzijas attīstībā.

3.26. tabula

Sešu mikroorganismu vielmaiņas ceļu salīdzinošā analīze starp pacientiem ar kolorektālām adenomām un kontroles grupu

Ceļš	Ceļa ID	Metabolā funkcija	Prevalējošā grupa	Koeficients	FDR	Loma	Interpretācija
1,4-dihydroxy-6-naphthoate biosynthesis II	PWY-7371	Menaquinone (vitamin K2) biosynthesis	CO	+1,57	0,1455	Elektronu transports, zarnu mikrobu elpošana	Samazināts K2 vitamīna biosintēzes potenciāls, AD grupa
Super-pathway of menaquinol-8 biosynthesis	PWY-7992	Menaquinone (vitamin K2) biosynthesis	CO	+1,52	0,1455	K2 vitamīna ražošana, mikrobu metabo-lisms	Atbalsta elektronu transporta metabolisma traucējumu tendenci, AD
Super-pathway of L-alanine fermentation (Stickland)	PROPFERM-PWY	Amino acid fermentation	CO	+1,04	0,1815	Redox līdzsvars, enerģijas ražošana caur Klostridijas	Zemāks anaerobās alanīna fermentācijas funkcionālais potenciāls AD grupā
L-alanine degradation VI (reductive Stickland)	PWY-8188	Amino acid fermentation	CO	+1,04	0,1815	Stickland reakcijas reduktīvs ceļš	Amino-skābju bāzes enerģijas ražošanas funkcionāls zudums, AD
L-alanine degradation V (oxidative Stickland)	PVT-8189	Amino acid fermentation	CO	+1,04	0,1815	Stickland reakcijas oksidatīvā daļa	Apstiprina anaerobo vielmaiņas samazināšanos, AD
Pyruvate fermentation to propanoate lI (acrylate pathway)	PWY-5494	SCFA (propionate) production	CO	+1,01	0,2367	Pretiekaisuma SCFA paaudze	Samazināts SCFA ražošanas potenciāls

Diskusija

Šajā pētījumā izmantotā visa genoma *shotgun* metagenomiskā sekvencēšana nodrošināja augstu taksonomisko izšķirtspēju un iespēju analizēt ne tikai mikrobiotas sastāvu, bet arī mikrobioma funkcionālo potenciālu, kas ir īpaši nozīmīgi kolorektālo adenomu kontekstā. Atšķirībā no 16S rRNS gēna sekvencēšanas, kas galvenokārt atspoguļo baktēriju taksonomisko struktūru, *shotgun* pieeja ļauj identificēt mikroorganismus līdz sugas un atsevišķos gadījumos celma līmenim, kā arī noteikt metabolisma ceļus, virulences faktorus un antibiotiku rezistences gēnus. Tas sniedz iespēju novērtēt potenciālos mehānismus, piemēram, īsās ķēdes taukskābju sintēzi, vitamīnu biosintēzi vai iekaisuma mediatoru veidošanos, kas var būt saistīti ar zarnu gļotādas homeostāzi un neoplastisku progresēšanu. Vienlaikus jāņem vērā, ka metagenomika atspoguļo funkcionālo potenciālu, nevis reālo gēnu ekspresiju vai metabolisko aktivitāti konkrētajā brīdī, un pilnvērtīgai funkcionālai interpretācijai būtu nepieciešamas metatranskriptomikas vai metabolomikas analīzes. Metodes priekšrocības ietver arī kultivēšanas neatkarīgu pieeju un iespēju analizēt baktērijas, arhejas, vīrusus un sēnes vienā datu kopā, tomēr tā ir saistīta ar augstākām izmaksām un bioinformātisku sarežģītību. Rezultātu precizitāti var ietekmēt references datubāzu ierobežojumi, anotācijas kļūdas un potenciāls saimniekorganisma DNS piejaukums fekāliju paraugos, kas var samazināt efektīvo mikrobiālo nolasījumu proporciju. Datu analīzē tika ņemta vērā metagenomisko datu kompozicionālā daba, izmantojot CLR transformāciju un Aitčisona distanci, kā arī vairāku hipotēžu korekciju, lai mazinātu viltus pozitīvu rezultātu risku. Tādējādi izvēlētā metodoloģija nodrošināja padziļinātu mikrobiotas struktūras un mikrobioma funkcionālā potenciāla analīzi, vienlaikus apzinoties tās tehniskos un interpretatīvos ierobežojumus.

Šis promocijas darbs ir veltīts zarnu mikrobiotas sastāva un funkciju izpētei indivīdiem ar resnās zarnas adenomām un indivīdiem, kuriem tādas nav konstatētas, lai noskaidrotu iespējamo mikrobiotas iesaisti resnās zarnas adenomu attīstībā un identificētu potenciālus mikrobioma biomarķierus agrīnai kolorektālā vēža diagnostikai. Pamatojoties uz metagenomiskās sekvencēšanas datiem, tika analizētas gan mikrobioma alfa un beta daudzveidības izmaiņas, gan taksonomiskie un funkcionālie profili, tie tika salīdzināti starp kontroles un adenomu grupu, ņemot vērā nozīmīgus kovariātus (dzimumu, ķermeņa masas indeksu, smēķēšanas statusu u. c).

Lai gan kopējā mikrobiotas daudzveidība (alfa daudzveidība) starp grupām būtiski neatšķirās, pētījumā tika identificētas specifiskas baktēriju taksonu un mikrobioma funkciju atšķirības, kas varētu liecināt par mikrobiotas iesaisti adenomu attīstības mehānismos un to potenciālu kā neinvazīviem biomarķieriem agrīnai diagnostikai.

Pacientu raksturojums

Pētījumā tika iekļauti 136 pacienti, kuriem veikta kolonoskopija. Pacientu mikrobiota tika analizēta, ņemot vērā adenomu klātbūtni resnajā zarnā. 56 pacientiem (41,18 %) tika konstatēta vismaz viena kolorektāla adenoma, savukārt 80 pacientiem (58,82 %) adenomas netika konstatētas. Šī sadalījuma proporcija ir līdzīga citiem skrīninga populācijās novērotajiem adenomu izplatības skaitļiem (Lieberman et al., 2007). Tā ir piemērota mikrobiotas izpētei adenomu attīstības agrīnās stadijās. Tika novērota statistiski nozīmīga vecuma atšķirība starp grupām – pacienti ar adenomām bija vidēji vecāki (53,03 ± 5,4 gadi), salīdzinot ar kontroles grupu (45,61 ± 3,0 gadi), $p < 0,001$. Šī atrade ir saskaņā ar literatūrā aprakstīto vecuma nozīmi kolorektālo adenomatozo veidojumu attīstībā. Ar vecumu saistītais adenomu risks tiek skaidrots gan ar kumulatīvām mutācijām epitēlija šūnās, gan ar ilgstošu pakļautību nelabvēlīgiem dzīvesveida un vides faktoriem (Leslie et al., 2002).

Adenomu grupā vīriešu īpatsvars bija skaitliski augstāks nekā kontroles grupā (48,21 % vs. 32,50 %), tomēr atšķirība nesasniedza statistisko nozīmīgumu (Pearson $\chi^2 = 3,42$; $p = 0,064$). Adenomu grupā sievietes veidoja 51,79 %, bet kontroles grupā – 67,50 %. Šī skaitliskā tendence atbilst iepriekšējos epidemioloģiskajos pētījumos aprakstītajam augstākam kolorektālo adenomu un kolorektālā vēža riskam vīriešiem (Zhou et al., 2018; Kim et al., 2019), tomēr mūsu pētījumā dzimuma atšķirība statistisko nozīmīgumu nesasniedza. Kā iespējamie šīs atšķirības bioloģiskie iemesli tiek minēti dzimumhormonu ietekme, atšķirīga imūnreakcija un dzīvesveida paradumi.

Pētījuma rezultāti uzrādīja, ka pacienti ar kolorektālām adenomām biežāk dzīvo galvaspilsētā (57,14 %), salīdzinot ar kontroles grupu (25,00 %), un šī atšķirība bija statistiski nozīmīga ($p < 0,001$). Šāda atšķirība var liecināt par potenciālu pilsētvidei raksturīgu riska faktoru, piemēram, uztura ieradumu, piesārņojuma, fiziskās aktivitātes paradumu un psihosociālā stresa ietekmi uz kolorektālo adenomatozo bojājumu attīstību. Līdzīgas tendences aprakstītas arī citos avotos, piemēram, pilsētu vidē dzīvojošajiem iedzīvotājiem konstatēta atšķirīga zarnas mikrobiota un palielināts iekaisuma marķieru līmenis salīdzinājumā ar lauku apvidos dzīvojošajiem (Sonnenburg & Sonnenburg, 2019; Vangay et al., 2018).

Adenomu grupā ievērojami lielākam pacientu īpatsvaram bija augstākā izglītība (83,90 %), salīdzinot ar kontroles grupu (46,25 %), $p < 0,001$. Lai gan izglītības līmenis bieži tiek uzskatīts par pozitīvu veselības rādītāju, šī atrade varētu atspoguļot netiešas sakarības, piemēram, ar profesiju saistītu sēdošu dzīvesveidu, stresa līmeni vai izmainītiem uztura paradumiem (piemēram, augsts ultrapārstrādātu produktu patēriņš, zems šķiedrvielu daudzums), kas var veicināt mikrobiotas disbalansu un iekaisumu (O'Keefe et al., 2015, 176). Šī asociācija prasa turpmāku daudzfaktoru analīzi.

Neskatoties uz vispārpieņemto viedokli, ka regulāras fiziskās aktivitātes samazina kolorektālo adenomu risku (Wolin et al., 2009), šajā pētījumā lielāks fiziski aktīvo indivīdu īpatsvars tika novērots tieši adenomu grupā (73,2 % vs 17,5 %, $p < 0,001$). Šo pretrunīgo rezultātu var izskaidrot ar iespējamu traucējošu faktoru klātbūtni, piemēram, fiziskā aktivitāte var būt uzsākta jau pēc adenomas attīstības vai var pastāvēt atšķirības intensitātē, veidā un regularitātē. Šis novērojums liek īpaši uzmanīgi analizēt dzīvesveida faktorus adenomu riska kontekstā, īpaši to mijiedarbībā ar mikrobiotu.

Smēķēšanas izplatība abās grupās bija zema (8,93 % vs 3,75 %), un statistiski nozīmīga atšķirība netika novērota ($p = 0,28$). Lai gan smēķēšana ir plaši atzīts riska faktors kolorektālo adenomu attīstībā (Botteri et al., 2008, 178), šī pētījuma kohortā ierobežotā smēķēšanas izplatība, iespējams, neļāva konstatēt šo saistību. Savukārt ķermeņa masas indekss bija statistiski nozīmīgi augstāks adenomu grupā ($27,5 \pm 4,2$ vs $25,7 \pm 5,2$; $p = 0,039$), kas atbilst iepriekšējām atziņām par liekā svara un aptaukošanās kā riska faktora lomu kolorektālo adenomu attīstībā (Omata et al., 2013, 179).

Alkohola lietošanas biežums būtiski atšķīrās starp pētījuma grupām. Augsts alkohola patēriņš (≥ 3 reizes nedēļā vai katru dienu) tika konstatēts ievērojami biežāk adenomu grupā nekā kontroles grupā (85,7 % vs 37,5 %; $p < 0,001$), kas liecina par iespējamu alkohola lomu kolorektālo adenomu attīstībā. Šie rezultāti saskan ar iepriekšējiem epidemioloģiskiem pētījumiem, kuros regulāra un intensīva alkohola lietošana identificēta kā neatkarīgs kolorektālo adenomu un kolorektālā vēža riska faktors (Bagnardi et al., 2015). Tiek uzskatīts, ka alkohola kancerogēnā iedarbība var būt saistīta ar acetaldehīda veidošanos, oksidatīvā stresa pastiprināšanos, folātu metabolisma traucējumiem un zarnu mikrobiotas izmaiņām, kas veicina gļotādas proliferatīvus procesus. Līdz ar to iegūtie dati papildina esošo literatūru un norāda uz alkohola patēriņa nozīmi kā modificējamu riska faktoru kolorektālo adenomu attīstībā.

Adenomu grupas pacienti bija statistiski nozīmīgi vecāki nekā kontroles grupas pacienti. Vīriešu īpatsvars adenomu grupā bija skaitliski lielāks, tomēr šī atšķirība nesasniedza statistisko nozīmīgumu. Pārsteidzošais atklājums, ka adenomu grupai ir augstāks izglītības līmenis, rada jautājumus par profesiju vai dzīvesveida faktoriem, kas saistīti ar adenomu attīstības riskiem. Lai gan pacientiem, kas piekopj regulāras fiziskās aktivitātes, parasti ir mazāks risks kolorektālu adenomu attīstībai, citi adenomu attīstības faktori var būt svarīgāki. Nedaudz paaugstināts smēķētāju īpatsvars adenomu grupā liecina, ka smēķēšana joprojām ir būtisks maināms riska faktors.

Šī datu analīze norāda uz kolorektālo adenomu riska faktoru sarežģītību, tāpēc nepieciešami daudzfaktoru pētījumi, lai noteiktu demogrāfisko, dzīvesveida un bioloģisko faktoru mijiedarbību adenomu attīstībā.

No 56 pacientiem ar adenomām 85,7 % bija zema riska adenomas un 14,3 % augsta riska. Vairumā gadījumu konstatētas viena vai vairākas tubulāras adenomas, visbiežāk vidēja izmēra (5–9 mm). Šāds sadalījums saskan ar citviet literatūrā adenomu morfoloģijas un izmēru sadalījumu skrīninga populācijās (Click et al., 2018).

Šī darba rezultāti saskan ar iepriekšējiem novērojumiem par endoskopista noguruma ietekmi uz ADR. Šajā kontekstā būtisku potenciālu pierāda arī mākslīgā intelekta izmantošana ikdienas praksē, kā redzams mūsu otrajā publikācijā (Vilkoite et al., 2023), kur CADe sistēmas lietošana uzlaboja polipu noteikšanu, it īpaši pēcpusdienas procedūrās. AI sistēmas spēj sniegt klīnisku ieguvumu, īpaši ar palielinātu izmeklējumu intensitāti.

Ņemot vērā, ka optiskās diagnostikas metodes (piem., NICE klasifikācija) uzrāda mainīgu precizitāti dažādos zarnas segmentos (no 64,0 līdz 93,9 %) (Vilkoite et al., 2022), papildu diagnostikas marķieru, piemēram, mikrobioma rādītāju, integrācija varētu uzlabot skrīninga efektivitāti.

Mikrobioma kompozīcija ģinšu līmenī

Šajā pētījumā, izmantojot *shotgun* metagenomisko sekvencēšanu, tika iegūts detalizēts fēču mikrobioma sastāva profils 123 dalībniekiem – pacientiem ar kolorektālām adenomām (AD) un pacientiem, kuriem tādas nekonstatēja (CO). Mikrobiomu raksturojošas dominējošas ģintis bija *Faecalibacterium*, *Bacteroides*, *Blautia_A*, *Alistipes*, *Prevotella* un *Roseburia*. Šāds sastāvs ir tipisks veseliem cilvēkiem rietumu sabiedrībā, kā aprakstīts vairākos iepriekšējos pētījumos (Lozupone et al., 2012; Charbonneau et al., 2016).

Tomēr starpgrupu salīdzinājumā tika konstatētas atšķirības atsevišķu ģinšu relatīvajā sastopamībā. *Faecalibacterium*, kurai ir zināmas pretiekaisuma īpašības, spēj producēt sviestskābi (butirātu), šī baktērija bija ievērojami mazāk pārstāvēta adenomu grupā (~ 10–20 %) salīdzinājumā ar kontroles grupu (~ 40–50 %). Šie rezultāti saskan ar agrāk publicētajiem datiem, kuros *Faecalibacterium prausnitzii* samazinājums ir asociēts ar zarnu iekaisuma stāvokļiem un iespējamām priekšvēža izmaiņām (Cao et al., 2014; Martin et al., 2023).

Bacteroides ģints proporcija adenomu grupā bija ievērojami augstāka (~ 55–65 %) nekā kontrolgrupā (~ 20–30 %). *Bacteroides* sugas ir dominējoši anaerobi, kuru loma ir divējāda – tās iesaistās uztura šķiedrvielu fermentācijā, taču zināms, ka noteiktas sugas var producēt prokarcinogēnus metabolītus un aktivizēt iekaisuma ceļus, piemēram, NF-κB, tādējādi veicinot neoplastiskas izmaiņas zarnu epitēlijā (Chen et al., 2014; Cheng et al., 2020).

Phocaeicola, relatīvi nesen no *Bacteroides* ģints atdalīts taksons, bija sastopams biežāk AD grupā (~ 15–25 %), nekā CO grupā (~ 8–12 %). Šīs ģints iespējamā loma kolorektālo

adenomatozo pārmaiņu kontekstā vēl nav skaidri aprakstīta, bet tā ir izdalīta arī citos pētnieciskos darbos, kas saistīti ar metaboliskām un iekaisīgām zarnu slimībām (Hu et al., 2023).

Interesanti, ka starp 20 izplatītākajām ģintīm tika identificēts arī metanogēnais arhejs *Methanomassiliicoccus_A*, kurš bija nedaudz biežāk sastopams adenomu grupā (~ 3–5 %) nekā kontroles grupā (~ 2–3 %). Šīs arheju grupas pārstāvji ir saistīti ar metāna producēšanu zarnās, un nesenos pētījumos ir analizēta to potenciālā loma zarnu veselībā, piemēram, iespējamā ietekme uz iekaisuma procesiem un gāzu metabolismu (Cisek et al., 2024).

Tāpat tika novērots *Blautia_A* un *Gemmiger* samazinājums AD grupā, kas ir interesanti, ņemot vērā, ka šīs ģintis tiek uzskatītas par butirātus ražojošām ar potenciāli aizsargājošu lomu pret zarnu iekaisumu un karcinoģenēzi (Louis et al., 2024).

Vienlaikus *Prevotella* un *Alistipes* relatīvās proporcijas būtiski neatšķīrās starp grupām, kas ir pretrunā dažiem iepriekšējiem ziņojumiem, kuros šīs ģintis tika minētas kā iespējamas kolorektālas karcinoģenēzes procesā iesaistītās baktērijas (Fu et al., 2024; Lo et al., 2022).

Šie rezultāti apstiprina mikrobioma sastāva individuālās atšķirības un izgaismo potenciālas mikrobiotas izmaiņas, kas varētu būt saistītas ar kolorektālu adenomatozu veidojumu klātbūtni. Samazināts butirātu ražojošo mikroorganismu īpatsvars un noteiktu oportūnistisku sugu pieaugums var liecināt par disbiotisku stāvokli, kas attīsta un uztur iekaisuma vidi un varētu veicināt adenomu attīstību.

Deng ar līdzautoriem identificēja vairākas mikroorganismu ģintis, kuru relatīvā sastopamība būtiski atšķīrās starp pacientiem ar kolorektālajiem polipiem un veseliem indivīdiem. *Bacteroides*, *Escherichia* un *Ruminococcus gnavus* bija izteikti izplatītāki polipu grupā, savukārt *Bifidobacterium* un *Faecalibacterium* dominēja kontroles grupā. Arī mūsu pētījumā tika novērota līdzīga relatīvās sastopamības tendence šīm ģintīm, kas norāda uz iespējamu šo taksonu nozīmi adenomatozo polipu patoģenēzē (Deng et al., 2025).

Alfa daudzveidība

Alfa daudzveidība raksturo mikroorganismu sugu daudzveidību un vienmērīgumu vienā paraugā vai vidē, kalpojot par būtisku mikrobioma ekoloģiskās stabilitātes rādītāju un atspoguļojot esošās mikroorganismu kopienas sugu bagātību un vienmērīgumu. Alfa daudzveidība tiek uzskatīta par mikrobioma stabilitātes un veselības indikatoru. Parasti lielāka alfa daudzveidība korelē ar mikrobioma elastību, rezistenci pret patogēniem un zemāku iekaisuma līmeni (Lozupone et al., 2012). Alfa daudzveidības analīze tiek plaši izmantota, lai novērtētu zarnu mikrobioma vispārējo stāvokli.

Šajā pētījumā alfa daudzveidība tika noteikta ģinšu līmenī, izmantojot vairākus parametrus: Šenona daudzveidības indeksu, Simpsona indeksu, apgriezto Simpsona indeksu un sugu vienmērīgumu. Šie rādītāji ļauj novērtēt mikroorganismu kopienu daudzveidību – gan sugu skaitu (bagātību), gan to izplatības vienmērīgumu paraugā. Alfa daudzveidības analīzē tika iekļauti 123 paraugi, kas pēc kvalitātes kontroles atbilda metagenomiskās analīzes kritērijiem; alfa daudzveidības rādītāji tika salīdzināti starp AD un CO grupām.

Alfa daudzveidības rezultāti neuzrādīja statistiski nozīmīgas atšķirības starp grupām nevienā no novērtētajiem indikatoriem.

Šie rezultāti liecina, ka kolorektālu adenomu klātbūtne nav saistīta ar būtiskām zarnu mikrobioma sugu daudzveidības vai izplatības izmaiņām. Tie saskan ar citu autoru rezultātiem, kuros tika konstatēts, ka alfa daudzveidība bieži vien paliek nemainīga agrīnas kolorektālas karcinoģenēzes stadijās. Piemēram, pētījumā, kurā tika analizēts mikrobioms 95 pacientiem ar kolorektāliem veidojumiem, arī netika novērotas statistiski nozīmīgas izmaiņas Šenona indeksā starp adenomām un veseliem indivīdiem (Zeller et al., 2014), taču daži pētījumi atklāj nelielu, bet statistiski nozīmīgu alfa daudzveidības samazinājumu pacientiem ar adenomām (Ai et al. 2019). Pretrunīgās tendences zinātniskajā literatūrā var būt skaidrojamas ar dažādajām metodoloģiskajām pieejām (piemēram, 16S rRNS sekvencēšana, metagenomika), paraugu tipu atšķirībām (fēču vs. gļotādas), izmantotajiem bioinformātikas algoritmiem, atšķirīgām populācijām vai paraugu lielumu, kā arī populācijas specifiskiem faktoriem, piemēram, diētu, etnisko izcelsmi, antibiotiku lietojumu un citiem vides ietekmes aspektiem. Līdzīgi arī *Deng* et al. (2025), analizējot mikrobiomu, izmantojot 16S rRNS sekvencēšanu, neatklāja būtiskas atšķirības alfa daudzveidības rādītājos (Šenona, Simpsona indeksi) starp pacientiem ar polipiem un kontroles grupu.

Strukturālās izmaiņas mikrobiotas sastāvā, īpaši butirātu producējošo taksonu samazināšanās un potenciāli proiekaisuma baktēriju relatīvais pieaugums, loģiski atspoguļojas arī funkcionālajā profilā. Funkcionālie metabolisma ceļi bieži ir jutīgāki disbiozes indikatori nekā taksonomiskās atšķirības vien, jo tie tiešāk atspoguļo mikrobiomas bioloģisko ietekmi uz saimniekorganismu. Tādēļ īpaša nozīme šajā pētījumā ir konstatētajām izmaiņām vitamīnu biosintēzes, aminoskābju fermentācijas un īso ķēžu taukskābju metabolismā.

Ņemot vērā, ka autora pētījums balstīts uz metagenomisko datu analīzi, kas nodrošina augstāku taksonomiskās un funkcionālās precizitātes līmeni nekā 16S rRNS analīze, iegūtie dati papildina zināšanu kopumu ar augstas izšķirtspējas rezultātiem. Starpgrupu rezultātu līdzība mikrobioma daudzveidībā liecina, ka iespējamās mikrobioma izmaiņas adenomu kontekstā var būt izteiktākas funkcionālajā profilā, nevis kopējā ģenētiskajā dažādībā, tāpēc šie rezultāti liek pievērst uzmanību arī citām iespējamām mikrobioma komponentēm, piemēram,

specifisku baktēriju relatīvo daudzumu izmaiņām vai funkcionālo ceļu izmaiņām (piemēram, butirāta, lipopolisaharīdu biosintēze u. c.), kas var būt nozīmīgāki biomarķieri nekā daudzveidības indeksi vien. Kopumā mūsu alfa daudzveidības analīze apstiprina nepieciešamību pēc detalizētākas taksonomiskās un funkcionālās mikrobioma izpētes šajā populācijā.

Beta daudzveidība

Šajā pētījumā beta daudzveidība sugu līmenī tika raksturota, izmantojot Aitčisona distanci un vizualizēta galveno komponentu analīzes (PCA) telpā. AD un CO grupu paraugi daļēji pārklājās, savukārt AD grupā bija novērojama lielāka paraugu izkliede. CO grupas paraugi ordinācijas telpā grupējās ciešāk. Šie vizuālie novērojumi norāda uz iespējamu atšķirību mikrobioma kopienas struktūrā un grupu iekšējā heterogenitātē, taču pats PCA attēls nepierāda statistiski nozīmīgu starpgrupu atšķirību.

Šie novērojumi saskan ar vairākiem citiem pētījumiem, kuros norādīts, ka beta daudzveidība ir jutīgāks mikrobioma izmaiņu indikators agrīnās kolorektālās karcinoģenēzes stadijās nekā alfa daudzveidība (Hale et al., 2016). Lai gan pastāv ievērojama mikroorganismu profilu pārklāšanās, AD grupai ir lielāks mainīgums un specifiskas asociācijas ar taksoniem, piemēram, *Collinsella sp.* un *Holdemanella sp.* Būtiski, ka mikrobioma sastāva izmaiņas AD grupā ne vienmēr nozīmē sastopamības zudumu, bet gan korekcijas konkrētos taksonos, kas saistīti ar disbiozi un iekaisuma mikrovidi. AD grupas mikrobioma dominējošie taksoni *Prevotella sp.*, *Collinsella sp.*, *Holdemanella* un *Granulicatella* ir iepriekš asociēti ar proiekaisuma stāvokļiem un zarnu barjeras caurlaidības izmaiņām (Larsen et al., 2017). Piemēram, *Collinsella* ir saistīta ar žultsskābju metabolismu un iekaisuma ceļu aktivāciju caur IL-17 signalizāciju, kas potenciāli var veicināt karcinogēnu vidi gremošanas traktā (Larsen et al., 2017). Savukārt CO grupā dominējošie taksoni, piemēram, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Anaerostipes caccae*, *Erysipelatoclostridium spiroforme* un *Sellimonas intestinalis*, ir labi pazīstami par to potenciāli labvēlīgo ietekmi uz zarnu homeostāzi. Šīs sugas ir iesaistītas butirāta un citu īso ķēžu taukskābju (SCFA) sintēzē, kas uzlabo epitēlija barjeru un kavē iekaisuma ceļu aktivāciju (Louis et al., 2017).

PCA ordinācijā tika novērota daļēja AD un CO grupu paraugu pārklāšanās un lielāka AD grupas izkliede. Statistiskās starpgrupu atšķirības izvērtējums interpretējams tikai pēc beta daudzveidības analīzei atbilstoša inferenciālā testa identificēšanas un tā rezultātu pārbaudes. AD grupā deskriptīvi tika novērotas atšķirības atsevišķu taksonu relatīvajā sastopamībā, tostarp zemāka *Faecalibacterium* un *Anaerostipes* un augstāka *Bacteroides* relatīvā sastopamība. Šīs atrades var atspoguļot atšķirīgu mikrobioma kompozīciju adenomu grupā, taču to bioloģiskā un

cēloniskā nozīme no šī pētījuma vien nav nosakāma. (Hale et al., 2016). Mūsu rezultāti iezīmē potenciālas taksonomiskās izmaiņas, kas varētu kalpot kā biomarķieri agrīnai kolorektālu adenomu diagnostikai. Lai gan abu grupu mikrobiomu sastāvos novērojama pārklāšanās, AD grupai raksturīgās atšķirības mikroorganismu profilos liecina par iespējamām mikrobiotas modulēšanas iespējām kā daļu no preventīvas pieejas. Šie dati papildina pieaugošo pierādījumu apjomu, kas liecina, ka zarnu mikrobioma sastāvs, īpaši beta daudzveidības rādītāji, var atklāt izmaiņas pirmsvēža stāvokļos, veicinot personalizētu skrīninga pieeju, kā arī mikrobioma mērķtiecīgas pārmaiņas.

Šajā darbā tika izmantota metagenomiskā sekvencēšana un identificētas būtiskas atšķirības mikrobioma kompozīcijā un funkcionālajos ceļos starp indivīdiem ar kolorektālām adenomām un indivīdiem bez kolorektālām adenomām. Šie rezultāti saskan ar neseno darbu, kurā tika izmantota 16S rRNS sekvencēšana un analizētas mikrobiotas struktūras izmaiņas pacientiem ar kolorektāliem polipiem (Deng et al., 2025). Minētajā pētījumā tika konstatēta statistiski nozīmīga beta daudzveidības atšķirība starp polipu grupu un veseliem indivīdiem, kas atspoguļo mikrobiotas kopienas strukturālo disbalansu. Autori ziņo par samazinātu *Bifidobacterium* un *Faecalibacterium* pārpilnību un palielinātu *Escherichia coli* un *Ruminococcus gnavus* sastopamību pacientiem ar polipiem, norādot uz nelabvēlīgām mikrobiotas pārmaiņām ar potenciāli karcinogēnu raksturu. Atbilstoši *Deng* et al. (2025) pētījumam, beta daudzveidības analīzē, izmantojot PCoA metodi, tika konstatētas statistiski nozīmīgas atšķirības starp polipu un kontroles grupām ($p = 0,001$). Mūsu rezultātos tika novērota līdzīga starpgrupu strukturālu atšķirību tendence, tomēr tās statistiskais nozīmīgums interpretējams tikai pēc atbilstoša beta daudzveidības inferenciālā testa rezultātu pārbaudes.

Diferenciālās sastopamības analīze starp pacientiem ar kolorektālām adenomām un pacientiem bez kolorektālām adenomām

Diferenciālās sastopamības analīze ir būtiska metode mikrobioma pētījumos, tā ļauj identificēt konkrētus taksonus, kuru relatīvā sastopamība būtiski atšķiras starp dažādām klīniskām grupām, piemēram, pacientiem ar kolorektālām adenomām (AD) un bez tām (CO). Šāda analīze sniedz iespēju konstatēt potenciālos mikroorganismus, kas saistīti ar slimību attīstību vai aizsargājošiem efektiem (Gloor et al., 2017; Weiss et al., 2017). Lai salīdzinātu mikroorganismu daudzumu starp grupām, tiek izmantotas izplatītas statistikas metodes, piemēram, lineāri modeļi vai neparametriskie testi, koriģējot traucējošos faktorus, piemēram, vecumu, ĶMI, dzīvesvietu u. c.

Mikroorganismu taksonu sastopamība vai izsīkšana nosaka, kuru taksonu sugu vai ģinšu skaits ir palielināts vai samazināts noteiktā grupā. Izmaiņas mikroorganismu daudzumā var sniegt ieskatu bioloģiskajos procesos, kas saistīti ar veselību vai slimībām. Piemēram, noteiktu

baktēriju skaita palielināšanās konkrētas slimības gadījumos varētu liecināt par šī mikroorganisma iespējamo lomu slimības progresēšanā, un otrādi, labvēlīgo baktēriju izsīkums var liecināt par zarnu mikrobioma traucējumiem, kas veicina šo stāvokli.

Dati tiek spstrādāti ar *shotgun* metagenomiskās sekvencēšanas metodi. Dažiem mikroorganismu paraugiem var būt vairāk nolasījumu nekā citiem, šī pieeja nodrošina to, ka atšķirības mikroorganismu daudzumā atspoguļo bioloģiskās variācijas, nevis tehniskus artefaktus.

Lai identificētu mikroorganismus un salīdzinātu katra taksona sastopamību starp grupām, tika izmantoti statistiski lineārie modeļi MaAsLin2 un limma, kas var ņemt vērā traucējošos faktorus (piemēram, vecumu, diētu) un piemērot korekcijas vairākiem faktoriem (piemēram, viltus atklāšanas biežums jeb FDR). FDR izmanto, lai labotu vairākus testus (jo tiek pārbaudīti daudzi taksoni), nodrošinot, ka rezultāti nav nejauši.

Log fold change (logFC) ir mikroorganismu daudzuma izmaiņu mērījums starp diviem apstākļiem, kas tiek ziņots logaritmiskā skalā. Pozitīvs logFC norāda, ka mikroorganisms ir vairāk sastopams konkrētā grupā, savukārt negatīvs logFC norāda, ka taksons šajā grupā ir mazāk izplatīts, savukārt p vērtība norāda, vai daudzuma atšķirība ir statistiski nozīmīga. LogFC metodi lieto, lai aprakstītu izmaiņu apmēru starp divām mērījumu vērtībām, izmantojot logaritmisko mērogu, lai panāktu simetriskāku un vieglāk interpretējamu datu sadalījumu. Ja rezultāts ir pozitīvs, tas norāda uz palielināšanos, bet, ja negatīvs – uz samazināšanos. MaAsLin2 analīzē $q < 0,25$ tika izmantots kā eksploratīvais atlases slieksnis, savukārt $q < 0,05$ tika uzskatīts par konvencionālo statistiskās nozīmības slieksni. Analīzē tika iekļauti 123 paraugi.

MaAsLin2 analīze neatklāja statistiski nozīmīgas asociācijas starp konkrētu mikroorganismu sastopamību un kolorektālām adenomām. Šāds rezultāts var liecināt par augstu mikrobioma starpindividuālo mainību vai nepietiekamu statistisko jaudu (Mallick et al., 2021). Turpretim limma analīze, kas ir īpaši piemērota augstas dimensijas datiem, atklāja vienu statistiski nozīmīgu sugu *UBA7597 sp003448195*, kas bija būtiski biežāk sastopama AD grupā ($logFC = 3,45$, $FDR = 0,0023$). Šīs baktērijas identitāte nav plaši aprakstīta, taču tās paaugstinātā sastopamība var liecināt par līdz šim nepietiekami izpētītu šī taksona lomu kolorektālo adenomu patoģenēzē. Šie dati sasaucas ar literatūrā aprakstītiem piemēriem, kur netipiski vai nespecifiski zarnu mikroorganismi tiek identificēti kā iespējami slimības indikatori (Pasolli et al., 2019). Koriģētā p vērtība 0,0023 norāda, ka šī atrade ir statistiski nozīmīga pēc vairākkārtējas pārbaudes (izmantojot viltus atklāšanas koeficientu FDR) korekcijas.

Limma analīzē $FDR = 0,0023$ norāda, ka *UBA7597 sp003448195* diferenciālā sastopamība saglabājās statistiski nozīmīga pēc vairāku salīdzinājumu korekcijas

logFC = 3,4458 norāda uz izteiktu efekta lielumu konkrētajā limma modelī, savukārt $p = 1{,}03 \times 10^{-6}$ un FDR = 0,0023 norāda uz statistiski nozīmīgu diferenciālu sastopamību pēc vairāku salīdzinājumu korekcijas.

UBA7597 sp003448195 relatīvā sastopamība limma analīzē bija augstāka AD grupā, un šī atšķirība saglabājās statistiski nozīmīga pēc FDR korekcijas (FDR = 0,0023).

Šāda nesakritība starp MaAsLin2 un limma rezultātiem nav neparasta mikrobioma pētījumos – atšķirīgi statistiskie modeļi (piemēram, dispersijas pieņēmumi, normalizācijas metodes un traucējošo faktoru iekļaušana) var nopietni ietekmēt gala rezultātus (Nearing et al., 2022). Tāpēc ir ieteicams izmantot vairāk nekā vienu analīzes rīku, lai nodrošinātu rezultātu stabilitāti.

MaAsLin2 analīze neatklāja būtiskas atšķirības starp grupām, kas varētu būt skaidrojams ar vairākiem iemesliem. Tā kā MaAsLin2 koncentrējas uz atsevišķu taksonu asociācijām ar konkrētiem mainīgajiem, tas var neaptvert kopējo mikrobiotas struktūras daudzveidību starp grupām. Viena no iespējamām metodoloģiskajām grūtībām var būt neliels paraugu skaits, kas ierobežo statistisko jaudu un samazina analīzes spēju atklāt nozīmīgas atšķirības. Tāpat, ja mikroorganismu kopienas abās grupās ir ļoti līdzīgas, atšķirību noteikšana var būt sarežģītāka.

Vairāki vides un individuālie faktori, piemēram, uzturs, vecums, medikamentu lietošana vai dzīvesveida faktori, var ietekmēt mikrobiotas sastāvu un maskēt reālās starpgrupu atšķirības. Būtisku ietekmi var radīt arī tehniski aspekti, piemēram, nevienmērīgs secības dziļums – ja dažiem paraugiem ir vairāk nolasījumu nekā citiem, tas var ietekmēt rezultātus. Vēl viens svarīgs aspekts ir statistiskās korekcijas, piemēram, viltus atklāšanas ātruma (FDR) kontrole, kas tiek piemērota, lai samazinātu kļūdaini pozitīvo rezultātu skaitu, bet dažkārt var būt pārāk stingra, īpaši neliela paraugu skaita gadījumā.

Jāņem vērā arī tas, ka cilvēka mikrobioms ir ļoti dinamisks un to ietekmē dažādi neatkarīgi faktori, kas rada tā saukto bioloģisko troksni un var nomākt grupu starpā esošās atšķirības. Reti sastopamie mikroorganismi, kas potenciāli varētu būt nozīmīgi, reizēm tiek izslēgti no analīzēm vai to statistiskā nozīmība netiek sasniegta. Turklāt, ja analīzē iekļauti pārāk daudz neatbilstošu kovariantu vai arī ja netiek iekļauti būtiski kovarianti, tas var samazināt spēju atklāt būtiskas asociācijas. Ir arī iespējams, ka izmaiņas kopējā mikrobiotas struktūrā, piemēram, alfa vai beta daudzveidībā, ir izteiktākas nekā izmaiņas konkrētos taksonos. Tā kā MaAsLin2 koncentrējas tieši uz atsevišķiem mikroorganismiem, šī metode var nebūt pietiekama, lai atklātu kopējo mikrobiota profila variāciju starp grupām.

UBA7597 sp003448195 palielināto sastopamību AD grupā var uzskatīt par potenciāli nozīmīgu atradi, taču tā bioloģiskā loma un funkcijas vēl nav līdz galam noskaidrotas.

UBA7597 sp003448195 limma analīzē uzrādīja statistiski nozīmīgu diferenciālu sastopamību starp AD un CO grupām. *UBA7597 sp003448195* vērtējams kā potenciāls mikrobioma biomarķiera kandidāts. Pirms klīniskas interpretācijas nepieciešama validācija neatkarīgās kohortās un diagnostiskās veiktspējas novērtēšana.

UBA7597 sp003448195 relatīvā sastopamība būtiski palielināta pacientiem ar kolorektālām adenomām (log2 *fold change* = +3,45; FDR = 0,0023). Šī taksonomiskā vienība pazīstama kā metagenomiski rekonstruēts genomu sastāvs (*Metagenome Assembled Genome*; MAG), kas pieder mazaprakstīto anaerobo baktēriju grupām un līdz šim nav kultivēts laboratorijā vai pilnībā fenotipiski raksturots. Tādēļ tā oficiālais taksonomiskais nosaukums, kā arī precīza ģenētiskā un funkcionālā piederība šobrīd ir provizoriska un saskaņā ar pašreizējām klasifikācijām tā netiek precīzi sasaistīta ar klasiskajām ģintīm vai sugām.

Pretrunīgi ar tradicionālo bakterioloģisko nosaukumu sistēmu, MAG atklājumi arvien biežāk tiek izmantoti mikrobioma pētījumos, jo tie ļauj identificēt un analizēt mikroorganismus, kas ir grūti vai neiespējami kultivējami ārpus saimniekorganisma. Tādas nesen identificētas MAG vienības ir atklājušas gan iepriekš nezināmas mikrobiotu funkcijas, gan potenciālas saiknes ar klīniskajiem stāvokļiem (Pasolli et al., 2019; Almeida et al., 2021).

UBA7597 sp003448195 relatīvais pieaugums adenomu grupā var atspoguļot specifiskas mikrobioma kompozīcijas pārbīdes, kas saistītas ar neoplastisku procesu resnajā zarnā. Iespējams, šī MAG pārstāv anaerobu grupu ar unikālām metabolisma kapacitātēm, kas var saistīties ar mikrovides apstākļiem, kuri atbalsta adenomatozu veidošanos vai progresiju. Neskaidrība ap šī taksona precīzu taksonomisko pozicionēšanu norāda uz nepieciešamību pēc turpmākas taksonomiskas validācijas, tostarp plašākas filoģenētiskas analīzes un genoma funkcionālas anotācijas, lai noteiktu tā metabolisma īpašības un iespējamo lomu saimniekorganisma patofizioloģijā.

Līdzīgi nesen identificētie un metagenomikā balstītie taksoni ir izrādījušies vērtīgi biomarķieri citos klīniskos stāvokļos, tostarp iekaisīgos zarnu slimību pētījumos (Franzosa et al., 2019; Duvallet et al., 2017), kur MAG identifikācija sagādā iespēju atklāt funkcionāli nozīmīgas, iepriekš nepazīstamas mikrobu grupas. Limma analīzē *UBA7597 sp003448195* saglabāja statistiski nozīmīgu diferenciālu sastopamību pēc FDR korekcijas (FDR = 0,0023), tādēļ šis taksons vērtējams kā potenciāls mikrobioma biomarķiera kandidāts, kam nepieciešama validācija neatkarīgās kohortās. Šis rezultāts pats par sevi neļauj spriest par taksona diagnostisko vai prognostisko veiktspēju.

No translacionālā viedokļa, biomarķieris nav jāidentificē tikai kā pilnībā kultivēts mikroorganisms, tieši pretēji, metagenomiskā raksturošana ir veiksmīgi identificējusi vairākus mikrobioma marķierus, kas vēlāk tika saistīti ar klīnisko fenotipu (Thomas et al., 2019; Zeller

et al., 2014). Tādēļ *UBA7597 sp003448195* ir perspektīvs kandidāts turpmākai validācijai, it īpaši, ja to var apstiprināt neatkarīgās kohortās un, iespējams, kvantitatīvās diagnostikas metodēs (piem., qPCR balstītā mērījumā).

Lai gan šī taksona specifiskā bioloģiskā funkcija vēl nav raksturota, ir pamats sagaidīt, ka tā varētu būt saistīta ar fermentatīvajiem metabolisma ceļiem, redoksa reakcijām vai mikrovides signalizāciju, kas ir saistīti ar agrīniem neoplastiskiem procesiem. Tā kā pētījumā tika novērots arī samazināts *Stickland* fermentācijas un īsās ķēdes taukskābju biosintēzes potenciāls adenomu grupā, *UBA7597 sp003448195* relatīvā bagātība var būt daļa no plašākas metabolisma pārbīdes, kas atšķir adenomu no kontroles profiliem. Turpmākajos pētījumos būtu vērtīgi precīzi taksonomiski novietot *UBA7597 sp003448195*, izmantojot genomu filoģenētisku analīzi, izpētīt tā potenciālās metaboliskās ceļu īpašības ar metatranskriptomikas vai metaproteomikas pieeju, validēt asociāciju ar adenomu statusu neatkarīgās populācijās un izstrādāt kvantitatīvus diagnostikas rīkus, kas iekļauj šo MAG kā iespējamu biomarķieri.

Izmantojot LEfSe un metagenomeSeq, *Deng* et al. (2025) identificēja 48 statistiski nozīmīgi atšķirīgus OTU, no kuriem lielākā daļa (34) bija vairāk sastopami pacientiem ar polipiem. Šie taksoni ietvēra, piemēram, *Clostridium perfringens, Escherichia coli* un *Ruminococcus gnavus*. Mūsu pētījumā tika iegūti līdzīgi rezultāti, kas turklāt tika papildināti ar funkcionālo ceļu analīzi, apstiprinot mikrobiotas sastopamības profilu būtisko lomu adenomatozes klātbūtnē.

Mikroorganismu ģintis ar būtiskām relatīvās sastopamības atšķirībām pētījumā analizēto faktoru ietekmē

Mikroorganismu sastāva izmaiņu analīze atkarībā no klīniskiem un demogrāfiskiem mainīgajiem sniedz iespēju izprast potenciālos vides un saimniekfaktorus, kas ietekmē zarnas mikrobiotu. Šajā pētījumā tika izmantoti lineāri jauktu efektu modeļi, lai analizētu ģinšu un sugu līmeņa relatīvās sastopamības atšķirības atkarībā no ĶMI, dzimuma, smēķēšanas un gremošanas trakta slimībām. Šādu pieeju mikrobiomu analīzēs lieto, lai novērstu traucējošo mainīgo ietekmi un pielāgotu rezultātus (Mallick et al., 2021; Gloor et al., 2017).

Ievērojamākā taksonu asociācija tika novērota *Collinsella.sp900541645* gadījumā, kas uzrādīja statistiski nozīmīgu negatīvu saistību ar gastrītu un gastroezofageālo refluksa slimību (GERS). Šīs ģints samazināšanās ir svarīga, ņemot vērā iepriekšaprakstīto tās saistību ar lipīdu metabolismu un gļotādas veselumu (Gomez et al., 2018). Tās retāka sastopamība var norādīt uz iespējamām izmaiņām slimību gadījumā, kas ietekmē mikrobioma līdzsvaru un iekaisuma procesus. *Dialister.sp* un *Parolsenella.massiliensis* arī uzrādīja negatīvu tendenci, taču neatbilda vairākkārtējas testēšanas korekcijas prasībām, tāpēc šo taksonu nozīme būtu jāapstiprina turpmākos pētījumos ar lielākām izlasēm (Duvallet et al., 2017).

Negatīvas asociācijas tika konstatētas starp *Holdemania massiliensis, Lawsonibacter sp900066645* un *RC9.sp900546395* un paaugstinātu ĶMI. Lai arī šie taksoni neizturēja FDR korekciju, līdzīgas tendences iepriekš aprakstītas pētījumos par aptaukošanos, kur noteiktas baktērijas samazinās līdz ar ĶMI pieaugumu, iespējams, saistībā ar fermentācijas traucējumiem vai SCFA metabolisma izmaiņām (Dao et al., 2016). Šīs ģintis var kalpot kā potenciāli kandidāti turpmākai izpētei.

Tika konstatēts, ka *Ruminococcus sp900540005* relatīvā sastopamība bija būtiski augstāka vīriešiem. Šāda dzimumatkarīga mikrobioma struktūra saskan ar iepriekš publicētiem datiem, kas norāda, ka hormonālie un imunoloģiskie faktori var ietekmēt mikrobiotas sastāvu (Wu et al., 2024). Lai arī rezultāts nepārsniedza FDR korekcijas slieksni, statistiskā nozīmība pirms korekcijas nav ignorējama.

Sutterella faecalis bija biežāk sastopama smēķētāju grupā, ko apliecina augsts pozitīvs koeficients un zema p vērtība. Lai gan FDR korekcijas rezultātā šī asociācija vairs nebija statistiski nozīmīga, tā atbilst iepriekšējiem pētījumiem, kas norāda uz smēķēšanas ietekmi uz mikrobioma sastāvu, īpaši saistībā ar zarnu caurlaidību un imūno reakciju (Allais et al., 2016).

Mikroorganismu ģinšu saistība ar konkrētiem rādītājiem (piemēram, gastrītu, ĶMI vai smēķēšanu) liecina par iespējamu šiem faktoriem raksturīgu mikrobioma profilu. Lai gan lielākā daļa asociāciju neizturēja vairāku testu korekciju, identificētās tendences (*Collinsella* saistībā ar gastrītu un GERS, *Ruminococcus* ar vīriešu dzimumu) saskan ar esošajiem literatūras datiem, norādot uz nepieciešamību pēc turpmākiem pētījumiem, iespējams, plašākās populācijās. Šādi rezultāti var veidot pamatu mērķtiecīgai mikrobiotas modulēšanai kā daļai no personalizētas medicīnas pieejām.

Deng et al. (2025) darbā pacientiem ar kolorektāliem polipiem konstatēta palielināta *Escherichia coli* relatīvā sastopamība. Atsevišķi *E. coli* celmi ir saistīti ar kolorektālās karcinoģenēzes procesiem, tādēļ šī atrade var liecināt par ar polipu klātbūtni saistītām mikrobiotas kompozicionālām izmaiņām un pamato *E. coli* kā potenciāla mikrobioma biomarķiera turpmāku izpēti.

Mikrobioma funkcionālās atšķirības pacientiem ar kolorektālām adenomām un pacientiem bez kolorektālām adenomām

Mikrobioma funkcionālā profila analīze atklāja sešu mikroorganismu vielmaiņas ceļu relatīvu samazinājumu pacientiem ar kolorektālām adenomām (AD grupa), salīdzinot ar kontroles grupu (CO). Lai gan neviena no atšķirībām nesasniedza statistiskās nozīmības slieksni pēc FDR korekcijas (visām FDR > 0,05), visiem sešiem ceļiem bija izteikti pozitīvi efekta koeficienti (no +1,01 līdz +1,57), kas norāda uz lielāku šo funkciju sastopamību

kontroles grupā. Šādi rezultāti liecina par bioloģiski nozīmīgām zarnu mikrobioma funkciju izmaiņām, kas varētu būt saistītas ar agrīnām neoplastiskām pārmaiņām.

Menahinona (K2 vitamīna) biosintēzes ceļi (PWY-7371 un PWY-7992)

PWY-7371 (1,4-dihidroksi-6-naftoāta biosintēze II) un PWY-7992 (menahinola-8 biosintēzes superceļš) relatīvā pārstāvība bija augstāka kontroles grupā nekā adenomu grupā (koeficienti attiecīgi +1,57 un +1,52; FDR = 0,1455 abiem). Menahinons ir nozīmīgs elektronu nesējs baktēriju elpošanas ķēdēs (Brooijmans et al., 2009). Šajā pētījumā PWY-7371 un PWY-7992 zemāka relatīvā pārstāvība adenomu grupā norāda uz menahinona biosintēzes funkcionālā potenciāla samazinājuma tendenci tajās mikroorganismu grupās, kurās šie ceļi ir pārstāvēti. Metagenomiskā analīze raksturo gēnu un metabolisma ceļu potenciālu, nevis faktisko metabolisma aktivitāti vai K_2 koncentrāciju. Tādēļ šie rezultāti nepierāda K_2 deficītu un interpretējami kā eksploratīvs, hipotēzi ģenerējošs funkcionāls signāls, kas turpmāk validējams ar metabolomikas vai citām funkcionālām metodēm.

***Stickland* fermentācijas ceļi (PROPFERM-PWY, PWY-8188, PWY-8189)**

Visi trīs ceļi, kas saistīti ar aminoskābju fermentāciju, – PROPFERM-PWY (L-alanīna fermentācija), PWY-8188 (reduktīvā L-alanīna degradācija) un PWY-8189 (oksidatīvā L-alanīna degradācija) – bija mazāk izteikti AD grupā (koeficienti +1,04; FDR = 0,1815 visiem). *Stickland* fermentācija ir specifiska *Clostridiales* kārtas baktērijām un nodrošina būtisku anaerobās enerģijas ražošanas mehānismu (Buckel et al., 1974). Novērotais šo ceļu samazinājums liecina par iespējamu anaerobo baktēriju metabolisma potenciāla zudumu, kas var būt saistīts ar disbiozi un ar iekaisumu saistītām mikrovides izmaiņām (Liu, Y. et al., 2022).

Akrilāta ceļš (PWY-5494: piruvāta fermentācija līdz propanoātam II)

Šis ceļš ir viens no veidiem, kā mikroorganismi sintezē propionātu – īso ķēžu taukskābi (SCFA) ar zināmu pretiekaisuma un kolonocītus aizsargājošu iedarbību (Louis et al., 2017). PWY-5494 zemāka relatīvā pārstāvība AD grupā (koeficients = +1,01; FDR = 0,2367) var norādīt uz samazinātu propionāta biosintēzes funkcionālo potenciālu. Tā kā asociācija nesasniedza FDR < 0,05, šī atrade interpretējama kā eksploratīva. (Canani et al., 2011).

Lai arī statistiskā nozīmība nav sasniegta (iespējams, ierobežotā paraugu skaita dēļ), visu sešu identificēto metabolisma ceļu virziens bija konsekvents un norādīja uz samazinātu mikrobioma funkcionālo potenciālu adenomu grupā (iespējama mikrobioma funkcionālā potenciāla traucējumu klātbūtne kolorektālo adenomu gadījumos). Šie seši ceļi funkcionāli apvienojami trijās galvenajās kategorijās: menahinona jeb K2 vitamīna biosintēzē, aminoskābju jeb *Stickland* fermentācijā un īso ķēžu taukskābju, īpaši propionāta, sintēzē. Šo bioloģiski

saistīto ceļu vienāds izmaiņu virziens veido eksploratīvu, hipotēzi ģenerējošu funkcionālu signālu, kura statistiskais un bioloģiskais robustums jāapstiprina neatkarīgās kohortās. (Thomas et al., 2019; Gagnière et al., 2016). Vairākos pētījumos atklāts, ka mikrobioma funkcijas var kalpot par jutīgākiem gremošanas trakta slimību biomarķieriem nekā taksonomiskās sastāvdaļas vien (Franzosa et al., 2019). Mūsu rezultāti apstiprina šo apgalvojumu, akcentējot uzmanību uz to, ka pacientiem ar resnās zarnas adenomām tiek novērotas ne tikai izmaiņas mikroorganismu sastāvā, bet konstatētas arī būtiskas izmaiņas to funkcionālajās izpausmēs. Īpaši nozīmīgi ir novērotie traucējumi vielmaiņas procesos, kas saistīti ar mikroorganismu enerģijas ražošanu, zarnu epitēlija veseluma nodrošināšanu un zema līmeņa iekaisuma regulāciju.

Mikrobioma funkciju analīze ļāva identificēt vairākas mikroorganismu metabolisma aktivitātes, kas samazinātas kolorektālo adenomu gadījumos. Iegūtie rezultāti norāda uz nepieciešamību turpmāk attīstīt funkcionālo mikrobioma profilu kā iespējamu biomarķieru pamatu agrīnai skrīninga diagnostikai. Lai nostiprinātu šīs funkcijas kā daļu no personalizētas pieejas kolorektālā vēža agrīnai atklāšanai un profilaksei, nepieciešamas lielāku izlašu analīzes.

Deng et al. (2025) uzsver strukturālā disbalansa klātbūtni mikrobiotas kompozīcijā ar labvēlīgo baktēriju (piemēram, *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*) samazināšanos un patogēno baktēriju (piemēram, *Escherichia coli*, *Fusobacteria*) pieaugumu. Mūsu pētījumā funkcionālo ceļu analīzē tika novērotas eksploratīvas atšķirību tendences, kas saistītas ar menahinona biosintēzi, Stickland fermentāciju un propionāta biosintēzes funkcionālo potenciālu. Šīs atrades interpretējamas piesardzīgi, jo tās nesasniedza konvencionālo statistiskās nozīmības slieksni pēc FDR korekcijas.

Neskatoties uz atšķirībām izmantotajās sekvencēšanas metodēs (16S rRNA/ *shotgun* metagenomika), abas pieejas konsekventi norāda uz zarnu mikrobiotas nozīmi kolorektālo veidojumu patoģenēzē. Turpmākie pētījumi ar apvienotu 16S rRNA un metagenomisko datu analīzi varētu nodrošināt augstāku taksonomisko precizitāti un ļaut sintezēt gan kompozicionālos, gan funkcionālos aspektus mikrobiomas kā biomarķiera potenciāla izvērtēšanā (Deng et al., 2025).

No klīniskā viedokļa, mikrobioma funkcionālais profils var būt perspektīvāks biomarķieru avots nekā atsevišķu taksonu relatīvā sastopamība. Funkcionālie ceļi atspoguļo mikrobiotas metabolo kapacitāti neatkarīgi no konkrētā taksona, kas šo funkciju nodrošina. Tas ir īpaši nozīmīgi, ņemot vērā mikrobioma starpindividuālo mainību. Tādēļ nākotnes skrīninga pieejās funkcionālo ceļu analīze varētu papildināt kolonoskopiju vai fekālo testēšanu, veidojot kombinētus riska modeļus agrīnai adenomu noteikšanai.

Secinājumi

1. Negaidīti atšķīrās fizisko aktivitāšu paradumi- fiziski aktīvo indivīdu īpatsvars bija lielāks adenomu grupā (73,2 % vs. 17,5 %; $p < 0,001$), un šī atrade interpretējama piesardzīgi, ņemot vērā iespējamu jaucējfaktoru, atlases īpatnību un fiziskās aktivitātes raksturojuma ietekmi, kā arī citu faktoru, piemēram, uztura, profesijas un ģenētisko faktoru, iespējamo nozīmi.
2. Pacientiem ar adenomām deskriptīvi novērota augstāka Bacteroides un Phocaeicola, kā arī zemāka Faecalibacterium un Anaerostipes relatīvā sastopamība. Beta daudzveidībā tika konstatēta statistiski nozīmīga starpgrupu atšķirība, savukārt alfa daudzveidības rādītāji būtiski neatšķīrās, norādot galvenokārt uz mikrobioma kompozicionālām, nevis kopējās iekšparauga daudzveidības atšķirībām.
3. Limma diferenciālās sastopamības analīzē tika identificēts viens statistiski nozīmīgs taksons- *UBA7597 sp003448195*, kura relatīvā sastopamība bija augstāka AD grupā (logFC = 3,4458; FDR = 0,0023). *UBA7597 sp003448195* vērtējams kā potenciāls mikrobioma biomarķiera kandidāts; pirms klīniskas interpretācijas nepieciešama validācija neatkarīgās kohortās un diagnostiskās veiktspējas novērtēšana.
4. Mikrobiotas struktūra korelē ar dažiem klīniskiem mainīgajiem. Īpaši *Collinsella spp.* uzrādīja nozīmīgu saistību ar gremošanas trakta slimībām (gastrītu un GERS), bet kopumā vairums statistiski nozīmīgo asociāciju zaudēja nozīmīgumu pēc FDR korekcijas, kas norāda uz nepieciešamību pēc lielākām izlasēm vai precīzāk definētiem kovariantiem.
5. Funkcionālo ceļu analīzē sešiem metabolisma ceļiem tika novērota zemākas relatīvās pārstāvības tendence AD grupā: diviem menahinona biosintēzes ceļiem (PWY-7371, PWY-7992), trim Stickland fermentācijas ceļiem (PROPFERM-PWY, PWY-8188, PWY-8189) un propionāta biosintēzes ceļam PWY-5494. Neviens no šiem ceļiem nesasniedza konvencionālo statistiskās nozīmības slieksni pēc FDR korekcijas (FDR < 0,05), tādēļ šīs atrades interpretējamas kā eksploratīvas, hipotēzi ģenerējošas funkcionālā potenciāla atšķirību tendences.
6. Menahinona biosintēzes ceļu funkcionālā potenciāla samazinājuma tendence adenomu grupā var norādīt uz enerģētiskā metabolisma izmaiņām tajās mikroorganismu grupās, kurās šie ceļi ir pārstāvēti. Menahinons (K2 vitamīns) ir būtisks baktēriju elektronu transporta ķēdes komponents, tādēļ šo specifisko biosintēzes ceļu zemāka pārstāvība var atspoguļot atsevišķu mikroorganismu funkcionālā potenciāla izmaiņas, kas potenciāli var būt saistītas ar zarnu gļotādas homeostāzi.
7. Adenomu grupā tika novērota Stickland fermentācijas ceļu funkcionālā potenciāla samazinājuma tendence. Šos anaerobās aminoskābju fermentācijas ceļus realizē noteiktas anaerobās baktērijas, tostarp Clostridia klases pārstāvji, un tie ir saistīti ar mikroorganismu

enerģijas ieguvi un aminoskābju metabolismu. To zemāka relatīvā pārstāvība var atspoguļot atsevišķu mikroorganismu grupu funkcionālā potenciāla izmaiņas adenomu grupā.

8. PWY-5494 zemāka relatīvā pārstāvība AD grupā var norādīt uz samazinātu propionāta biosintēzes funkcionālo potenciālu. Metagenomiskā analīze neatspoguļo faktisko propionāta produkciju vai koncentrāciju, tādēļ šī atrade interpretējama kā eksploratīva tendence, kurai nepieciešama validācija ar funkcionālām vai metabolomikas metodēm.

Priekšlikumi

1. Veikt turpmākus pētījumus, lai novērtētu, kā zarnu mikrobiotas sastāvs un funkcionalitāte mainās adenomu attīstības gaitā – no zema riska adenomām līdz adenokarcinomas attīstībai. Šāda pieeja ļautu identificēt laika gaitā notiekošās mikrobiomas izmaiņas un to potenciālo lomu karcinoģenēzes procesos. Īpaša uzmanība būtu jāpievērš specifisku baktēriju taksonu vai funkcionālu ceļu parādīšanās vai izzušanai noteiktos adenomas attīstības posmos. Šādi pētījumi palīdzētu noteikt, vai mikrobioma izmaiņas varētu kalpot kā agrīns, neinvazīvs biomarķieris ar diagnostisku vai prognostisku nozīmi. Tas pavērtu iespējas izmantot mikrobioma profilēšanu risku novērtēšanai un personalizētu skrīninga stratēģiju izstrādei.
2. Turpmākajos pētījumos pievērst lielāku uzmanību zarnas mikrobiotas metabolisko funkciju izpētei. Īpašu uzmanību pievēršot tādu metabolītu kā K2 vitamīns, butirāts, amonjaks un ūdeņraža sulfīds (H_2S) sintēzei un to saistībai ar resnās zarnas adenomu attīstību. Šie metabolīti var būtiski ietekmēt zarnu gļotādas integritāti un epitēlija proliferāciju, tādējādi veicinot vai aizkavējot adenomu attīstību un augšanu. Piemēram, butirātam piemīt pretiekaisuma un pretaudzēju īpašības, savukārt amonjaks un H_2S var radīt toksisku ietekmi uz epitēliju. Funkcionālā mikrobioma analīze var palīdzēt identificēt riska faktorus jau pirms histoloģisku pārmaiņu rašanās. Šāda informācija pavērtu iespējas izstrādāt preventīvas vai terapeitiskas iejaukšanās stratēģijas, ietekmējot mikrobioma metabolo profilu.
3. Veikt turpmākus pētījumus ar mērķēti pielāgotām diētām vai specifiskiem probiotiskiem preparātiem, lai veicinātu veselīgas zarnu mikrobiotas atjaunošanos pacientiem ar kolorektālām adenomām vai augstu to attīstības risku. Diētas, kas bagātas ar šķiedrvielām, prebiotikām un pretiekaisuma aģemtiem, kā arī probiotikas ar pierādītu iedarbību uz mikrobiotas daudzveidību un pretiekaisuma funkcijām, var potenciāli kavēt adenomu veidošanās progresiju. Šādos pētījumos būtu svarīgi novērtēt gan mikrobioma sastāva un funkciju pārmaiņas, gan ietekmi uz biomarķieriem, kas saistīti ar kolorektālām adenomām. Iegūtie dati palīdzētu identificēt efektīvākās uztura un mikrobioma modulācijas stratēģijas, īpaši augsta riska populācijās. Šāda pieeja varētu kļūt par nozīmīgu sadaļu kolorektālā vēža profilaksē.
4. Organizēt pilotprojektus valstu kolorektālā vēža skrīninga programmu ietvaros, kuros tiktu iekļauta zarnas mikrobioma datu sajūgšana ar tradicionālajiem izmeklējumiem, piemēram, slēpto asiņu piejaukuma testu fēcēs un kolonoskopiju. Šādu pilotprojektu mērķis būtu novērtēt, vai mikrobioma specifiskie sastāva vai funkciju rādītāji var uzlabot esošo skrīninga metožu jutīgumu un specifiskumu, īpaši agrīnu bojājumu noteikšanā. Projekti ļautu izstrādāt personalizētākas skrīninga stratēģijas, kurās augsta riska indivīdi tiktu identificēti precīzāk

un agrāk. Šādu pilotprojektu rezultāti varētu būt pamats mikrobioma biomarķieru iekļaušanai valstu skrīningu algoritmos nākotnē.

5. Sadarboties ar uztura speciālistiem un ģimenes ārstiem, lai izstrādātu pierādījumos balstītas uztura rekomendācijas, kas veicina labvēlīgas un daudzveidīgas zarnas mikrobiotas veidošanos. Šādas rekomendācijas būtu īpaši nozīmīgas pacientiem ar nelabvēlīgu ģimenes anamnēzi, iepriekš diagnosticētām adenomām vai citiem kolorektālā vēža riska faktoriem. Uztura paradumu korekcija varētu būt efektīvs un neinvazīvs veids, kā mazināt hronisku zarnas iekaisumu un kavēt adenomatozo veidojumu attīstību. Ģimenes ārstu iesaiste nodrošinātu agrīnu profilaksi primārās aprūpes līmenī, savukārt uztura speciālisti varētu sniegt personalizētus ieteikumus, balstoties uz individuālajiem riska faktoriem un mikrobioma profilu. Šāda multidisciplināra pieeja varētu kļūt par būtisku soli kolorektālā vēža primārās profilakses uzlabošanā.
6. Lai pilnīgāk izprastu zarnu mikrobiotas lomu kolorektālo adenomatozo bojājumu attīstībā un iespējamo reversibilitāti pēc veidojuma ablācijas, būtu ieteicams veikt salīdzinošu mikrobioma analīzi pirms un pēc adenomas ablācijas. Šāda pieeja ļautu izvērtēt, vai un kā mainās zarnu mikrobiotas sastāvs un funkcionalitāte pēc veidojuma likvidācijas, un noteikt, vai disbiozes pazīmes saglabājas arī pēc ablācijas, kas varētu liecināt par pastāvīgu nelabvēlīgu mikrobioloģisku vidi. Šāda pieeja ļautu identificēt iespējamās mikrobioma atjaunošanās iespējas un apsvērt papildu iejaukšanos (piem., probiotiku vai prebiotiku terapijas). Mikrobiotas kā dinamiska biomarķiera potenciāla izprašana varētu ļaut novērtēt terapijas efektivitāti vai novērtēt recidīva riskus.

Stiprās puses

1. **Augstas izšķirtspējas metagenomiskā pieeja.** *Shotgun* sekvencēšana ļāva noteikt mikrobioma taksonomiju līdz pat sugu un sugu-kompleksa līmenim, kā arī raksturot funkcionālos ceļus, pārvarot 16S rRNS pieejas ierobežojumus un nodrošinot plašāku bioloģisko interpretāciju.
2. **Daudzfaktoru statistiskā analīze.** MaAsLin2 analīzē tika iekļauti vairāki klīniski nozīmīgi mainīgie, tostarp dzimums, ĶMI, smēķēšana un blakusslimības. Vienlaikus jāņem vērā iespējama atlikusī jaucējfaktoru ietekme, jo adenomu un kontroles grupas būtiski atšķīrās arī pēc vecuma un citiem demogrāfiskiem un dzīvesveida rādītājiem.
3. **Saskaņa ar reālās pasaules skrīninga populāciju.** Pacientu sadalījums adenomu un kontroles grupās atbilst lielo skrīninga kohortu datiem, tādējādi palielinot iegūto secinājumu ārējo validitāti un klīnisko nozīmi.

4. **Integrēta taksonomiskā un funkcionālā analīze.** Vienlaikus vērtējot mikrobioma alfa/beta daudzveidību, diferencētās sastopamības taksonus un vielmaiņas ceļus, darbs piedāvā holistisku skatījumu uz mikrobiotas lomu adenomu patoģenēzē.
5. **Plašs, aktuāls literatūras konteksts.** Diskusijā apvienoti jaunākie 2023.–2025. gada pētījumi, ļaujot salīdzināt rezultātus ar starptautiskām tendencēm un definēt jaunus pētniecības virzienus (piem., *UBA7597 sp003448195* kā potenciāls biomarķieris).
6. **Vairāku statistisko pieeju izmantošana.** Vairāku statistisko pieeju izmantošana ļāva izvērtēt rezultātu jutību pret analītiskās metodes izvēli un identificēt atrades, kurām nepieciešama neatkarīga validācija.

Ierobežojumi

1. Momentuzņēmuma dizains neļauj pierādīt cēloņu un seku attiecības starp mikrobiotas izmaiņām un adenomu veidošanos.
2. Pētījums veikts vienā centrā, un salīdzinoši nelielais izlases apjoms var ierobežot statistisko jaudu retu taksonu un nelielu efektu noteikšanai, kā arī rezultātu vispārināmību citās populācijās.
3. AD un CO grupas būtiski atšķīrās pēc vairākiem demogrāfiskiem un dzīvesveida faktoriem, tostarp vecuma un atsevišķiem dzīvesveida raksturlielumiem. Lai gan daudzfaktoru analīzē tika iekļauti vairāki kovariāti, iespējama atlikusī jaucējfaktoru ietekme.
4. No sākotnēji 136 pieejamajiem paraugiem pēc sekvenēšanas datu kvalitātes kontroles turpmākajā metagenomiskajā analīzē tika iekļauti 123 paraugi. Šāds paraugu zudums var radīt atlases nobīdes iespēju, ja izslēgtie paraugi sistemātiski atšķīrās no analīzē iekļautajiem.
5. Pētījumā analizēts fēču mikrobioms, kas ne vienmēr pilnībā atspoguļo gļotādai vai pašam adenomatozajam veidojumam piesaistīto mikrobiomu. Tādēļ iegūtie rezultāti galvenokārt raksturo luminalā fekāliju mikrobioma kompozīciju.
6. Shotgun metagenomikas funkcionālā analīze raksturo mikroorganismu gēnu un metabolisma ceļu potenciālu, nevis faktisko gēnu ekspresiju, metabolisma aktivitāti vai metabolītu koncentrāciju. Tādēļ funkcionālo ceļu rezultātiem nepieciešama validācija ar metatranskriptomikas, metaproteomikas vai metabolomikas metodēm.
7. Pētījumā nebija neatkarīgas validācijas kohortas, tādēļ identificētās taksonomiskās un funkcionālās atrades, tostarp *UBA7597 sp003448195* kā potenciāls biomarķiera kandidāts, pirms klīniskas interpretācijas jāapstiprina neatkarīgās populācijās.

Neraugoties uz minētajiem ierobežojumiem, pētījums sniedz detalizētu taksonomisko un funkcionālo zarnu mikrobioma raksturojumu pacientiem ar un bez kolorektālām adenomām un identificē vairākas turpmāk validējamas asociācijas un biomarķieru kandidātus.

Publikācijas un ziņojumi par promocijas darba tēmu

Publikācijas:

1. **Vilkoite, I**., Mezmale, L., Tolmanis, I., Abu Meri, H., Veide, L., Dzerve, Z., Anarkulova, L., Nevidovska, K., Lejnieks, A. 2022. Comparison of NICE classification for optical diagnosis of colorectal polyps and morphology of removed lesions depending on localisation in colon. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B*, 76(6), 279–285.
2. **Vilkoite, I**., Tolmanis, I., Abu Meri, H., Polaka, I., Mezmale, L., Anarkulova, L., Leja, M., Lejnieks, A. 2023. The role of an artificial intelligence method of improving the diagnosis of neoplasms by colonoscopy. *Diagnostics (Basel)*, 13(4), 701. https://doi.org/10.3390/diagnostics13040701
3. Poļaka, I., Mežmale, L., Anarkulova, L., Kononova, E., **Vilkoite, I**., Veliks, V., Ļeščinska, A.M., Stonāns, I., Pčolkins, A., Tolmanis, I., Shani, G., Haick, H., Mitrovics, J., Glöckler, J., Mizaikoff, B., Leja, M. 2023. The detection of colorectal cancer through machine learning-based breath sensor analysis. *Diagnostics (Basel)*, 13(21), 3355. https://doi.org/10.3390/diagnostics13213355
4. **Vilkoite, I**., Tolmanis, I., Abu Meri, H., Polaka, I., Mezmale, L., Lejnieks, A. 2023. Age-based comparative analysis of colorectal cancer colonoscopy screening findings. *Medicina (Kaunas)*, 59(11), 2017. https://doi.org/10.3390/medicina59112017
5. Kononova, E., Mežmale, L., Poļaka, I., Veliks, V., Anarkulova, L., **Vilkoite, I**., Tolmanis, I., Ļeščinska, A. M., Stonāns, I., Pčolkins, A., Mochalski, P., Leja, M. 2024. Breath fingerprint of colorectal cancer patients based on the gas chromatography-mass spectrometry analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(3), 1632. https://doi.org/10.3390/ijms25031632
6. **Vilkoite, I**., Silamiķelis, I., Kloviņš, J. et al. Colorectal adenoma presence is associated with decreased menaquinone pathway functions in the gut microbiome of patients undergoing routine colonoscopy. *PLoS One*. 2026;21(3):e0344050. Published 2026 Mar 11. doi:10.1371/ journal.pone.0344050

Izmantotās literatūras saraksts

1. Aagaard, K., Luna, R. A., Versalovic, J. (2019) The human microbiome of local body sites and their unique biology. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases.* 9th ed. Vol. 1. Elsevier; p. 12–21.e3. doi:10.1016/B978-0-323-48255-4.00002-3.
2. Agha, O. Q., Alsayid, M., Brown, M. D. (2021) Bowel preparation in diabetic patients undergoing colonoscopy. *Ann Gastroenterol.*;34(3):310–315. doi:10.20524/aog.2021.0599.
3. Ahn, J., Sinha, R., Pei, Z., Dominianni, C., Wu, J., Shi, J., et al. (2013) Human gut microbiome and risk for colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst.*;105(24):1907–1911. doi:10.1093/jnci/djt300.
4. Ai, D., Pan, H., Li, X., Gao, Y., Liu, G., Xia, L. C. (2019) Identifying gut microbiota associated with colorectal cancer using a zero-inflated lognormal model. *Front Microbiol.*;10:826. doi:10.3389/fmicb.2019.00826.
5. Aitchison, J. (1982) The statistical analysis of compositional data. *J R Stat Soc Series B Stat Methodol.*;44(2):139–177.
6. Allais, L., Kerckhof, F. M., Verschuere, S., Bracke, K. R., De Smet, R., Laukens, D., et al. (2016) Chronic cigarette smoke exposure induces microbial and inflammatory shifts and mucin changes in the murine gut. *Environ Microbiol.*;18(5):1352–1363. doi:10.1111/1462-2920.12934.
7. Almeida, A., Mitchell, A. L., Boland, M., et al. (2019) A new genomic blueprint of the human gut microbiota. *Nature.*;568:499–504. doi:10.1038/s41586-019-0965-1.
8. Almeida, A., Mitchell, A. L., Boland, M., et al. (2021) A unified catalog of 204,938 reference genomes from the human gut microbiome. *Nat Biotechnol.*;39:105–114. doi:10.1038/s41587-020-0603-3.
9. Almeida, A., Nayfach, S., Boland, M., et al. (2021) A unified catalog of 204,938 reference genomes from the human gut microbiome. *Nat Biotechnol.*;39:105–114. doi:10.1038/s41587-020-0603-3.
10. American Cancer Society. (n.d.) Colorectal cancer screening guidelines [Internet]. Available from: https://www.cancer.org/cancer/types/colon-rectal-cancer/detection-diagnosis-staging/acs-recommendations.html. Cited 2025 Apr 29.
11. American Society of Colon and Rectal Surgeons (ASCRS), American Society for Gastrointestinal Endoscopy (ASGE), Society of American Gastrointestinal and Endoscopic Surgeons (SAGES), Wexner, S. D., Beck, D. E., Baron, T. H., Fanelli, R. D., Hyman, N., Shen, B., Wasco, K. E. (2006) A consensus document on bowel preparation before colonoscopy. *Surg Endosc.*;20(7):1161. doi:10.1007/s00464-006-3037-1.
12. Andrews, S. (2010) FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data [Internet]. Cambridge, UK: Babraham Bioinformatics, Babraham Institute. Available from: https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/.
13. Anjana, Tiwari, S. K. (2022) Bacteriocin-producing probiotic lactic acid bacteria in controlling dysbiosis of the gut microbiota. *Front Cell Infect Microbiol.*;12:851140. doi:10.3389/fcimb.2022.851140.
14. Arnold, M., Sierra, M. S., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., Bray, F. (2017) Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut.*;66(4):683–691. doi:10.1136/gutjnl-2015-310912.
15. Arpaia, N., Campbell, C., Fan, X., Dikiy, S., van der Veeken, J., deRoos, P., et al. (2013) Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature.*;504(7480):451–455. doi:10.1038/nature12726.
16. Arthur, J. C., Perez-Chanona, E., Mühlbauer, M., Tomkovich, S., Uronis, J. M., Fan, T. J., et al. (2012) Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science.*;338(6103):120–123. doi:10.1126/science.1224820.
17. Atarashi, K., Tanoue, T., Shima, T., et al. (2011) Induction of colonic regulatory T cells by indigenous Clostridium species. *Science.*;331(6015):337–341. doi:10.1126/science.1198469.

18. Bagnardi, V., Rota, M., Botteri, E., et al. (2015) Alcohol consumption and site-specific cancer risk: a comprehensive dose-response meta-analysis. *Br J Cancer.*;112(3):580–593. doi:10.1038/bjc.2014.579.

19. Baker, A. M., Graham, T. A., Elia, G., et al. (2015) Characterization of LGR5 stem cells in colorectal adenomas and carcinomas. *Sci Rep.*;5:8654. doi:10.1038/srep08654.

20. Barclay, R. L., Vicari, J. J., Doughty, A. S., Johanson, J. F., Greenlaw, R. L. (2006) Colonoscopic withdrawal times and adenoma detection during screening colonoscopy. *N Engl J Med.*;355(24):2533–2541. doi:10.1056/NEJMoa055498.

21. Barker, N., Ridgway, R. A., van Es, J. H., et al. (2009) Crypt stem cells as the cells-of-origin of intestinal cancer. *Nature.*;457(7229):608–611. doi:10.1038/nature07602.

22. Bassler, B. L. (2012) Microbes as menaces, mates, and marvels. In: Barenbaum, M., Meinwald, G., editors. *Daedalus.* Cambridge (MA): American Academy of Arts and Sciences Press;141(3):67–76.

23. Baxter, N. T., Ruffin, M. T. 4th, Rogers, M. A., Schloss, P. D. (2016) Microbiota-based model improves the sensitivity of fecal immunochemical test for detecting colonic lesions. *Genome Med.*;8(1):37. doi:10.1186/s13073-016-0290-3.

24. Beghini, F., McIver, L. J., Blanco-Míguez, A., et al. (2021) Integrating taxonomic, functional, and strain-level profiling of diverse microbial communities with bioBakery 3. *eLife.*;10:e65088. doi:10.7554/eLife.65088.

25. Belkaid, Y., Hand, T. W. (2014) Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell.*;157(1):121–141. doi:10.1016/j.cell.2014.03.011.

26. Belkaid, Y., Hand, T. W. (2014) Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell.*;157(1):121–141. doi:10.1016/j.cell.2014.03.011.

27. Belsey, J., Epstein, O., Heresbach, D. (2007) Systematic review: oral bowel preparation for colonoscopy. *Aliment Pharmacol Ther.*;25(4):373–384. doi:10.1111/j.1365-2036.2006.03212.x.

28. Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., et al. (2020) Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome.*;8:103. doi:10.1186/s40168-020-00875-0.

29. Boleij, A., Tjalsma, H. (2012) Gut bacteria in health and disease: a survey on the interface between intestinal microbiology and colorectal cancer. *Biol Rev Camb Philos Soc.*;87(3):701–730. doi:10.1111/j.1469-185X.2012.00218.x.

30. Botteri, E., Iodice, S., Bagnardi, V., Raimondi, S., Lowenfels, A. B., Maisonneuve, P. (2008) Smoking and colorectal cancer: a meta-analysis. *JAMA.*;300(23):2765–2778. doi:10.1001/jama.2008.839.

31. Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Soerjomataram, I., Jemal, A. (2024) Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.*;74(3):229–263. doi:10.3322/caac.21834.

32. Brennan, C. A., Garrett, W. S. (2016) Gut microbiota, inflammation, and colorectal cancer. *Annu Rev Microbiol.*;70:395–411. doi:10.1146/annurev-micro-102215-095513.

33. Brenner, H., Chang-Claude, J., Jansen, L., et al. (2014) Reduced risk of colorectal cancer up to 10 years after screening, surveillance, or diagnostic colonoscopy. *Gastroenterology.*;146(3):709–717. doi:10.1053/j.gastro.2013.09.001.

34. Bressler, B., Paszat, L. F., Chen, Z., et al. (2007) Rates of new or missed colorectal cancers after colonoscopy and their risk factors: a population-based analysis. *Gastroenterology.*;132(1):96–102. doi:10.1053/j.gastro.2006.10.027.

35. Brooijmans, R., Smit, B., Santos, F., van Riel, J., de Vos, W. M., Hugenholtz, J. (2009) Heme and menaquinone induced electron transport in lactic acid bacteria. *Microb Cell Fact.*;8:28. doi:10.1186/1475-2859-8-28.

36. Buckel, W., Barker, H. A. (1974) Two pathways of glutamate fermentation by anaerobic bacteria. *J Bacteriol.*;117(3):1248–1260. doi:10.1128/jb.117.3.1248-1260.1974.

37. Buffie, C. G., Pamer, E. G. (2013) Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. *Nat Rev Immunol.*;13(11):790–801. doi:10.1038/nri3535.

38. Canani, R. B., Costanzo, M. D., Leone, L., et al. (2011) Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. *World J Gastroenterol.*;17(12):1519–1528. doi:10.3748/wjg.v17.i12.1519.

39. Canani, R. B., Di Costanzo, M., Leone, L. (2012) The epigenetic effects of butyrate: potential therapeutic implications for clinical practice. *Clin Epigenetics.*;4:4. doi:10.1186/1868-7083-4-4.

40. Cani, P. D., Bibiloni, R., Knauf, C., Waget, A., Neyrinck, A. M., Delzenne, N. M., et al. (2008) Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes.*;57(6):1470–1481. doi:10.2337/db07-1403.

41. Cao, Y., Shen, J., Ran, Z. H. (2014) Association between Faecalibacterium prausnitzii reduction and inflammatory bowel disease: a meta-analysis and systematic review of the literature. *Gastroenterol Res Pract.*;2014:872725. doi:10.1155/2014/872725.

42. Castellarin, M., Warren, R. L., Freeman, J. D., Dreolini, L., Krzywinski, M., Strauss, J., et al. (2012) Fusobacterium nucleatum infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res.*;22(2):299–306. doi:10.1101/gr.126516.111.

43. Charbonneau, M., Blanton, L., DiGiulio, D., Relman, D. A., Lebrilla, C., Mills, D. A., et al. (2016) A microbial perspective of human developmental biology. *Nature.*;535(7610):48–55. doi:10.1038/nature18845.

44. Chen, C., Läcke, E., Stock, C., et al. (2017) Colonoscopy and sigmoidoscopy use among older adults in different countries: a systematic review. *Prev Med.*;103:52–60. doi:10.1016/j.ypmed.2017.07.021.

45. Chen, D., Wu, J., Jin, D., Wang, B., Cao, H. (2019) Fecal microbiota transplantation in cancer management: current status and perspectives. *Int J Cancer.*;145(8):2021–2031. doi:10.1002/ijc.32003.

46. Chen, G., Ren, Q., Zhong, Z., Li, Q., Huang, Z., Zhang, C., et al. (2024) Exploring the gut microbiome's role in colorectal cancer: diagnostic and prognostic implications. *Front Immunol.*;15:1431747. doi:10.3389/fimmu.2024.1431747.

47. Chen, S., Zhou, Y., Chen, Y., Gu, J. (2018) fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics.*;34(17):i884–i890. doi:10.1093/bioinformatics/bty560.

48. Cheng, W. T., Kantilal, H. K., Davamani, F. (2020) The mechanism of Bacteroides fragilis toxin contributes to colon cancer formation. *Malays J Med Sci.*;27(4):9–21. doi:10.21315/mjms2020.27.4.2.

49. Cisek, A. A., Szymańska, E., Aleksandrzak-Piekarczyk, T., Cukrowska, B. (2024) The role of methanogenic archaea in inflammatory bowel disease – A review. *J Pers Med.*;14(2):196. doi:10.3390/jpm14020196.

50. Click, B., Pinsky, P. F., Hickey, T., Doroudi, M., Schoen, R. E. (2018) Association of colonoscopy adenoma findings with long-term colorectal cancer incidence. *JAMA.*;319(19):2021–2031. doi:10.1001/jama.2018.5809.

51. Cohen, L. J., Cho, J. H., Gevers, D., Chu, H. (2019) Genetic factors and the intestinal microbiome guide development of microbe-based therapies for inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology.*;156(8):2174–2189. doi:10.1053/j.gastro.2019.03.017.

52. Corley, D. A., Jensen, C. D., Marks, A. R., et al. (2014) Adenoma detection rate and risk of colorectal cancer and death. *N Engl J Med.*;370(14):1298–1306. doi:10.1056/NEJMoa1309086.

53. Cuevas-Ramos, G., Petit, C. R., Marcq, I., Boury, M., Oswald, E., Nougayrède, J. P. (2010) Escherichia coli induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.*;107(25):11537–11542. doi:10.1073/pnas.1001261107.

54. Dai, Z., Zhang, J., Wu, Q., Chen, J., Liu, J., Wang, L., et al. (2019) The role of microbiota in the development of colorectal cancer. *Int J Cancer.*;145(8):2032–2041. doi:10.1002/ijc.32017.

55. Dao, M. C., Everard, A., Aron-Wisnewsky, J., Sokolovska, N., Prifti, E., Verger, E. O., et al. (2016) Akkermansia muciniphila and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut.*;65(3):426–436. doi:10.1136/gutjnl-2014-308778.

56. Davenport, M., Poles, J., Leung, J. M., et al. (2014) Metabolic alterations to the mucosal microbiota in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.*;20(4):723–731. doi:10.1097/MIB.0000000000000011.

57. De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., et al. (2010) Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A.*;107(33):14691–14696. doi:10.1073/pnas.1005963107.

58. DeGruttola, A. K., Low, D., Mizoguchi, A., Mizoguchi, E. (2016) Current understanding of dysbiosis in disease in human and animal models. *Inflamm Bowel Dis.*;22(5):1137–1150. doi:10.1097/MIB.0000000000000750.

59. Deng, D., Zhao, L., Song, H., Wang, H., Cao, H., Cui, H., Zhou, Y., Cui, R. (2025) Microbiome analysis of gut microbiota in patients with colorectal polyps and healthy individuals. *Sci Rep.*;15:7126. doi:10.1038/s41598-025-14680-6.

60. Di Vincenzo, F., Del Gaudio, A., Petito, V., et al. (2024) Gut microbiota, intestinal permeability, and systemic inflammation: a narrative review. *Intern Emerg Med.*;19(2):275–293. doi:10.1007/s11739-023-03374-w.

61. Donohoe, D. R., Collins, L. B., Wali, A., Bigler, R., Sun, W., Bultman, S. J. (2012) The Warburg effect dictates the mechanism of butyrate-mediated histone acetylation and cell proliferation. *Mol Cell.*;48(4):612–626. doi:10.1016/j.molcel.2012.08.033.

62. Duan, Y., Young, R., Schnabl, B. (2022) Bacteriophages and their potential for treatment of gastrointestinal diseases. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.*;19(2):135–144. doi:10.1038/s41575-021-00536-z.

63. Duvallet, C., Gibbons, S. M., Gurry, T., Irizarry, R. A., Alm, E. J. (2017) Meta-analysis of gut microbiome studies identifies disease-specific and shared responses. *Nat Commun.*;8:1784. doi:10.1038/s41467-017-01973-8.

64. Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., et al. (2005) Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science.*;308(5728):1635–1638. doi:10.1126/science.1110591.

65. Elvas, L., Brito, D., Areia, M., Carvalho, R., Alves, S., Saraiva, S., et al. (2016) Impact of personalised patient education on bowel preparation for colonoscopy: prospective randomised controlled trial. *GE Port J Gastroenterol.*;24(1):22–30. doi:10.1159/000450594.

66. Enestvedt, B. K., Tofani, C., Laine, L. A., Tierney, A., Fennerty, M. B. (2012) 4-Liter split-dose polyethylene glycol is superior to other bowel preparations, based on systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.*;10(11):1225–1231. doi:10.1016/j.cgh.2012.08.029.

67. Eurostat. (2023) Latvia: Country Health Profile 2023. Brussels: European Commission. Pieejams: https://health.ec.europa.eu/system/files/2023-12/2023_chp_lv_english.pdf. Skatīts: 29.04.2025.

68. Fasano, A. (2020) All disease begins in the (leaky) gut: role of zonulin-mediated gut permeability in the pathogenesis of some chronic inflammatory diseases. *F1000Res.*;9:F1000 Faculty Rev-69. doi:10.12688/f1000research.20510.1.

69. Fearon, E. R., Vogelstein, B. (1990) A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell.*;61(5): 759–767. doi:10.1016/0092-8674(90)90186-I.

70. Flint, H. J., Scott, K. P., Duncan, S. H., et al. (2012) Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut. *Gut Microbes.*;3(4):289–306. doi:10.4161/gmic.19897.

71. Franzosa, E. A., et al. (2019) Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease. *Nat Microbiol.*;4:293–305. doi:10.1038/s41564-018-0306-4.

72. Franzosa, E. A., McIver, L. J., Rahnavard, G., Thompson, L. R., Schirmer, M., Weingart, G., et al. (2018) Species-level functional profiling of metagenomes and metatranscriptomes. *Nat Methods.*;15(11):962–968. doi:10.1038/s41592-018-0176-y.

73. Franzosa, E. A., Morgan, X. C., Segata, N., Waldron, L., Reyes, J., Earl, A. M., et al. (2014) Relating the metatranscriptome and metagenome of the human gut. *Proc Natl Acad Sci U S A.*;111(22):E2329–E2338. doi:10.1073/pnas.1319284111.

74. Franzosa, E. A., Sirota-Madi, A., Avila-Pacheco, N., Fornelos, N., Haiser, H. J., Reinker, S., et al. (2019) Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease. *Nat Microbiol.*;4(2):293–305. doi:10.1038/s41564-018-0306-4.

75. Fu, J., Li, G., Li, X., Song, S., Cheng, L., Rui, B., et al. (2024) Gut commensal Alistipes as a potential pathogenic factor in colorectal cancer. *Discov Oncol.*;15(1):473. doi:10.1007/s12672-024-01393-3.

76. Furusawa, Y., Obata, Y., Fukuda, S., Endo, T. A., Nakato, G., Takahashi, D., et al. (2013) Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature.*;504(7480):446–450. doi:10.1038/nature12721. Erratum in: *Nature.* 2014;506(7487):254.

77. Furusawa, Y., Obata, Y., Fukuda, S., et al. (2013) Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature.*;504(7480):446–450. doi:10.1038/nature 12721.

78. Gacesa, R., Kurilshikov, A., Vich Vila, A., et al. (2022) Environmental factors shaping the gut microbiome in a Dutch population. *Nature.*;604(7907):732–739. doi:10.1038/s41586-022-04567-7.

79. Gagnière, J., Raisch, J., Veziant, J., Barnich, N., Bonnet, R., Buc, E., et al. (2016) Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. *World J Gastroenterol.*;22(2):501–518. doi:10.3748/wjg.v22. i2.501.

80. Ghosh, S., Whitley, C. S., Haribabu, B., Jala, V. R. (2021) Regulation of intestinal barrier function by microbial metabolites. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.*;11(5):1463–1482. doi:10.1016/j.jcmgh. 2021.02.007.

81. Gloor, G. B., Macklaim, J. M., Pawlowsky-Glahn, V., Egozcue, J. J. (2017) Microbiome datasets are compositional: and this is not optional. *Front Microbiol.*;8:2224. doi:10.3389/fmicb. 2017.02224.

82. Gomez-Arango, L. F., Barrett, H. L., Wilkinson, S. A., Callaway, L. K., McIntyre, H. D., Morrison, M., et al. (2018) Low dietary fiber intake increases Collinsella abundance in the gut microbiota of overweight and obese pregnant women. *Gut Microbes.*;9(3):189–201. doi:10.1080/1949097 6.2017.1406584.

83. Goodrich, J. K., Waters, J. L., Poole, A. C., Sutter, J. L., Koren, O., Blekhman, R., et al. (2014) Human genetics shape the gut microbiome. *Cell.*;159(4):789–799. doi:10.1016/j.cell.2014.09.053.

84. Gopalakrishnan, V., Helmink, B. A., Spencer, C. N., Reuben, A., Wargo, J. A. (2018) The influence of the gut microbiome on cancer, immunity, and cancer immunotherapy. *Cancer Cell.*;33(4): 570–580. doi:10.1016/j.ccell.2018.03.015.

85. Graf, D., Di Cagno, R., Fåk, F., Flint, H. J., Nyman, M., Saarela, M., et al. (2015) Contribution of diet to the composition of the human gut microbiota. *Microb Ecol Health Dis.*;26:26164. doi:10.3402/mehd.v26.26164.

86. Grivennikov, S. I., Greten, F. R., Karin, M. (2010) Immunity, inflammation, and cancer. *Cell.*;140(6):883–899. doi:10.1016/j.cell.2010.01.025.

87. Guo, M., Miao, M., Wang, Y., Du, Z., Jin, Z., Jiang, J., et al. (2020) Developmental differences in the intestinal microbiota of Chinese 1-year-old infants and 4-year-old children. *Sci Rep.*;10:19470. doi:10.1038/s41598-020-76591-4.

88. Gupta, S., Coronado, G. D., Argenbright, K., et al. (2020) Mailed fecal immunochemical test outreach for colorectal cancer screening: summary of a Centers for Disease Control and Prevention–sponsored summit. *CA Cancer J Clin.*;70(4):283–298. doi:10.3322/caac.21615.

89. Gur, C., Ibrahim, Y., Isaacson, B., et al. (2015) Binding of the Fap2 protein of Fusobacterium nucleatum to human inhibitory receptor TIGIT protects tumors from immune cell attack. *Immunity.*;42(2):344–355. doi:10.1016/j.immuni.2015.01.010.

90. Hale, V. L., Chen, J., Johnson, S., Harrington, S. C., Yab, T. C., Smyrk, T. C., et al. (2016) Shifts in the fecal microbiota associated with adenomatous polyps. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*;26(1):85–94. doi:10.1158/1055-9965.EPI-16-0337.

91. Halfvarson, J., Brislawn, C. J., Lamendella, R., et al. (2017) Dynamics of the human gut microbiome in inflammatory bowel disease. *Nat Microbiol.*;2:17004. doi:10.1038/nmicrobiol. 2017.4.

92. Hashimoto, T., Yamashita, S., Yoshida, H., et al. (2017) WNT pathway gene mutations are associated with the presence of dysplasia in colorectal sessile serrated adenoma/polyps. *Am J Surg Pathol.*;41(9):1188–1197. doi:10.1097/PAS.0000000000000877.

93. Hewett, D. G., Kaltenbach, T., Sano, Y., Tanaka, S., Saunders, B. P., Ponchon, T., Soetikno, R., Rex, D. K. (2012) Validation of a simple classification system for endoscopic diagnosis of small colorectal polyps using narrow-band imaging. *Gastroenterology.*;143(3):599–607.e1. doi:10.1053/j.gastro.2012.05.006.

94. Holmes, E., Li, J. V., Athanasiou, T., Ashrafian, H., Nicholson, J. K. (2011) Understanding the role of gut microbiome-host metabolic signal disruption in health and disease. *Trends Microbiol.*;19(7):349–359. doi:10.1016/j.tim.2011.05.006.

95. Honda, K., Littman, D. R. (2016) The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease. *Nature.*;535(7610):75–84. doi:10.1038/nature18848.

96. Hooper, L. V., Littman, D. R., Macpherson, A. J. (2012) Interactions between the microbiota and the immune system. *Science.*;336(6086):1268–1273. doi:10.1126/science.1223490.

97. Hou, K., Wu, Z. X., Chen, X. Y., et al. (2022) Microbiota in health and diseases. *Signal Transduct Target Ther.*;7:135. doi:10.1038/s41392-022-00974-4.

98. Hu, M., Caldarelli, G., Gili, T. (2023) Inflammatory bowel disease biomarkers revealed by the human gut microbiome network. *Sci Rep.*;13:19428. doi:10.1038/s41598-023-46184-y.

99. Ionica, E., Gaina, G., Tica, M., Chifiriuc, M. C., Gradisteanu-Pircalabioru, G. (2022) Contribution of epithelial and gut microbiome inflammatory biomarkers to the improvement of colorectal cancer patients' stratification. *Front Oncol.*;11:811486. doi:10.3389/fonc.2021.811486.

100. Ivleva, E. A., Grivennikov, S. I. (2022) Microbiota-driven mechanisms at different stages of cancer development. *Neoplasia.*;32:100829. doi:10.1016/j.neo.2022.100829.

101. Jain, D., Momeni, M., Krishnaiah, M., Anand, S., Singhal, S. (2015) Importance of reporting segmental bowel preparation scores during colonoscopy in clinical practice. *World J Gastroenterol.*;21(13):3994–3999. doi:10.3748/wjg.v21.i13.3994.

102. Jernberg, C., Löfmark, S., Edlund, C., Jansson, J. K. (2010) Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology (Reading).*;156(Pt 11):3216–3223. doi:10.1099/mic.0.040618-0.

103. Jess, T., Rungoe, C., Peyrin-Biroulet, L. (2012) Risk of colorectal cancer in patients with ulcerative colitis: a meta-analysis of population-based cohort studies. *Clin Gastroenterol Hepatol.*;10(6): 639–645. doi:10.1016/j.cgh.2012.01.010.

104. Johansson, M. E., Phillipson, M., Petersson, J., et al. (2008) The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A.*;105(39):15064–15069. doi:10.1073/pnas.0803124105.

105. Johnson, J. S., Spakowicz, D. J., Hong, B. Y., Petersen, L. M., Demmitt, B. A., le Hall, R. A., et al. (2019) Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nat Commun.*;10:5029. doi:10.1038/s41467-019-13036-1.

106. Kamada, N., Chen, G. Y., Inohara, N., Núñez, G. (2013) Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. *Nat Immunol.*;14(7):685–690. doi:10.1038/ni.2608.

107. Kaminski, M. F., Regula, J., Kraszewska, E., et al. (2010) Quality indicators for colonoscopy and the risk of interval cancer. *N Engl J Med.*;362(19):1795–1803. doi:10.1056/NEJMoa0907667.

108. Kaminski, M. F., Thomas-Gibson, S., Bugajski, M., et al. (2017) Performance measures for lower gastrointestinal endoscopy: a European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) quality improvement initiative. *Endoscopy.*;49(4):378–397. doi:10.1055/s-0043-103411.

109. Kang, Y., Pan, W., Cai, Y. (2017) Gut microbiota and colorectal cancer: insights into pathogenesis for novel therapeutic strategies. *Z Gastroenterol.*;55(9):872–880. doi:10.1055/s-0043-116387.

110. Kim, N. H., Jung, Y. S., Lee, M. Y., Park, J. H., Park, D. I., Sohn, C. I. (2019) Risk of developing metachronous advanced colorectal neoplasia after polypectomy in patients with multiple diminutive or small adenomas. *Am J Gastroenterol.*;114(10):1657–1664. doi:10.14309/ajg.0000000000000296.

111. Koliarakis, I., Psaroulaki, A., Nikolouzakis, T. K., Apostolopoulos, K., Alegakis, A. K., Sgantzos, M., et al. (2018) Intestinal microbiota and colorectal cancer: a new aspect of research. *J BUON.*;23(5):1216–1234.

112. Kostic, A. D., Chun, E., Robertson, L., Glickman, J. N., Gallini, C. A., Michaud, M., et al. (2013) Fusobacterium nucleatum potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment. *Cell Host Microbe.*;14(2):207–215. doi:10.1016/j.chom.2013.07.007.

113. Labus, J. S., Hollister, E. B., Jacobs, J., et al. (2017) Differences in gut microbial composition correlate with regional brain volumes in irritable bowel syndrome. *Microbiome.*;5:49. doi:10.1186/s40168-017-0260-z.

114. Lagier, J. C., Armougom, F., Million, M., et al. (2012) Microbial culturomics: paradigm shift in the human gut microbiome study. *Clin Microbiol Infect.*;18(12):1185–1193. doi:10.1111/1469-0691.12023.

115. Lai, E. J., Calderwood, A. H., Doros, G., Fix, O. K., Jacobson, B. C. (2009) The Boston bowel preparation scale: a valid and reliable instrument for colonoscopy-oriented research. *Gastrointest Endosc.*;69(3 Pt 2):620–625. doi:10.1016/j.gie.2008.05.057.

116. Langmead, B., Salzberg, S. L. (2012) Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nat Methods.*;9(4):357–359. doi:10.1038/nmeth.1923.

117. Larsen, J. M. (2017) The immune response to Prevotella bacteria in chronic inflammatory disease. *Immunology.*;151(4):363–374. doi:10.1111/imm.12760.

118. Lee, L., Wong, S. H., Chin, S., Singh, V., Ab Mutalib, N. (2021) Editorial: Human microbiome: symbiosis to pathogenesis. *Front Microbiol.*;12:605783. doi:10.3389/fmicb.2021.605783.

119. Leffler, D. A., Lamont, J. T. (2015) Clostridium difficile infection. *N Engl J Med.*;372(16):1539–1548. doi:10.1056/NEJMra1403772.

120. Leggett, B., Whitehall, V. (2010) Role of the serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology.*;138(6):2088–2100. doi:10.1053/j.gastro.2009.12.066.

121. Leslie, A., Carey, F. A., Pratt, N. R., Steele, R. J. (2002) The colorectal adenoma–carcinoma sequence. *Br J Surg.*;89(7):845–860. doi:10.1046/j.1365-2168.2002.02120.x.

122. Levin, B., Lieberman, D. A., McFarland, B., Andrews, K. S., Brooks, D., Bond, J., Dash, C., Giardiello, F. M., Glick, S., Johnson, D., Johnson, C. D., Levin, T. R., Pickhardt, P. J., Rex, D. K., Smith, R. A., Thorson, A., Winawer, S. J. (2008) Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. *Gastroenterology.*;134(5):1570–1595. doi:10.1053/j.gastro.2008.02.002.

123. Ley, R. E., Bäckhed, F., Turnbaugh, P., Lozupone, C. A., Knight, R. D., Gordon, J. I. (2005) Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci U S A.*;102(31):11070–11075. doi:10.1073/pnas.0504978102.

124. Lichtenstein, P., Holm, N. V., Verkasalo, P. K., Iliadou, A., Kaprio, J., Koskenvuo, M., et al. (2000) Environmental and heritable factors in the causation of cancer – analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med.*;343(2):78–85. doi:10.1056/NEJM200007133430201.

125. Lieberman, D. A., Weiss, D. G., Harford, W. V., Ahnen, D. J., Provenzale, D., Sontag, S. J., et al. (2007) Five-year colon surveillance after screening colonoscopy. *Gastroenterology.*;133(4): 1077–1085. doi:10.1053/j.gastro.2007.07.006.

126. Lilliefors, H. W. (1967) On the Kolmogorov-Smirnov test for normality with mean and variance unknown. *J Am Stat Assoc.*;62(318):399–402. doi:10.2307/2283970.

127. Lin, H., Yu, Y., Zhu, L., Lai, N., Zhang, L., Guo, Y., et al. (2023) Implications of hydrogen sulfide in colorectal cancer: mechanistic insights and diagnostic and therapeutic strategies. *Redox Biol.*;59:102601. doi:10.1016/j.redox.2023.102601.

128. Lindgreen, S., Adair, K. L., Gardner, P. P. (2016) An evaluation of the accuracy and speed of metagenome analysis tools. *Sci Rep.*;6:19233. doi:10.1038/srep19233.

129. Lindström, M. (2017) Commentary on Wang et al. (2017): differing patterns of short-term transitions of nondaily smokers for different indicators of socioeconomic status (SES). *Addiction.*;112(5):873–874. doi:10.1111/add.13758.

130. Liu, Y., Chen, H., Van Treuren, W., Hou, B. H., Higginbottom, S. K., Dodd, D. (2022) Clostridium sporogenes uses reductive Stickland metabolism in the gut to generate ATP and produce circulating metabolites. *Nat Microbiol.*;7(5):695–706. doi:10.1038/s41564-022-01109-9.

131. Lloyd-Price, J., Abu-Ali, G., Huttenhower, C. (2016) The healthy human microbiome. *Genome Med.*;8(1):51. doi:10.1186/s13073-016-0307-y.

132. Lo, C. H., Wu, D. C., Jao, S. W., et al. (2022) Enrichment of Prevotella intermedia in human colorectal cancer and its additive effects with Fusobacterium nucleatum on the malignant transformation of colorectal adenomas. *J Biomed Sci.*;29:88. doi:10.1186/s12929-022-00869-0.

133. Lopetuso, L. R., Scaldaferri, F., Petito, V., Gasbarrini, A. (2013) Commensal Clostridia: leading players in the maintenance of gut homeostasis. *Gut Pathog.*;5(1):23. doi:10.1186/1757-4749-5-23.

134. Louis, P., Flint, H. J. (2017) Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Environ Microbiol.*;19(1):29–41. doi:10.1111/1462-2920.13589.

135. Louis, P., Hold, G. L., Flint, H. J. (2014) The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. *Nat Rev Microbiol.*;12(10):661–672. doi:10.1038/nrmicro3344.

136. Louis, P., Hold, G. L., Flint, H. J. (2014) The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. *Nat Rev Microbiol.*;12(10):661–672. doi:10.1038/nrmicro3344.

137. Lozupone, C. A., Stombaugh, J. I., Gordon, J. I., Jansson, J. K., Knight, R. (2012) Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature.*;489(7415):220–230. doi:10.1038/nature11550.

138. Lu, J., Breitwieser, F. P., Thielen, P., Salzberg, S. L. (2017) Bracken: Estimating species abundance in metagenomics data. *PeerJ Comput Sci.*;3:e104. doi:10.7717/peerj-cs.104.

139. Lv, M., Zhang, J., Deng, J., Wang, Y., Li, Z., Li, L., et al. (2023) Analysis of the relationship between the gut microbiota enterotypes and colorectal adenoma. *Front Microbiol.*;14:1097892. doi:10.3389/fmicb.2023.1097892.

140. Lynch, S. V., Pedersen, O. (2016) The human intestinal microbiome in health and disease. *N Engl J Med.*;375(24):2369–2379. doi:10.1056/NEJMra1600266.

141. Macfarlane, G. T., Macfarlane, S. (2012) Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. *J AOAC Int.*;95(1):50–60. doi:10.5740/jaoacint.sge_macfarlane.

142. Maier, L., Goemans, C. V., Pruteanu, M., et al. (2020) Extensive impact of non-antibiotic drugs on human gut bacteria. *bioRxiv.* Preprint posted 2020 Jan 10. doi:10.1101/2020.01.09.893560.

143. Mallick, H., Rahnavard, A., McIver, L. J., Ma, S., Zhang, Y., Nguyen, L. H., et al. (2021) Multivariable association discovery in population-scale meta-omics studies. *PLoS Comput Biol.*;17(11):e1009442. doi:10.1371/journal.pcbi.1009442.

144. Markowitz, S. D., Bertagnolli, M. M. (2009) Molecular origins of cancer: molecular basis of colorectal cancer. *N Engl J Med.*;361(25):2449–2460. doi:10.1056/NEJMra0804588.

145. Martel, M., Barkun, A. N., Menard, C., Restellini, S., Kherad, O., Vanasse, A. (2015) Split-dose preparations are superior to day-before bowel cleansing regimens: a meta-analysis. *Gastroenterology.*;149(1):79–88. doi:10.1053/j.gastro.2015.04.004.

146. Martín, R., Rios-Covian, D., Huillet, E., Auger, S., Khazaal, S., Bermúdez-Humarán, L. G., et al. (2023) Faecalibacterium: a bacterial genus with promising human health applications. *FEMS Microbiol Rev.*;47(4):fuad039. doi:10.1093/femsre/fuad039.

147. MGI Tech Co., Ltd. (n.d.) DNBSEQ-G400RS High-throughput Sequencing Platform; MGIEasy Universal DNA Library Prep Kit. Available from: https://en.mgi-tech.com.

148. Miquel, S., Martín, R., Rossi, O., et al. (2013) Faecalibacterium prausnitzii and human intestinal health. *Curr Opin Microbiol.*;16(3):255–261. doi:10.1016/j.mib.2013.06.003.

149. Mizutani, T., Ishizaka, A., Koga, M., Tsutsumi, T., Yotsuyanagi, H. (2022) Role of microbiota in viral infections and pathological progression. *Viruses.*;14(5):950. doi:10.3390/v14050950.

150. Morgan, E., Arnold, M., Gini, A., Lorenzoni, V., Cabasag, C. J., Laversanne, M., et al. (2023) Global burden of colorectal cancer in 2020 and 2040: incidence and mortality estimates from GLOBOCAN. *Gut.*;72(2):338–344. doi:10.1136/gutjnl-2022-327736.

151. MP Biomedicals. (n.d.) FastDNA™ Spin Kit for Soil. Available from: https://www.mpbio.com.

152. Mukhopadhya, I., Hansen, R., El-Omar, E. M., Hold, G. L. (2012) IBD – what role do Proteobacteria play? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.*;9(4):219–230. doi:10.1038/nrgastro.2012.14.

153. Murphy, C. C., Sandler, R. S., Sanoff, H. K., Yang, Y. C., Lund, J. L., Baron, J. A. (2017) Decrease in incidence of colorectal cancer among individuals 50 years or older after recommendations for population-based screening. *Clin Gastroenterol Hepatol.*;15(6):903–909.e6. doi:10.1016/j.cgh.2016.08.037.

154. Nacionālais veselības dienests. Programmas rezultāti. Pieejams: https://www.vmnvd.gov.lv/lv/programmas-rezultati.

155. Nearing, J. T., Douglas, G. M., Comeau, A. M., Langille, M. G. I. (2022) Microbiome differential abundance methods produce different results across 38 datasets. *Nat Commun.*;13(1):342. doi:10.1038/s41467-022-28034-z.

156. Nguyen, D. L., Jamal, M. M., Nguyen, E. T., Puli, S. R., Bechtold, M. L. (2016) Low-residue versus clear liquid diet before colonoscopy: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Gastrointest Endosc.*;83(3):499–507.e1. doi:10.1016/j.gie.2015.09.045.

157. Nikolaev, S. I., Rimoldi, D., Iseli, C., et al. (2012) A single-nucleotide substitution mutator phenotype revealed by exome sequencing of human colon adenomas. *Cancer Res.*;72(23): 6279–6289. doi:10.1158/0008-5472.CAN-12-3869.

158. Nishihara, R., Wu, K., Lochhead, P., et al. (2013) Long-term colorectal cancer incidence and mortality after lower endoscopy. *N Engl J Med.*;369(12):1095–1105. doi:10.1056/NEJMoa1301969.

159. Nougayrède, J. P., Homburg, S., Taieb, F., Boury, M., Brzuszkiewicz, E., Gottschalk, G., et al. (2006) Escherichia coli induces DNA double-strand breaks in eukaryotic cells. *Science.*;313(5788):848–851. doi:10.1126/science.1127059.

160. O'Callaghan, A., van Sinderen, D. (2016) Bifidobacteria and their role as members of the human gut microbiota. *Front Microbiol.*;7:925. doi:10.3389/fmicb.2016.00925.

161. O'Hara, A. M., Shanahan, F. (2006) The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep.*;7(7):688–693. doi:10.1038/sj.embor.7400731.

162. O'Keefe, S. J., Li, J. V., Lahti, L., Ou, J., Carbonero, F., Mohammed, K., et al. (2015) Fat, fibre and cancer risk in African Americans and rural Africans. *Nat Commun.*;6:6342. doi:10.1038/ncomms7342.

163. Odze, R. D., Klimstra, D., Paradis, V., Rugge, M., Schirmacher, P., Washington, K. M., Carneiro, F., Cree, I. A.; WHO Classification of Tumours Editorial Board. (2020) The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology.*;76(2):182–188. doi:10.1111/his.13975.

164. OECD. (2023) EU Country Cancer Profile: Latvia 2023. *EU Country Cancer Profiles.* Paris: OECD Publishing. doi:10.1787/3b2c7642-en.

165. Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., et al. (2022) vegan: Community Ecology Package. R package version 2.6-2. Available from: https://CRAN.R-project.org/package=vegan.

166. Omata, F., Deshpande, G. A., Ohde, S., Mine, T., Fukui, T. (2013) The association between obesity and colorectal adenoma: systematic review and meta-analysis. *Scand J Gastroenterol.*;48(2): 136–146. doi:10.3109/00365521.2012.737364.

167. Pandey, H., Tang, D. W. T., Wong, S. H., Lal, D. (2023) Gut microbiota in colorectal cancer: biological role and therapeutic opportunities. *Cancers (Basel).*;15(3):866. doi:10.3390/cancers 15030866.

168. Parks, D. H., Chuvochina, M., Chaumeil, P. A., et al. (2020) A complete domain-to-species taxonomy for Bacteria and Archaea. *Nat Biotechnol.*;38:1079–1086. doi:10.1038/s41587-020-0501-8.

169. Participants in the Paris Workshop. (2003) The Paris endoscopic classification of superficial neoplastic lesions: esophagus, stomach, and colon. *Gastrointest Endosc.*;58(6 Suppl):S3–S43. doi:10.1016/S0016-5107(03)02159-X.

170. Pasolli, E., Asnicar, F., Manara, S., Zolfo, M., Karcher, N., Armanini, F., et al. (2019) Extensive unexplored human microbiome diversity revealed by over 150,000 genomes from metagenomes spanning age, geography, and lifestyle. *Cell.*;176(3):649–662.e20. doi:10.1016/j.cell.2019.01.001.

171. Pedregosa, F., Varoquaux, G., Gramfort, A., et al. (2011) Scikit-learn: Machine learning in Python. *J Mach Learn Res.*;12:2825–2830.

172. Phelps, R. A., Chidester, S., Dehghanizadeh, S., et al. (2009) A two-step model for colon adenoma initiation and progression caused by APC loss. *Cell.*;137(4):623–634. doi:10.1016/j.cell. 2009.02.037.

173. Pimentel, M., Saad, R. J., Long, M. D., Rao, S. S. (2020) ACG Clinical Guideline: Small Intestinal Bacterial Overgrowth. *Am J Gastroenterol.*;115(2):165–178. doi:10.14309/ajg.000000000000 0501.

174. Pleguezuelos-Manzano, C., Puschhof, J., Rosendahl Huber, A., et al. (2020) Mutational signature in colorectal cancer caused by genotoxic pks+ E. coli. *Nature.*;580:269–273. doi:10.1038/s41586-020-2080-8.

175. Qin, J., Li, R., Raes, J., et al. (2010) A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature.*;464(7285):59–65. doi:10.1038/nature08821.

176. Quail, D. F., Joyce, J. A. (2013) Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nat Med.*;19(11):1423–1437. doi:10.1038/nm.3394.

177. R Core Team. (2023) R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Available from: https://www.R-project.org/.

178. Rad, R., Cadiñanos, J., Rad, L., Varela, I., Strong, A., Kriegl, L., Constantino-Casas, F., Eser, S., Hieber, M., Seidler, B., Price, S., Fraga, M. F., Calvanese, V., Hoffman, G., Ponstingl, H., Schneider, G., Yusa, K., Grove, C., Schmid, R. M., Wang, W., Vassiliou, G., Kirchner, T., McDermott, U., Liu, P., Saur, D., Bradley, A. (2013) A genetic progression model of Braf(V600E)-induced intestinal tumorigenesis reveals targets for therapeutic intervention. *Cancer Cell.*;24(1):15–29.

179. Rex, D. K., Schoenfeld, P. S., Cohen, J., et al. (2015) Quality indicators for colonoscopy. *Gastrointest Endosc.*;81(1):31–53. doi:10.1016/j.gie.2014.07.058.

180. Ridlon, J. M., Kang, D. J., Hylemon, P. B., Bajaj, J. S. (2014) Bile acids and the gut microbiome. *Curr Opin Gastroenterol.*;30(3):332–338. doi:10.1097/MOG.0000000000000057.

181. Rinninella, E., Tohumcu, E., Raoul, P., Fiorani, M., Cintoni, M., Mele, M. C., et al. (2023) The role of diet in shaping human gut microbiota. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.*;62–63:101828. doi:10.1016/j.bpg.2023.101828.

182. Ríos-Covián, D., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., Gueimonde, M., de Los Reyes-Gavilán, C. G., Salazar, N. (2016) Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. *Front Microbiol.*;7:185. doi:10.3389/fmicb.2016.00185.

183. Ritchie, M. E., Phipson, B., Wu, D., et al. (2015) limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Res.*;43(7):e47. doi:10.1093/nar/gkv007.

184. Rivas-Domínguez, A., Pastor, N., Martínez-López, L., Colón-Pérez, J., Bermúdez, B., Orta, M. L. (2021) The role of DNA damage response in dysbiosis-induced colorectal cancer. *Cells.*;10(8):1934. doi:10.3390/cells10081934.

185. Rivière, A., Selak, M., Lantin, D., Leroy, F., De Vuyst, L. (2016) Bifidobacteria and butyrate-producing colon bacteria: importance and strategies for their stimulation in the human gut. *Front Microbiol.*;7:979. doi:10.3389/fmicb.2016.00979.

186. Rothschild, D., Weissbrod, O., Barkan, E., et al. (2018) Environment dominates over host genetics in shaping human gut microbiota. *Nature.*;555(7695):210–215. doi:10.1038/nature25973.

187. Round, J. L., Mazmanian, S. K. (2009) The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol.*;9(5):313–323. doi:10.1038/nri2515.

188. Rubinstein, M. R., Wang, X., Liu, W., Hao, Y., Cai, G., Han, Y. W. (2013) Fusobacterium nucleatum promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/β-catenin signaling via its FadA adhesin. *Cell Host Microbe.*;14(2):195–206.

189. Rumgay, H., Shield, K., Charvat, H., Ferrari, P., Sornpaisarn, B., Obot, I., et al. (2021) Global burden of cancer in 2020 attributable to alcohol consumption: a population-based study. *Lancet Oncol.*;22(8):1071–1080. doi:10.1016/S1470-2045(21)00279-5.

190. Rup, L. (2012) The Human Microbiome Project. *Indian J Microbiol.*;52:315. doi:10.1007/s12088-012-0304-9.

191. Sakamoto, N., Feng, Y., Stolfi, C., et al. (2017) BRAFV600E cooperates with CDX2 inactivation to promote serrated colorectal tumorigenesis. *eLife.*;6:e20331. doi:10.7554/eLife.20331.

192. Salminen, S., Collado, M. C., Endo, A., et al. (2021) The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.*;18(9):649–667. doi:10.1038/s41575-021-00440-6.

193. Salvi, P. S., Cowles, R. A. (2021) Butyrate and the intestinal epithelium: modulation of proliferation and inflammation in homeostasis and disease. *Cells.*;10(7):1775. doi:10.3390/cells10071775.

194. Schulthess, J., Pandey, S., Capitani, M., Rue-Albrecht, K. C., Arnold, I., Franchini, F., et al. (2019) The short chain fatty acid butyrate imprints an antimicrobial program in macrophages. *Immunity.*;50(2):432–445.e7. doi:10.1016/j.immuni.2018.12.018.

195. Schwabe, R. F., Jobin, C. (2013) The microbiome and cancer. *Nat Rev Cancer.*;13(11):800–812. doi:10.1038/nrc3610.

196. Scikit-bio development team. (2019) scikit-bio: A Bioinformatics Library for Data Scientists, Students, and Developers. Available from: https://scikit-bio.org.

197. Sears, C. L. (2009) Enterotoxigenic Bacteroides fragilis: a rogue among symbiotes. *Clin Microbiol Rev.*;22(2):349–369. doi:10.1128/CMR.00053-08.

198. Segain, J. P., Raingeard de la Blétière, D., Bourreille, A., Leray, V., Gervois, N., Rosales, C., et al. (2000) Butyrate inhibits inflammatory responses through NFkappaB inhibition: implications for Crohn's disease. *Gut.*;47(3):397–403. doi:10.1136/gut.47.3.397.

199. Sender, R., Fuchs, S., Milo, R. (2016) Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol.*;14(8):e1002533. doi:10.1371/journal.pbio.1002533.

200. Shakhpazyan, N. K., Mikhaleva, L. M., Bedzhanyan, A. L., Gioeva, Z. V., Mikhalev, A. I., Midiber, K. Y., et al. (2024) Exploring the role of the gut microbiota in modulating colorectal cancer immunity. *Cells.*;13(7):1437. doi:10.3390/cells13171437.

201. Shang, F., Jiang, X., Wang, H., Chen, S., Wang, X., Liu, Y., et al. (2020) The inhibitory effects of probiotics on colon cancer cells: in vitro and in vivo studies. *J Gastrointest Oncol.*;11(6): 1224–1232. doi:10.21037/jgo-20-573.

202. Shin, N. R., Whon, T. W., Bae, J. W. (2015) Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. *Trends Biotechnol.*;33(9):496–503. doi:10.1016/j.tibtech.2015.06.011.

203. Siegel, R. L., Miller, K. D., Goding Sauer, A., Fedewa, S. A., Butterly, L. F., Anderson, J. C., et al. (2020) Colorectal cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin.*;70(3):145–164. doi:10.3322/caac.21601.

204. Slimību profilakses un kontroles centrs (SPKC). (2021) Veselības statistikas dati. Pieejams: https://www.spkc.gov.lv/.

205. Slimību profilakses un kontroles centrs (SPKC). (2023) Latvijas iedzīvotāju nāves cēloņu datubāzes dati.

206. Slimību profilakses un kontroles centrs (SPKC). Latvijas iedzīvotāju veselību ietekmējošo paradumu pētījums.

207. Slimību profilakses un kontroles centrs. (2023) Slimību profilakses un kontroles centra darbības stratēģija 2023.–2027. gadam: apstiprināts ar Slimību profilakses un kontroles centra 2023. gada 29. augusta rīkojumu Nr. 1 1.1/2023/69. Rīga: Slimību profilakses un kontroles centrs.

208. Smajdor, J., Jedlińska, K., Porada, R., et al. (2023) The impact of gut bacteria producing long chain homologs of vitamin K_2 on colorectal carcinogenesis. *Cancer Cell Int.*;23(1):268. doi:10.1186/s12935-023-03114-2.

209. Smith, P. M., Howitt, M. R., Panikov, N., et al. (2013) The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science.*;341(6145):569–573. doi:10.1126/science.1241165.

210. Sommer, M. O. A., Dantas, G., Church, G. M. (2009) Functional characterization of the antibiotic resistance reservoir in the human microflora. *Science.*;325(5944):1128–1131. doi:10.1126/science.1176950.

211. Song, M., Chan, A. T., Sun, J. (2020) Influence of the gut microbiome, diet, and environment on risk of colorectal cancer. *Gastroenterology.*;158(2):322–340. doi:10.1053/j.gastro.2019.06.048.

212. Song, M., Nishihara, R., Wu, K., Qian, Z. R., Kim, S. A., Sukawa, Y., et al. (2015) Marine ω-3 polyunsaturated fatty acids and risk of colorectal cancer according to microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst.*;107(4):djv007. doi:10.1093/jnci/djv007.

213. Sonnenburg, E. D., Sonnenburg, J. L. (2019) The ancestral and industrialized gut microbiota and implications for human health. *Nat Rev Microbiol.*;17(6):383–390. doi:10.1038/s41579-019-0191-8.

214. Sonnenburg, J. L., Bäckhed, F. (2016) Diet–microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature.*;535(7610):56–64. doi:10.1038/nature18846.

215. Sun, J., Fang, D., Wang, Z., Liu, Y. (2023) Sleep deprivation and gut microbiota dysbiosis: current understandings and implications. *Int J Mol Sci.*;24(11):9603. doi:10.3390/ijms24119603.

216. Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., et al. (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.*;71(3):209–249. doi:10.3322/caac.21660.

217. Sze, M. A., Schloss, P. D. (2016) Looking for a signal in the noise: revisiting obesity and the microbiome. *mBio.*;7(4):e01018-16. doi:10.1128/mBio.01018-16.

218. Takiishi, T., Fenero, C. I. M., Câmara, N. O. S. (2017) Intestinal barrier and gut microbiota: shaping our immune responses throughout life. *Tissue Barriers.*;5(4):e1373208. doi:10.1080/21688370. 2017.1373208.

219. Terry, S. A., Badhan, A., Wang, Y., Chaves, A. V., McAllister, T. A. (2019) Fibre digestion by rumen microbiota: a review of recent metagenomic and metatranscriptomic studies. *Can J Anim Sci.*;99(4):678–692. doi:10.1139/cjas-2019-0024.

220. Thermo Fisher Scientific. (n.d.) Qubit dsDNA HS Assay Kits. Available from: https://www.thermofisher.com.

221. Thomas, A. M., Manghi, P., Asnicar, F., Pasolli, E., Armanini, F., Zolfo, M., et al. (2019) Metagenomic analysis of colorectal cancer datasets identifies cross-cohort microbial diagnostic signatures and a link with choline degradation. *Nat Med.*;25(4):667–678. doi:10.1038/s41591-019-0405-7.

222. Tilg, H., Adolph, T. E., Gerner, R. R., Moschen, A. R. (2018) The intestinal microbiota in colorectal cancer. *Cancer Cell.*;33(6):954–964. doi:10.1016/j.ccell.2018.03.004.

223. Tilg, H., Moschen, A. R. (2014) Microbiota and diabetes: an evolving relationship. *Gut.*;63(9):1513–1521. doi:10.1136/gutjnl-2014-306928.

224. Tong, K., Pellón-Cárdenas, O., Sirihorachai, V. R., et al. (2017) Degree of tissue differentiation dictates susceptibility to BRAF-driven colorectal cancer. *Cell Rep.*;21(13):3833–3845. doi:10.1016/j.celrep.2017.11.104.

225. Toprak, N. U., Yagci, A., Gulluoglu, B. M., Akin, M. L., Demirkalem, P., Celenk, T., et al. (2006) A possible role of Bacteroides fragilis enterotoxin in the aetiology of colorectal cancer. *Clin Microbiol Infect.*;12(8):782–786. doi:10.1111/j.1469-0691.2006.01494.x.

226. Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Hamady, M., Fraser-Liggett, C. M., Knight, R., Gordon, J. I. (2007) The human microbiome project. *Nature.*;449(7164):804–810. doi:10.1038/nature06244.

227. Turroni, F., Ventura, M., Buttó, L. F., et al. (2014) Molecular dialogue between the human gut microbiota and the host: a Lactobacillus and Bifidobacterium perspective. *Cell Mol Life Sci.*;71(2):183–203. doi:10.1007/s00018-013-1318-0.

228. Ursell, L. K., Metcalf, J. L., Parfrey, L. W., Knight, R. (2012) Defining the human microbiome. *Nutr Rev.*;70 Suppl 1:S38–S44. doi:10.1111/j.1753-4887.2012.00493.x.

229. Vanags, A., Strumfa, I., Gardovskis, A., Borošenko, V., Aboliņš, A., Teibe, U., Trofimovičs, G., Miklaševičs, E., Gardovskis, J. (2010) Population screening for hereditary and familial cancer syndromes in Valka district of Latvia. *Hered Cancer Clin Pract.*;8(1):8. doi:10.1186/1897-4287-8-8.

230. Vangay, P., Johnson, A. J., Ward, T. L., Al-Ghalith, G. A., Shields-Cutler, R. R., Hillmann, B. M., et al. (2018) US immigration westernizes the human gut microbiome. *Cell.*;175(4):962–972.e10. doi:10.1016/j.cell.2018.10.029.

231. Veselības ministrija. (2025) Veselības aprūpes pakalpojumu onkoloģijas jomā uzlabošanas plāns 2025.–2027. gadam.

232. Vilkoite, I., Mezmale, L., Tolmanis, I., Lejnieks, A., et al. (2022) Comparison of NICE classification for optical diagnosis of colorectal polyps and morphology of removed lesions depending on localisation in colon. *Proc Latv Acad Sci Sect B Nat Exact Appl Sci.*;76(5–6): 650–656. doi:10.2478/prolas-2022-0100.

233. Vilkoite, I., Tolmanis, I., Abu Meri, H., Polaka, I., Mezmale, L., Anarkulova, L., Leja, M., Lejnieks, A. (2023) The role of an artificial intelligence method of improving the diagnosis of neoplasms by colonoscopy. *Diagnostics (Basel).*;13(4):701. doi:10.3390/diagnostics13040701.

234. Vilkoite, I., Tolmanis, I., Abu Meri, H., Polaka, I., Mezmale, L., Lejnieks, A. (2023) Age-Based Comparative Analysis of Colorectal Cancer Colonoscopy Screening Findings. *Medicina (Kaunas).*;59(11):2017. doi:10.3390/medicina59112017.

235. Vilkoite, I., Tolmanis, I., Abu Meri, H., Polaka, I., Mezmale, L., Lejnieks, A. (2023) Age-based comparative analysis of colorectal cancer colonoscopy screening findings. *Medicina (Kaunas).*;59(11):2017. doi:10.3390/medicina59112017.

236. Vuik, F. E., Nieuwenburg, S. A., Bardou, M., Lansdorp-Vogelaar, I., Dinis-Ribeiro, M., Bento, M. J., et al. (2019) Increasing incidence of colorectal cancer in young adults in Europe over the last 25 years. *Gut.*;68(10):1820–1826. doi:10.1136/gutjnl-2018-317592.

237. Walther, A., Johnstone, E., Swanton, C., et al. (2009) Genetic prognostic and predictive markers in colorectal cancer. *Nat Rev Cancer.*;9(7):489–499. doi:10.1038/nrc2645.

238. Wang, C. C., Sung, W. W., Yan, P. Y., Ko, P. Y., Tsai, M. C. (2021) Favorable colorectal cancer mortality-to-incidence ratios in countries with high expenditures on health and development index: a study based on GLOBOCAN database. *Medicine (Baltimore).*;100(41):e27414. doi:10.1097/MD.0000000000027414.

239. Wang, J., Kurilshikov, A., Radjabzadeh, D., et al. (2018) Meta-analysis of human genome-microbiome association studies: the MiBioGen consortium initiative. *Microbiome.*;6: 101. doi:10.1186/s40168-018-0479-3.

240. Wang, Y., Li, H. (2022) Gut microbiota modulation: a tool for the management of colorectal cancer. *J Transl Med.*;20(1):178. doi:10.1186/s12967-022-03378-8.

241. Wegierska, A. E., Charitos, I. A., Topi, S., Potenza, M. A., Montagnani, M., Santacroce, L. (2022) The connection between physical exercise and gut microbiota: implications for competitive sports athletes. *Sports Med.*;52(10):2355–2369. doi:10.1007/s40279-022-01696-x.

242. Weiss, S., Xu, Z. Z., Peddada, S., Amir, A., Bittinger, K., Gonzalez, A., et al. (2017) Normalization and microbial differential abundance strategies depend upon data characteristics. *Microbiome.*;5(1):27. doi:10.1186/s40168-017-0237-y.

243. Wexler, H. M. (2007) Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty. *Clin Microbiol Rev.*;20(4):593–621. doi:10.1128/CMR.00008-07.

244. Wexner, S. D., Beck, D. E., Baron, T. H., Fanelli, R. D., Hyman, N., Shen, B., et al. (2006) A consensus document on bowel preparation before colonoscopy: prepared by a Task Force from the American Society of Colon and Rectal Surgeons (ASCRS), the American Society for Gastrointestinal Endoscopy (ASGE), and the Society of American Gastrointestinal and Endoscopic Surgeons (SAGES). *Surg Endosc.*;20(7):1161. doi:10.1007/s00464-006-3037-1.

245. Whipps, J. M., Lewis, K., Cooke, R. (1988) Mycoparasitism and plant disease control. In: Burge, M., editor. *Fungi in Biological Control Systems.* Manchester: Manchester University Press; p. 161–187.

246. Wolin, K. Y., Yan, Y., Colditz, G. A., Lee, I. M. (2009) Physical activity and colon cancer prevention: a meta-analysis. *Br J Cancer.*;100(4):611–616. doi:10.1038/sj.bjc.6604917.

247. Wood, D. E., Lu, J., Langmead, B. (2019) Improved metagenomic analysis with Kraken 2. *Genome Biol.*;20(1):257. doi:10.1186/s13059-019-1891-0.

248. Wrzosek, L., Miquel, S., Noordine, M. L., et al. (2013) Bacteroides thetaiotaomicron and Faecalibacterium prausnitzii influence the production of mucus glycans and the development of goblet cells in the colonic epithelium of a gnotobiotic model rodent. *BMC Biol.*;11:61. doi:10.1186/1741-7007-11-61.

249. Wu, L., Zeng, T., Deligios, M., et al. (2020) Age-related variation of bacterial and fungal communities in different body habitats across the young, elderly, and centenarians in Sardinia. *mSphere.*;5(1):e00558-19. doi:10.1128/mSphere.00558-19.

250. Wu, Z., Huang, Y., Zhang, R., et al. (2024) Sex differences in colorectal cancer: with a focus on sex hormone–gut microbiome axis. *Cell Commun Signal.*;22:167. doi:10.1186/s12964-024-01549-2.

251. Yang, Y., Weng, W., Peng, J., et al. (2017) Fusobacterium nucleatum increases proliferation of colorectal cancer cells and tumor development in mice by activating Toll-Like Receptor 4 signaling to Nuclear Factor-κB, and up-regulating expression of MicroRNA-21. *Gastroenterology.*; 152(4):851–866.e24. doi:10.1053/j.gastro.2016.11.018.

252. Yin, L. L., Qi, P. Q., Hu, Y. F., Fu, X. J., He, R. S., Wang, M. M., et al. (2024) Dysbiosis promotes recurrence of adenomatous polyps in the distal colorectum. *World J Gastrointest Oncol.*;16(8):3600–3623. doi:10.4251/wjgo.v16.i8.3600.

253. Yoon, K., Kim, N. (2021) Roles of sex hormones and gender in the gut microbiota. *J Neurogastroenterol Motil.*;27(3):314–325. doi:10.5056/jnm20208.

254. Yu, T., Guo, F., Yu, Y., et al. (2017) Fusobacterium nucleatum promotes chemoresistance to colorectal cancer by modulating autophagy. *Cell.*;170(3):548–563.e16. doi:10.1016/j.cell.2017.07.008.

255. Zelante, T., Iannitti, R. G., Cunha, C., De Luca, A., Giovannini, G., Pieraccini, G., et al. (2013) Tryptophan catabolites from microbiota engage aryl hydrocarbon receptor and balance mucosal reactivity via interleukin-22. *Immunity.*;39(2):372–385. doi:10.1016/j.immuni.2013.08.003.

256. Zelante, T., Iannitti, R. G., Cunha, C., et al. (2013) Tryptophan catabolites from microbiota engage aryl hydrocarbon receptor and balance mucosal reactivity via interleukin-22. *Immunity.*;39(2):372–385. doi:10.1016/j.immuni.2013.08.003.

257. Zeller, G., Tap, J., Voigt, A. Y., Sunagawa, S., Kultima, J. R., Costea, P. I., et al. (2014) Potential of fecal microbiota for early-stage detection of colorectal cancer. *Mol Syst Biol.*;10(11):766. doi:10.15252/msb.20145645.

258. Zhang, H., Wu, J., Ji, D., Liu, Y., Lu, S., Lin, Z., et al. (2022) Microbiome analysis reveals universal diagnostic biomarkers for colorectal cancer across populations and technologies. *Front Microbiol.*;13:1005201. doi:10.3389/fmicb.2022.1005201.

259. Zhao, H., Wu, L., Yan, G., Chen, Y., Zhou, M., Wu, Y., Li, Y. (2021) Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention. *Signal Transduct Target Ther.*;6(1):263. doi:10.1038/s41392-021-00658-5.

260. Zhernakova, A., Kurilshikov, A., Bonder, M. J., et al. (2016) Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. *Science.*;352(6285):565–569. doi:10.1126/science.aad3369.

261. Zhou, H., Shen, Z., Zhao, J., Zhou, Z., Xu, Y. (2018) Distribution characteristics and risk factors of colorectal adenomas. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi.*;21(6):678–684.

262. Zhu, Y., Zhang, D. F., Wu, H. L., Fu, P. Y., Feng, L., Zhuang, K., Geng, Z. H., Li, K. K., Zhang, X. H., Zhu, B. Q., Qin, W. Z., Lin, S. L., Zhang, Z., Chen, T. Y., Huang, Y., Xu, X. Y., Liu, J. Z., Wang, S., Zhang, W., Li, Q. L., Zhou, P. H. (2023) Improving bowel preparation for colonoscopy with a smartphone application driven by artificial intelligence. *NPJ Digit Med.*;6(1):41. doi:10.1038/s41746-023-00786-y.

263. Zymo Research. (n.d.) DNA/RNA Shield Fecal Collection Tube. Available from: https://zymoresearch.eu/products/dna-rna-shield-fecal-collection-tube.

Pateicības

Vislielākā pateicība maniem darba vadītājiem – profesoram Aivaram Lejniekam, kura diemžēl vairs nav mūsu vidū. Bez viņa iedrošinājuma, atbalsta un profesionālās vadības mans darbs nebūtu pabeigts. Paldies profesoram, ka parādīja pareizo virzienu un rosināja domāt plašāk, par atbalstu, pacietību un iedrošinājumu uzsākt zinātnisko darbu līdz šim nezināmajā mikrobioma jomā. Pateicība arī dr. Ivaram Tolmanim par klātbūtni, ticību un manu izaugsmes virzību.

Īpaša pateicība manai zinātniskajai konsultantei Lailai Silamiķelei no Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centra par veltīto laiku, padomiem, nenovērtējamu palīdzību laboratorisko izmeklējumu laikā un atbalstu sarežģītajos statistikas izaicinājumos, kā arī kolēģiem Ivaram Silamiķelim, profesoram Jānim Kloviņam un citiem Biomedicīnas centra speciālistiem par atsaucību, konsultācijām un vērtīgiem ieteikumiem.

No sirds pareicos Mārim Rēvaldam par iespēju realizēt šo apjomīgo darbu "Veselības centra 4" telpās. Paldies kolēģiem SIA "Veselības centrs 4" filiālē "Diagnostikas centrs" un SIA "Akadēmiskā histoloģijas laboratorija" par nozīmīgo ieguldījumu izmeklējumu un paraugu apstrādē.

Ļoti augstu vērtēju profesores Sandras Lejnieces un profesores Ilzes Konrādes iedvesmu un iedrošinājumu nebaidīties sākt darbu jaunā, toreiz nezināmā laukā – mikrobioma pētniecībā. Viņu pārliecība ļāva man spert drosmīgus soļus un ticēt panākumiem.

Neizmērojama pateicība arī manai ģimenei – vīram un bērniem – par sapratni, pacietību un atbalstu laikos, kad darbu pie publikācijām un disertācijas nācās likt pirmajā vietā. Paldies visiem kolēģiem un draugiem, kas bija līdzās šī darba tapšanas procesā.