Ilona Vilkoite

ORCID 0000-0001-9663-9156

Kolorektālu neoplāziju saistība ar zarnas mikrobioma pamata kompozīcijas izmaiņām

Promocijas darba kopsavilkums zinātnes doktora grāda "zinātnes doktors (*Ph. D.*)" iegūšanai

Nozaru grupa – medicīnas un veselības zinātnes

Nozare – klīniskā medicīna

Apakšnozare – internā medicīna

Rīga, 2026

Promocijas darbs izstrādāts "Veselības centra 4" filiālē "Diagnostikas centrs", Akadēmiskajā histoloģijas laboratorijā, Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā

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

Oficiālie recenzenti:

Dr. med. asociētais profesors **Andris Gardovskis**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

PhD. asociētā profesore **Elīna Sīviņa**,
Latvijas Universitāte

Ph. D. profesors **Corrado Pedrazzani**,
Veronas Universitāte, Itālija

Promocijas padomes priekšsēdētāja:

Dr. med. profesore **Ilze Konrāde**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Promocijas padome:

Dr. biol. profesors **Edvīns Miklaševičs**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. med. asociētā profesore **Viktorija Kuzema**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. med. asociētais profesors **Arvīds Irmejs**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Ph. D. docents **Aigars Reinis**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Promocijas darbs tiks aizstāvēts Klīniskās medicīnas promocijas padomes atklātā sēdē 2026. gada 10. novembrī plkst. 15.00 1. auditorijā, Dzirciema ielā 16, Rīgas Stradiņa universitātē.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU tīmekļa vietnē:
https://www.rsu.lv/promocijas-darbi

NACIONĀLAIS ATTĪSTĪBAS PLĀNS 2020
EIROPAS SAVIENĪBA
Eiropas Reģionālās attīstības fonds
IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ

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

Satura rādītājs

Ievads 7
Darba mērķis 8
Darba uzdevumi 9
Darba hipotēze 9
Darba novitāte 9
Sadarbības partneri 10
Personīgais ieguldījums 10
Ētiskie aspekti 11

1. Materiāli un metodes 12
1.1. Pētījuma dizains 12
1.2. Materiālu iegūšana un uzglabāšana 13
1.2.1. Fēču paraugu iegūšana un uzglabāšana 13
1.2.2. Kolonoskopijas izmeklējums 13
1.2.3. Kolonoskopijas laikā konstatēto veidojumu morfoloģiskā diagnostika 14
1.2.4. Metagenoma sekvencēšana un mikrobioma kompozīcijas noteikšana 14
1.2.5. Datu analīze 15
1.2.6. Statistiskā analīze 15

2. Rezultāti 17
2.1. Pētījuma populācijas raksturojums 17
2.2. Demogrāfiskie un klīniskie raksturlielumi 17
2.2.1. Vecums 17
2.2.2. Dzimums 17
2.2.3. Ķermeņa masas indekss (ĶMI) 18
2.2.4. Pacientu dzīvesvieta 18
2.2.5. Pacientu izglītība 18
2.2.6. Dzīvesveida faktori 18
2.3. Adenomu raksturojums 20
2.4. Mikrobioma kompozīcija ģinšu līmenī 21
2.5. Daudzveidības analīze ģinšu līmenī 22
2.5.1. Alfa daudzveidība 22
2.5.2. Beta daudzveidība sugu līmenī 23
2.6. Diferenciālās sastopamības analīze starp pacientiem ar kolorektālām adenomām un pacientiem bez tām 25
2.7. Mikroorganismu ģintis ar relatīvās sastopamības atšķirībām pētījumā analizēto faktoru ietekmē 25
2.7.1. Saistība starp mikroorganismu ģintīm un gremošanas trakta slimībām 27
2.7.2. Saistība starp mikroorganismu ģintīm un ķermeņa masas indeksu (ĶMI) 29
2.7.3. Saistība starp mikroorganismu ģintīm un smēķēšanu 30
2.7.4. Nozīmīgās mikroorganismu asociācijas ar klīniskiem un demogrāfiskiem faktoriem (MaAsLin2 analīzes rezultātu vizualizācija karstuma kartē) 31
2.8. Mikrobioma funkcionālie ceļi ar eksploratīvām atšķirībām starp pacientiem ar kolorektālām adenomām un pacientiem bez tām 31
2.8.1. PWY-7371 (1,4-dihidroksi-6-naftoāta biosintēze II) ceļš 32
2.8.2. PROPFERM-PWY: L-alanīna fermentācijas superceļš jeb *Stickland* reakcija 33
2.8.3. PWY-8188: L-alanīna noārdīšanās VI (reduktīvā *Stickland* reakcija) 34
2.8.4. PWY-8189: L-alanīna noārdīšanās V (oksidatīvā *Stickland* reakcija) 34
2.8.5. PWY-5494: piruvāta fermentācija līdz propanoātam II (akrilāta ceļš) 35
2.8.6. Sešu mikroorganismu vielmaiņas ceļu salīdzinošā analīze 35

Diskusija 37
Pacientu raksturojums 37
Mikrobioma kompozīcija ģinšu līmenī 38
Alfa daudzveidība 38
Beta daudzveidība 39
Diferenciālās sastopamības analīze starp pacientiem ar kolorektālām adenomām un pacientiem bez kolorektālām adenomām 39
Mikroorganismu ģintis ar būtiskām relatīvās sastopamības atšķirībām pētījumā analizēto faktoru ietekmē 43
Mikrobioma funkcionālās atšķirības pacientiem ar kolorektālām adenomām un pacientiem bez kolorektālām adenomām 45
Menahinona (K2 vitamīna) biosintēzes ceļi (PWY-7371 un PWY-7992) 45
Stickland fermentācijas ceļi (PROPFERM-PWY, PWY-8188, PWY-8189) 45
Akrilāta ceļš (PWY-5494: piruvāta fermentācija līdz propanoātam II) 46
Secinājumi 48
Priekšlikumi 50
Publikāciju, ziņojumu un patentu saraksts par promocijas darba tēmu 52
Literatūras un avotu saraksts 53
Pateicības 59

Darbā izmantotie saīsinājumi

AD	adenomu grupa (angl. *Adenoma Group*)
CO	kontroles grupa (angl. *control group*)
DNS	dezoksiribonukleīnskābe (angl. *deoxyribonucleic acid*)
FDR	viltus atklājumu biežums (angl. *false discovery rate*)
GERS	gastroezofageālā refluksa slimība (angl. *gastroesophageal reflux disease, GERD*)
GTDB	uz genoma datiem balstīta prokariotu taksonomijas datubāze (angl. *Genome Taxonomy Database*)
HGD	augstas pakāpes displāzija (angl. *High-Grade Dysplasia*)
IL-17	interleikīns-17 (angl. *interleukin-17*)
KRV	kolorektālais vēzis (angl. *CRC*)
K2 vitamīns	K2 – menahinons (angl. *menaquinone*)
ĶMI	ķermeņa masas indekss (angl. *body mass index, BMI*)
LGD	zemas pakāpes displāzija (angl. *Low-Grade Dysplasia*)
Limma	lineāro modeļu statistikas metode (angl. *Linear Models for Microarray Data*)
logFC	logaritmiskais reizes izmaiņu rādītājs (angl. *log fold c hange*)
MaAsLin2	mikrobioma datu daudzfaktoru analīzes rīks (angl. *Multivariate Association with Linear Models 2*)
MAG	no metagenomiskās sekvencēšanas datiem bioinformātiski rekonstruēts mikroorganisma genoms (angl. *metagenome-assembled genome*)
NF-κB	kodola faktors kapa B (angl. *nuclear factor kappa B*)
PCA	galveno komponentu analīze (angl. *principal component analysis*)
PCoA	galveno koordinātu analīze (angl. *principal coordinates analysis*)
PVO	Pasaules Veselības organizācija (angl. *WHO – World Health Organization*)
PWY	metabolisma ceļš (angl. *pathway*, MetaCyc datubāzes apzīmējums)
SCFA	īso ķēžu taukskābes (angl. *short-chain fatty acids*)
sp.	nenoteikta suga konkrētā ģintī (angl. *species*)
spp.	vairākas sugas vienas ģints ietvaros (angl. *multiple species*)
UBA	nekultivētu baktēriju un arheju apzīmējums, ko lieto metagenomiski rekonstruētiem mikroorganismu genomiem (MAG), kuri identificēti pēc genoma sekvencēm bez iepriekšējas kultivēšanas (angl. *Uncultivated Bacteria and Archaea*)
EOCRC	agrīna sākuma kolorektālais vēzis (angl. *early-onset colorectal cancer*)

Ievads

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 modificējamie riska faktori ir liels sarkanās un pārstrādātās gaļas patēriņš, zems šķiedrvielu patēriņš, 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 identificētas ar kolorektālo adenomu klātbūtni saistītas mikrobioma kompozicionālās atšķirības un eksploratīvi funkcionālie signāli.

Iegūtie rezultāti paplašina izpratni par mikrobioma izmaiņām kolorektālas neoplāzijas agrīnajā stadijā un veido pamatu potenciālu mikrobioma biomarķieru turpmākai izpētei. Pirms šo atradņu izmantošanas diagnostikā, profilaksē vai terapijā nepieciešama validācija neatkarīgās kohortās un papildinoši funkcionāli un metabolomiski pētījumi. 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 kalpot par pamatu potenciālu diagnostisku biomarķieru un profilaktisku pieeju turpmākai izpētei. Identificētie mikrobioma strukturālie un funkcionālie signāli būtu validējami neatkarīgās kohortās un turpmākos funkcionālos pētījumos.

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 un mākslīgā intelekta sistēmas ietekmes uz adenomu noteikšanas rādītāju (ADR) un polipu noteikšanas rādītāju (PDR) izvērtēšanā. 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.

1. Materiāli un metodes

1.1. 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)).

1.2. Materiālu iegūšana un uzglabāšana

1.2.1. 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.

1.2.2. 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.

1.2.3. 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.

1.2.4. 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 daudzfaktoru lineārie modeļi MaAsLin2 vidē, aprēķinot koeficientus (log(koeficients)), p vērtības un q vērtības (FDR korekcija). Vairāku salīdzinājumu korekcijai tika izmantots FDR. MaAsLin2 eksploratīvajā analīzē iepriekš definētais eksploratīvais slieksnis bija $q < 0,25$, savukārt $q < 0,05$ tika uzskatīts par konvencionālo statistiskās nozīmības slieksni. 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.

1.2.5. 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.

1.2.6. 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 testu korekcijai izmantots FDR; nozīmīguma slieksnis $q < 0,25$.

2. Rezultāti

2.1. Pētījuma populācijas 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) (2.1. tabula).

2.1. 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

2.2. Demogrāfiskie un klīniskie raksturlielumi

2.2.1. Vecums

Adenomu grupas pacienti bija statistiski nozīmīgi vecāki nekā kontroles grupas pacienti (53,03 ± 5,4 vs. 45,61 ± 3,0 gadi; $p < 0,001$). Šī atšķirība apstiprina vecuma nozīmi kā vienu no galvenajiem kolorektālo adenomu riska faktoriem (2.2. tabula).

2.2. 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

2.2.2. Dzimums

Adenomu grupā vīriešu īpatsvars bija skaitliski augstāks nekā kontroles grupā (48,2 % vs. 32,5 %), tomēr atšķirība nesasniedza statistisko nozīmīgumu (Pearson $\chi^2 = 3,42$; $p = 0,064$ (2.3. tabula).

2.3. 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	–	–

2.2.3. Ķermeņa masas indekss (ĶMI)

Adenomu grupā ĶMI bija augstāks nekā kontroles grupā ($27,5 \pm 4,2$ vs. $25,7 \pm 5,2$ kg/m²; $p = 0,039$), kas norāda uz metabolisko faktoru iespējamo nozīmi adenomu attīstībā.

2.2.4. Pacientu dzīvesvieta

Adenomu grupā 57,14 % pacientu dzīvoja galvaspilsētā, savukārt kontroles grupā šis īpatsvars bija tikai 25,00 % (2.4. tabula). Atšķirība starp grupām bija statistiski nozīmīga ($p < 0,001$), kas var liecināt par iespējamu pilsētvides dzīvesveida vai vides faktoru ietekmi uz adenomu attīstību.

2.4. 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)

2.2.5. 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 ($p < 0,001$) (2.5. tabula).

2.5. 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)

2.2.6. Dzīvesveida faktori

Fiziskā aktivitāte

Adenomu grupā fiziski aktīvo pacientu īpatsvars bija būtiski augstāks (73,2 % vs. 17,5 %; $p < 0,001$). Šis rezultāts ir negaidīts un var norādīt uz iespējamu atlases neobjektivitāti vai citu jaucējfaktoru ietekmi (2.6. tabula).

2.6. 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)

Smēķēšana

Statistiski nozīmīgas atšķirības smēķēšanas paradumos netika konstatētas (p = 0,28) (2.7. tabula).

2.7. 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)

Alkohola lietošana

Augsts alkohola patēriņš bija ievērojami biežāks adenomu grupā (85,7 % vs. 37,5 %; p < 0,001), kas norāda uz alkohola iespējamu nozīmi adenomu attīstībā (2.8. tabula).

2.8. 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 (2.9. tabula) liecina par statistiski nozīmīgām atšķirībām starp adenomu un kontroles grupu vairākos demogrāfiskos un dzīvesveida rādītājos. Adenomu grupas pacienti bija vecāki, biežāk vīrieši, ar augstāku ĶMI, biežāk dzīvoja galvaspilsētā, bija ar augstāku izglītību un fiziski aktīvāki (visi p < 0,05). Tāpat šajā grupā biežāk konstatēts augsts alkohola patēriņš (p < 0,001). Savukārt smēķēšanas paradumos statistiski nozīmīgas atšķirības netika novērotas (p = 0,280).

2.9. 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

Lai papildinātu starpgrupu salīdzinājumu, 2.10. tabulā sniegts detalizēts pacientu demogrāfiskais un dzīvesveida raksturojums, atspoguļojot gan absolūtos skaitļus, gan sadalījumu adenomu un kontroles grupā.

2.10. tabula

Adenomu un kontroles grupas pacientu demogrāfiskais un dzīvesveida raksturojums

	Kopā (n = 136)	AD (n = 56)	CO (n = 80)	p vērtība
Vecums, gadi, vidējais ± SD	–	53,03 ± 5,4	45,61 ± 3,0	< 0,001
Dzimums, n (%)				0,064
Vīrieši	53 (39,0)	27 (48,21)	26 (32,50)	0,064
Sievietes	83 (61,0)	29 (51,79)	54 (67,50)	
ĶMI, kg/m^2, (vidējais ± SD)	–	27,51 ± 4,18	25,73 ± 5,22	0,039
Dzīvesvieta, n (%)				
Galvaspilsēta	52 (38,24)	32 (57,14)	20 (25,00)	<0,001
Ārpus galvaspilsētas	84 (61,76)	24 (42,86)	60 (75,00)	
Izglītība, n (%)				
Augstākā	84 (61,76)	47 (83,93)	37 (46,25)	<0,001
Vidējā un zemāka	52 (38,24)	9 (16,07)	43 (53,75)	
Fiziskā aktivitāte, n (%)				
Fiziski aktīvi	55 (40,44)	41 (73,21)	14 (17,50)	<0,001
Fiziski neaktīvi	81 (59,56)	15 (26,79)	66 (82,50)	
Smēķēšana, n (%)				
Smēķētāji	8 (5,88)	5 (8,93)	3 (3,75)	0,273
Nesmēķētāji	128 (94,12)	51 (91,07)	77 (96,25)	
Alkohola lietošana, n (%)				
Augsts patēriņš	78 (57,35)	48 (85,71)	30 (37,50)	< 0,001
Zems patēriņš	58 (42,65)	8 (14,29)	50 (62,50)	

2.3. Adenomu raksturojums

Kopumā 56 pacientiem tika konstatētas 77 adenomas. No tām 85,7 % bija zema riska adenomas, 14,3 % bija augsta riska adenomas. Lielākā daļa adenomu bija 5–9 mm (71,4 %), kas atbilst skrīninga populācijām raksturīgajam sadalījumam. 2.11. tabulā attēlots adenomu sadalījums pēc lieluma analizētajā kohortā.

2.11. tabula

Adenomu izmērs un skaits

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

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

2.4. Mikrobioma kompozīcija ģinšu līmenī

No 136 sākotnēji pieejamajiem paraugiem 123 atbilda metagenomiskās kvalitātes kritērijiem un tika iekļauti turpmākajā analīzē. Šajos paraugos pēc kvalitātes filtrēšanas un saimniekorganisma nolasījumu izslēgšanas saglabājās mediāni 22 658 664 nolasījumi (IQR 10 326 052)

Izplatītāko ģinšu relatīvā sastopamība pacientiem ar kolorektālām adenomām (AD) un pacientiem bez adenomām (CO) ir attēlota 2.1. 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.

Ģinšu relatīvās proporcijas norāda uz 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 2.12. tabulā.

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

20 izplatītākās ģintis, n = 123

2.12. tabula

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

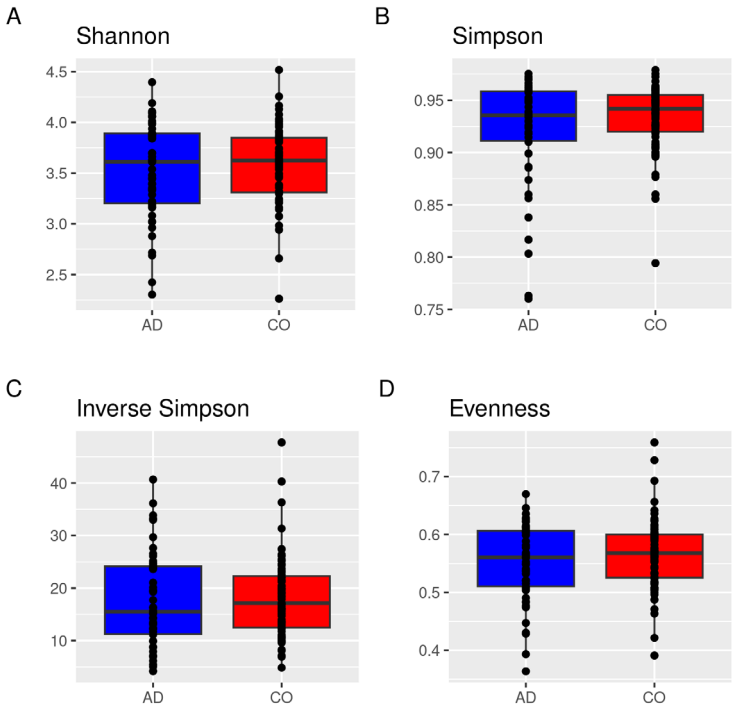
Ģints	AD	CO
Faecalibacterium	Samazināts (~ 10–20 %) lielākajā daļā paraugu	Dominējošs (~ 40–50 %)
Bacteroides	Dominējošs (~ 55–65 %) lielākajā daļā paraugu	Mērens (~ 20–30 %)
Phocaeicola	Sastopamāks (~ 15–25 %)	Mazāk sastopams (~ 8–12 %)
Methanomassiliicoccus_A	Nedaudz vairāk izplatīts salīdzinājumā 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 %

Adenomu grupai raksturīgas šādas izmaiņas:↓ *Faecalibacterium* (~ 10 % vs. ~ 40 %), ↑ *Bacteroides* (~ 59 % vs. ~ 25 %), ↑ *Phocaeicola*. Savukārt kontroles grupā biežāk sastopami *Faecalibacterium*, *Anaerostipes* un citi SCFA producējoši mikroorganismi. Šīs izmaiņas norāda uz mikrobiotas disbiozi adenomu grupā.

2.5. Daudzveidības analīze ģinšu līmenī

2.5.1. Alfa daudzveidība

Netika konstatētas statistiski nozīmīgas atšķirības starp grupām nevienā no alfa daudzveidības rādītājiem (Šenona, Simpsona, vienmērīgums; $p > 0,05$). Tas liecina, ka kopējā mikrobiotas daudzveidība saglabājas līdzīga (2.2. attēls).



2.2. attēls. **Alfa daudzveidība**

2.13. 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

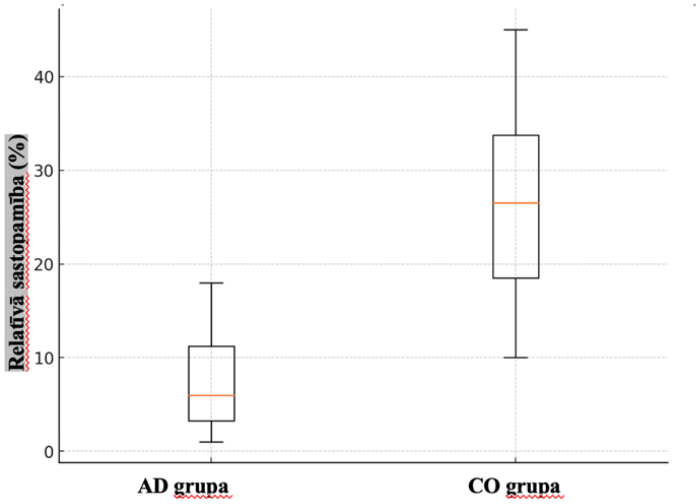
2.5.2. Beta daudzveidība sugu līmenī

Beta daudzveidības analīzē konstatēta statistiski nozīmīga starpgrupu atšķirība (p = 0,0002). Ordinācijas telpā AD grupas paraugi uzrādīja lielāku izkliedi, tādēļ rezultāta interpretācijā jāņem vērā arī iespējamā grupu dispersijas atšķirību ietekme (2.3. attēls).

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.

2.3. attēls. **Beta daudzveidība**

Lai vizualizētu mikrobiotas sastāva atšķirības, 2.4. attēlā parādīts mikroorganismu relatīvās sastopamības sadalījums adenomu un kontroles grupā.



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

Lai kvantitatīvi raksturotu 2.4. attēlā novērotās atšķirības, 2.14. tabulā sniegts galveno mikroorganismu ģinšu relatīvās sastopamības salīdzinājums starp grupām.

2.14. tabula

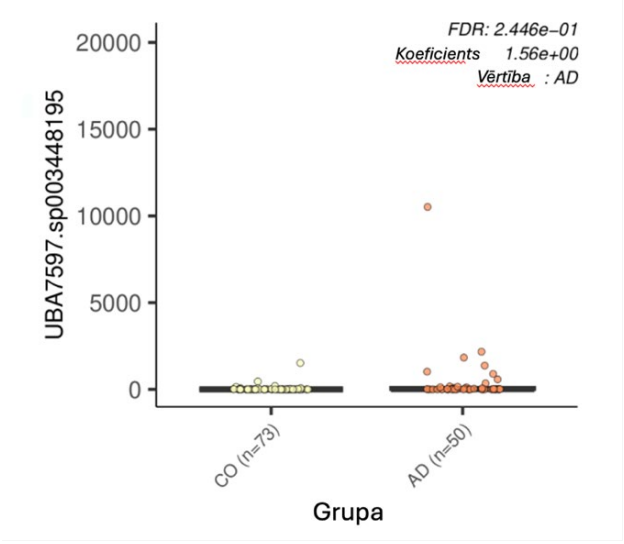
Grupu statistiskais salīdzinājums (vidējās vērtības AD un CO)

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.)

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

Pēc FDR korekcijas tika identificēts viens statistiski nozīmīgs taksons: *UBA7597 sp003448195* bija ievērojami palielināts adenomu grupā *(*FDR = 0,0023). Šis rezultāts norāda uz iespējamu specifisku mikroorganismu saistību ar adenomu attīstību.

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. 2.5. attēlu).

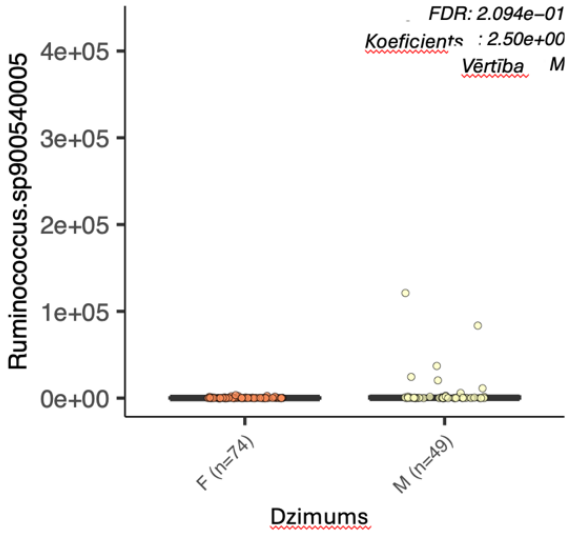


2.5. attēls. **Limma diferenciālās sastopamības analīzes rezultāti: *UBA7597 sp003448195* relatīvā sastopamība AD un CO grupā**

2.7. Mikroorganismu ģintis ar relatīvās sastopamības atšķirībām pētījumā analizēto faktoru ietekmē

Papildus tika veikta eksploratīva analīze, lai izvērtētu mikroorganismu saistību ar klīniskajiem un demogrāfiskajiem faktoriem (2.16. tabula). Analīzē tika izmantota FDR korekcija (Q < 0,25). Kopumā tika novērotas vairākas potenciālas asociācijas starp mikroorganismiem un analizētajiem faktoriem, tomēr lielākā daļa no tām nesasniedza statistisko nozīmīgumu pēc vairākkārtējas testēšanas korekcijas.

Ruminococcus sp.900540005 uzrādīja paaugstinātu sastopamību vīriešiem ($p = 7{,}00 \times 10^{-5}$) (2.6. attēls), taču pēc FDR korekcijas šī asociācija nebija statistiski nozīmīga (q = 0,209), tāpēc interpretējama piesardzīgi.



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

Izteiktākas tendences tika novērotas saistībā ar gremošanas trakta slimībām, tomēr arī šie rezultāti lielākoties neizturēja FDR korekciju.

2.15. tabula

Atšķirīgi sastopamās mikroorganismu ģintis

Taksons	Metadati	Vērtība	Koef.	Standart-kļūda	N	N.not.0	P vērtība	q vērtība
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
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

2.15. tabulas turpinājums

Taksons	Metadati	Vērtība	Koef.	Standart-kļūda	N	N.not.0	P vērtība	q vērtība
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

2.7.1. Saistība starp mikroorganismu ģintīm un gremošanas trakta slimībām

Ar gastrītu saistītie taksoni

Tika konstatēta statistiski nozīmīga negatīva saistība starp *Collinsella sp.* un gastrītu (q = 0,003), kas liecina par šī taksona iespējamu samazinātu sastopamību vai potenciāli aizsargājošu lomu gastrīta gadījumā (2.16. tabula). Papildus tika novērotas negatīvas asociācijas arī *Dialister sp.* un *Parolsenella sp*., taču šīs saistības nesaglabāja statistisko nozīmīgumu pēc FDR korekcijas (q = 0,209), tādēļ interpretējamas piesardzīgi. Apkopojums attēlots 2.17. tabulā.

2.16. tabula

Ar gastrītu saistītie taksoni

Taksons	Koeficients	p vērtība	q vērtība	Interpretācija
Collinsella sp.	−4,721	2,97E-07	0,003	Statistiski ļoti nozīmīga negatīva saistība
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.* saglabāja statistiski nozīmīgu negatīvu saistību ar gastrītu pēc FDR korekcijas, savukārt *Dialister sp.* un *Parolsenella sp.* šo nozīmīgumu nesaglabāja.

Ar GERS saistītie taksoni

Tika konstatēta statistiski nozīmīga negatīva saistība starp *Collinsella sp.* un GERS (q = 0,011), kas liecina par šī taksona samazinātu sastopamību pacientiem ar GERS. Neskatoties uz relatīvi zemo izplatību izlasē, šis rezultāts saskan ar līdzīgu negatīvu asociāciju gastrīta gadījumā.

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

Tika novērotas negatīvas asociācijas starp *Collinsella sp.*, *CAG- 103 sp.* un *Gemmiger sp.* un peptisku čūlu (2.17. tabula). Lai gan visiem taksoniem p vērtības liecināja par statistisku nozīmīgumu, neviena no asociācijām nesaglabāja nozīmīgumu pēc FDR korekcijas (q > 0,05), tādēļ rezultāti interpretējami piesardzīgi. *Gemmiger sp.* izcēlās ar lielāko efekta lielumu un augstu izplatību visos paraugos. Šī saistība attēlota 2.17. tabulā.

2.17. tabula

Ar peptisku čūlu saistītie taksoni

Taksons	Koeficients	p vērtība	q vērtība	Interpretācija
Collinsella sp.	−4,865	3,99E-05	0,161	Statistiski nozīmīga negatīva saistība, bet nav nozīmīga pēc korekcijas; zema izplatība
CAG-103 sp.	−4,277	0,0001	0,209	Statistiski nozīmīga negatīva saistība, bet nav nozīmīga pēc korekcijas; augsta izplatība
Gemmiger sp.	–6,619	8,85E-05	0,209	Statistiski nozīmīga negatīva saistība, bet nav nozīmīga pēc korekcijas; sastopams visos paraugos

Lai gan visiem trim taksoniem novērotas negatīvas asociācijas ar peptisku čūlu, neviena no tām nesaglabāja statistisko nozīmīgumu pēc FDR korekcijas, tādēļ rezultāti interpretējami piesardzīgi. *Gemmiger sp.* izcēlās ar lielāko efekta lielumu un plašu izplatību. Asociācija sasniedza iepriekš definēto eksploratīvo q < 0,25 slieksni, bet nesasniedza konvencionālo statistiskās nozīmības slieksni q < 0,05 atspoguļo mikrobioma funkcionālas izmaiņas agrīnās neoplāzijas attīstībā (2.18. tabula).

2.18. tabula

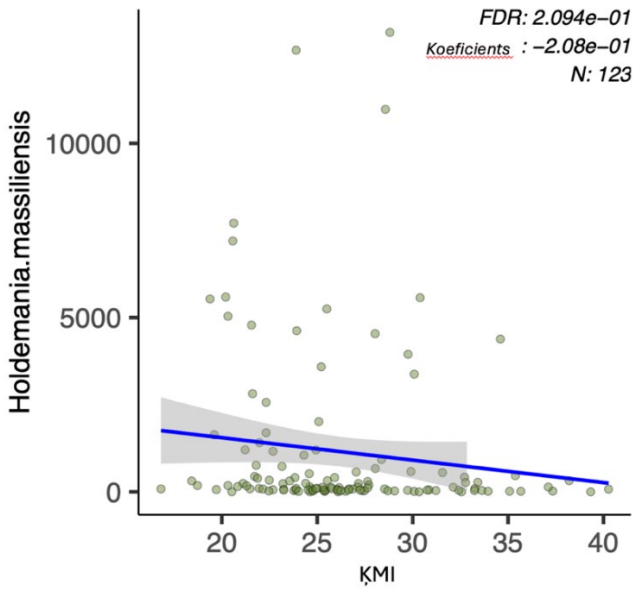
PWY-7371 (1,4-dihidroksi-6-naftoāta biosintēze II) ceļa relatīvā sastopamība un raksturojums starp adenomu un kontroles grupu

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	Ceļa relatīvā pārstāvība AD grupā
Iespējamā nozīme	Disbioze un mikroorganismu zemāks funkcionālais potenciāls

2.18. tabulā apkopoti PWY-7371 ceļa relatīvās sastopamības rādītāji, statistiskie parametri un to interpretācija adenomu un kontroles grupā.

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

Tika novērota negatīva saistība starp *Holdemania*, *Lawsonibacter* un *RC9* un ĶMI, kas liecina, ka šie taksoni var būt retāk sastopami indivīdiem ar augstāku ĶMI. Lai gan visiem taksoniem p vērtības norādīja uz statistiski nozīmīgām asociācijām, neviena no tām nesaglabāja nozīmīgumu pēc FDR korekcijas (q = 0,209), tādēļ rezultāti interpretējami piesardzīgi (2.19. tabula). Šie taksoni bija plaši izplatīti analizētajos paraugos, kas norāda uz iespējamu tendenci, tomēr tās nozīmīgums jāapstiprina turpmākos pētījumos. Šie rezultāti ir vizualizēti 2.7. attēlā, kur izkliedes diagramma parāda relatīvās sastopamības izmaiņas atkarībā no ĶMI.



2.7. attēls. **Relatīvās sastopamības izmaiņas *Holdemania massiliensis* atkarībā no ĶMI; nomināli statistiski nozīmīga p vērtība, bet pēc FDR korekcijas q = 0,209.**

2.19. tabula

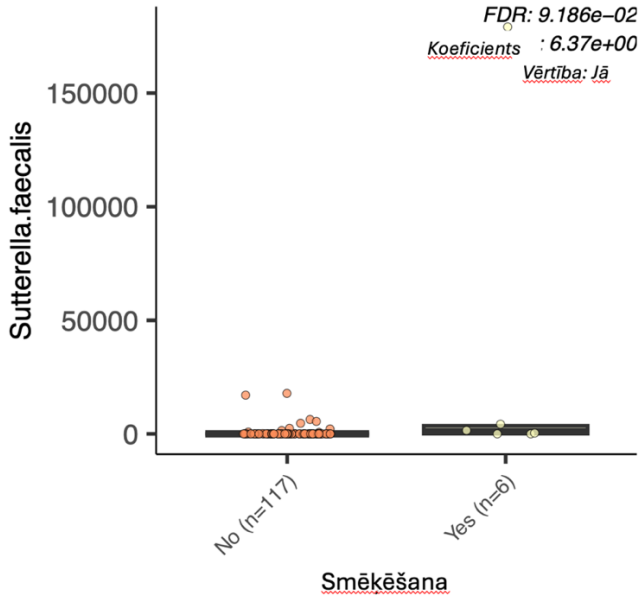
Saistība starp specifisku baktēriju taksonu sastopamību un ķermeņa masas indeksu (ĶMI): regresijas koeficienti un statistiskā nozīmība

Taksons	Koeficients	FDR (q vērtība)	Interpretācija
Holdemania	−0,208	0,209	Vidēji negatīva, statistiski nenozīmīga
Lawsonibacter-	−0,145	0,209	Viegli negatīva, statistiski nenozīmīga
RC9	−0,130	0,209	Viegli negatīva, statistiski nenozīmīga

Visi trīs taksoni uzrāda konsekventu modeli, kurā tie ir biežāk sastopami indivīdiem ar zemāku ĶMI, taču asociācijas neiztur FDR korekciju, tāpēc tās jāinterpretē piesardzīgi. Asociācija sasniedza iepriekš definēto eksploratīvo q < 0,25 slieksni, bet nesasniedza konvencionālo statistiskās nozīmības slieksni q < 0,05.

2.7.3. Saistība starp mikroorganismu ģintīm un smēķēšanu

Tika novērota pozitīva asociācija starp *Sutterella faecalis* un smēķēšanu, kas liecina par šī taksona palielinātu sastopamību smēķētājiem (2.8. attēls, 2.20. tabula). Lai gan p vērtība norādīja uz statistisku nozīmīgumu, pēc FDR korekcijas šī asociācija nesaglabāja nozīmīgumu (q = 0,091), tādēļ rezultāti interpretējami piesardzīgi (skat. 2.8. attēlu).



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

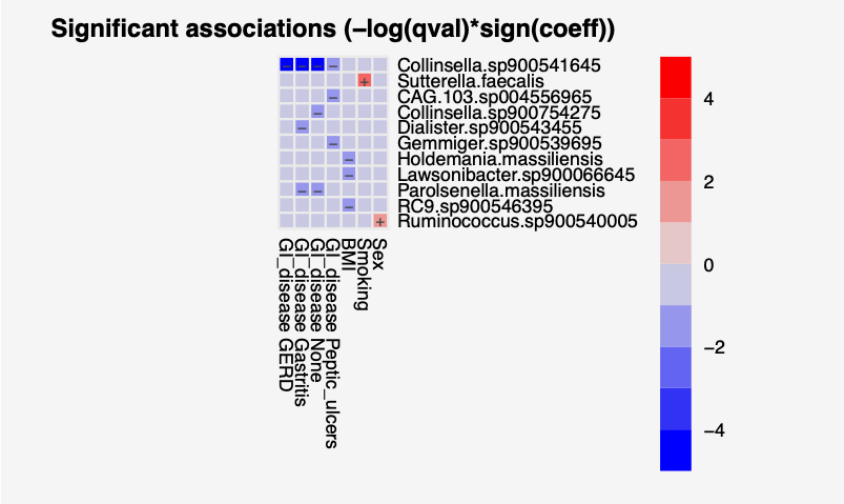
2.20. tabula

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		Nesasniedz konvencionālo statistiskās nozīmības slieksni (q > 0,05)

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

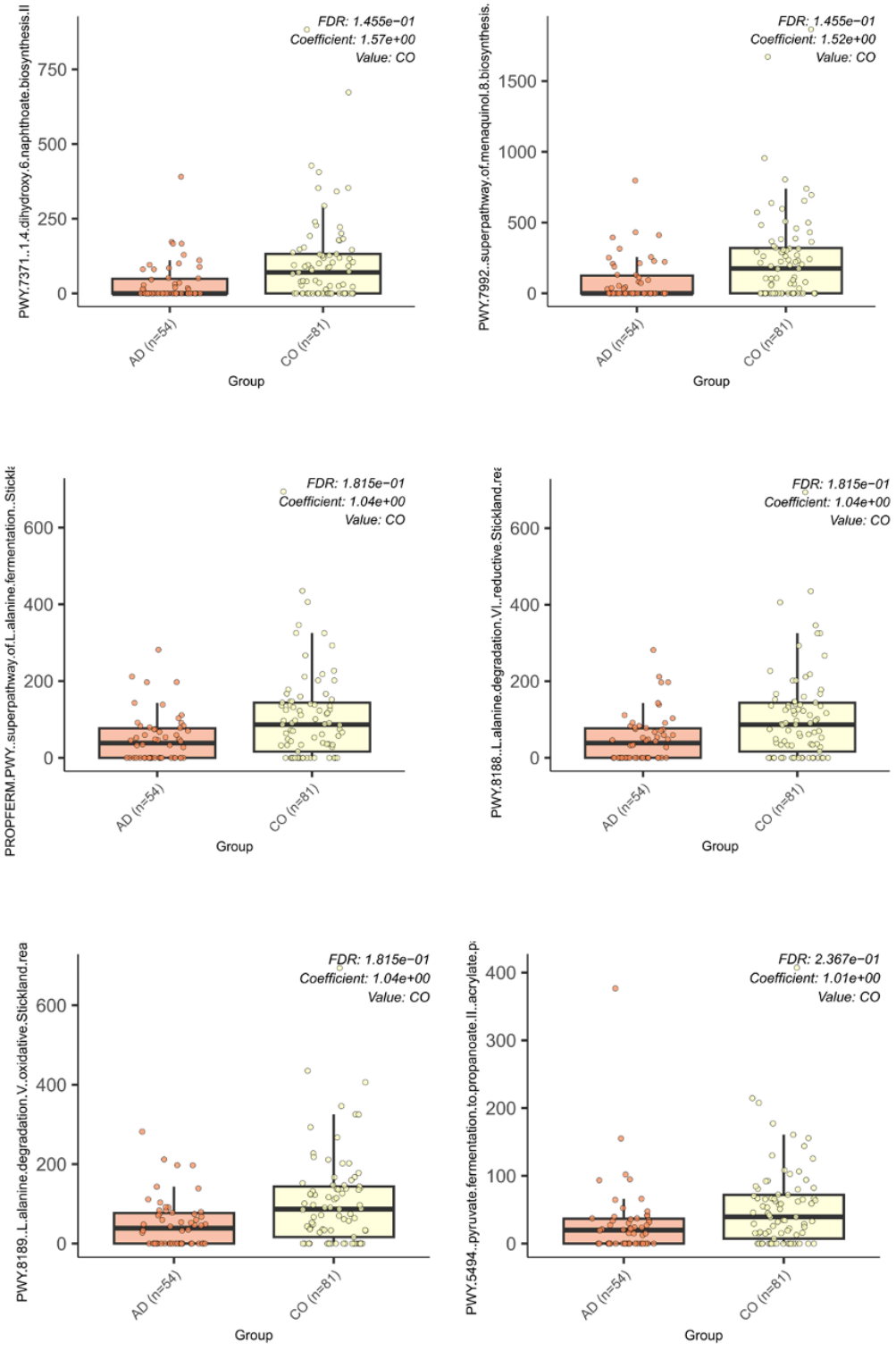
Karstuma kartē (2.9. attēls) attēlotas mikroorganismu taksonu asociācijas ar klīniskajiem un demogrāfiskajiem faktoriem, balstoties uz MaAsLin2 analīzi. Krāsu intensitāte atspoguļo asociācijas virzienu un stiprumu: sarkanā krāsa norāda uz pozitīvām, bet zilā – uz negatīvām asociācijām, ņemot vērā q vērtību. Attēlā iekļautas tikai asociācijas ar q < 0,25, kas atbilst analīzes eksploratīvajam raksturam un pētījuma izlases lielumam.



2.9. attēls. **Eksploratīvās baktēriju taksonu asociācijas ar klīniskajiem un demogrāfiskajiem faktoriem, kas sasniedza q < 0,25 slieksni (MaAsLin2 analīze)**

2.8. Mikrobioma funkcionālie ceļi ar eksploratīvām atšķirībām starp pacientiem ar kolorektālām adenomām un pacientiem bez tām

Lai izvērtētu mikrobioma funkcionālās atšķirības atkarībā no kolorektālo adenomu klātbūtnes, tika analizētas 4511 mikroorganismu funkcijas, izmantojot MaAsLin2. Funkcionālā profila analīze veikta paraugiem, kas pēc kvalitātes kontroles bija piemēroti metagenomiskai analīzei (kopā n=123). No tām 243 uzrādīja novirzes, bet seši funkcionālie ceļi sasniedza eksploratīvo q < 0,25 slieksni; neviens nesasniedza (FDR < 0,05; n = 123). Rezultāti apkopoti 2.10. attēlā, kur attēlotas atšķirības starp adenomu un kontroles grupu. Koeficientu vērtības atspoguļo atšķirību virzienu un lielumu, savukārt FDR vērtības – to statistisko nozīmīgumu.



2.10. attēls. **Mikrobioma funkcionālie ceļi, kas MaAsLin2 analīzē sasniedza eksploratīvo q < 0,25 slieksni**

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

PWY-7992 ceļš, kas saistīts ar menahinola-8 (K2 vitamīna) biosintēzi, bija samazināts pacientiem ar kolorektālām adenomām salīdzinājumā ar kontroles grupu (2.10. attēls). Lai gan atšķirība nesasniedza statistisko nozīmīgumu pēc FDR korekcijas (FDR = 0,1455), efekta lielums (koeficients = +1,52) norādīja uz lielāku šī ceļa sastopamību kontroles grupā. Šie

rezultāti liecina par iespējamu K2 biosintēzes samazināšanos adenomu gadījumā un mikrobioma funkcionālā potenciāla izmaiņām agrīnās neoplāzijas stadijās (2.21. tabula).

2.21. 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

2.21. tabulā apkopoti PWY-7992 ceļa dati, kas parāda samazinātu tā sastopamību adenomu grupā. Lai gan atšķirība nav statistiski nozīmīga (FDR = 0,1455), efekta lielums norāda uz iespējamu mikrobioma funkcionālā potenciāla samazināšanos.

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

PROPFERM-PWY ceļš, kas saistīts ar L-alanīna fermentāciju (*Stickland* reakciju), bija samazināts pacientiem ar kolorektālām adenomām salīdzinājumā ar kontroles grupu (2.10. attēls). Lai gan atšķirība nesasniedza statistisko nozīmīgumu pēc FDR korekcijas (FDR = 0,1815), efekta lielums (koeficients = +1,04) norādīja uz lielāku šī ceļa aktivitāti kontroles grupā. Šie rezultāti var liecināt par anaerobo baktēriju funkciju un aminoskābju fermentācijas samazināšanos adenomu gadījumā, kas atspoguļo funkcionālas mikrobioma izmaiņas agrīnās neoplāzijas stadijās (2.22. tabula).

2.22. 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), augstāks funkcionālais potenciāls kontroles grupā
FDR	0,1815 (statistiski nenozīmīgs) (FDR > 0,05)
Interpretācija	Mikrobiālā aminoskābju zemāks fermentācijas funkcionālais potenciāls AD grupā

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

PWY-8188 ceļš, kas saistīts ar L-alanīna noārdīšanos (reduktīvā *Stickland* reakcija), bija samazināts pacientiem ar kolorektālām adenomām salīdzinājumā ar kontroles grupu (2.10. attēls). Lai gan atšķirība nesasniedza statistisko nozīmīgumu (FDR = 0,1815), efekta lielums (koeficients = +1,04) norādīja uz lielāku šī ceļa aktivitāti kontroles grupā. Šie rezultāti saskan ar citos fermentācijas un menahinona ceļos novērotajām tendencēm un var liecināt par anaerobo mikroorganismu funkciju samazināšanos adenomu gadījumā (2.23. tabula).

2.23. 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), augstāks funkcionālais potenciāls kontroles grupā
FDR	0,1815 (statistiski nenozīmīgs) (FDR > 0,05)
Interpretācija	Samazinātas mikroorganismu funkcijas AD grupā

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

PWY-8189 ceļš, kas atspoguļo *Stickland* reakcijas oksidatīvo atzaru, bija samazināts pacientiem ar kolorektālām adenomām salīdzinājumā ar kontroles grupu (2.10. attēls). Lai gan statistiskā nozīmība netika sasniegta pēc FDR korekcijas (FDR = 0,1815), efekta lielums (koeficients = +1,04) liecina par lielāku šī ceļa aktivitāti kontroles grupā. Šī tendence saskan ar citiem *Stickland* fermentācijas ceļiem un var norādīt uz anaerobo mikroorganismu metabolisma funkciju samazināšanos adenomu gadījumā (2.24. tabula).

2.24. 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), augstāks funkcionālais potenciāls kontroles grupā
FDR	0,1815 (statistiski nenozīmīgs) (FDR > 0,05)
Interpretācija	Anaerobo mikroorganismu funkcionālā potenciāla samazinājuma tendence AD grupā, saskan ar citām *Stickland* un menahinona funkcijām

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

PWY-5494 ceļš, kas saistīts ar propionāta (īsās ķēdes taukskābes) veidošanos akrilāta ceļā, bija samazināts pacientiem ar kolorektālām adenomām salīdzinājumā ar kontroles grupu (2.10. attēls). Lai gan statistiskā nozīmība netika sasniegta (FDR = 0,2367), efekta lielums (koeficients = +1,01) norāda uz lielāku šī ceļa aktivitāti kontroles grupā. Šie rezultāti var liecināt par SCFA producējošo mikroorganismu funkciju samazināšanos adenomu gadījumā un iespējamu zarnu aizsargmehānismu pavājināšanos (2.25. tabula).

2.25. tabula

PWY-5494: piruvāta fermentācija līdz propanoātam II (akrilāta ceļa) relatīvā sastopamība un raksturojums starp adenomu un kontroles grupu

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 ekspresiju CO > AD
Izplatība	Pašāk izplatīts CO grupā
Koeficients	+1,01 (augstāks CO grupā), augstāks funkcionālais potenciāls kontroles grupā
FDR	0,2367 (statistiski nenozīmīgs) (FDR > 0,05)
Interpretācija	Samazināts propionāta biosintēzes funkcionālais potenciāls AD grupā

2.8.6. Sešu mikroorganismu vielmaiņas ceļu salīdzinošā analīze

Sešu mikrobu vielmaiņas ceļu analīze parādīja konsekventu šo funkciju samazināšanos pacientiem ar kolorektālām adenomām salīdzinājumā ar kontroles grupu. Lai gan neviens no sešiem ceļiem nesasniedza konvencionālo FDR <0,05 slieksni, visiem tika novērots konsekvents relatīvās pārstāvības samazinājuma virziens adenomu grupā. Šis rezultāts vērtējams kā bioloģiski interesants, hipotēzi ģenerējošs funkcionāls signāls, kam nepieciešama validācija neatkarīgās kohortās. Kontroles grupā bija augstāks funkcionālais potenciāls menahinona (K2 vitamīna) biosintēzes ceļos (PWY-7371, PWY-7992), *Stickland* fermentācijas ceļos (PROPFERM-PWY, PWY-8188, PWY-8189) un propionāta veidošanās ceļā (PWY-5494). Tas liecina par iespējamu anaerobo metabolisma, vitamīnu biosintēzes un īso ķēžu taukskābju (SCFA) veidošanās kapacitātes samazināšanos adenomu grupā. Šo savstarpēji saistīto ceļu konsekventa samazināšanās var atspoguļot agrīnas mikrobioma funkcionālas izmaiņas un disbiozi kolorektālās neoplāzijas attīstībā (2.26. tabula).

2.26. 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 zemāka relatīvā pārstāvība/funkcionālais potenciāls, 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 II (acrylate pathway)	PWY-5494	SCFA (propionate) production	CO	+1,01	0,2367	Pretiekaisuma SCFA paaudze	Samazināts propionāta biosintēzes funkcionālais potenciāls AD grupā

Diskusija

Šajā pētījumā izmantotā visa genoma *shotgun* metagenomiskā sekvencēšana nodrošināja augstu taksonomisko izšķirtspēju un ļāva analizēt ne tikai mikrobiotas sastāvu, bet arī tās funkcionālo potenciālu. Atšķirībā no 16S rRNS sekvencēšanas, šī pieeja ļauj identificēt mikroorganismus līdz sugas līmenim un raksturot metabolisma ceļus, kas var būt saistīti ar zarnu homeostāzi un neoplastisku progresēšanu. Tomēr jāņem vērā, ka metagenomika atspoguļo funkcionālo potenciālu, nevis reālo aktivitāti, un rezultātus var ietekmēt datubāzu ierobežojumi un tehniski faktori. Analīzē tika izmantota CLR transformācija, Aitčisona distance un vairāku hipotēžu korekcija, lai nodrošinātu rezultātu ticamību. Šajā promocijas darbā analizēts zarnu mikrobiotas sastāvs un funkcijas indivīdiem ar kolorektālām adenomām un indivīdiem bez kolorektālām adenomām, lai identificētu iespējamos mikrobioma biomarķierus agrīnai diagnostikai. Tika novērtēta alfa un beta daudzveidība, kā arī taksonomiskie un funkcionālie profili, ņemot vērā būtiskus kovariātus (dzimumu, vecumu, ĶMI, smēķēšanu u. c.). Lai gan alfa daudzveidībā būtiskas atšķirības netika konstatētas, tika identificētas specifiskas taksonu un mikrobioma funkciju izmaiņas, kas var liecināt par mikrobiotas iesaisti adenomu attīstībā un tās potenciālu kā neinvazīvu biomarķieri agrīnai kolorektālā vēža diagnostikai.

Pacientu raksturojums

Pētījumā tika iekļauti 136 pacienti pēc kolonoskopijas, no kuriem 56 (41,18 %) konstatēta vismaz viena kolorektāla adenoma, bet 80 (58,82 %) adenomas netika atrastas. Šī izplatība atbilst skrīninga populācijās novērotajiem rādītājiem (Lieberman et al., 2007) un ir piemērota agrīnu adenomu izpētei. Adenomu grupas pacienti bija statistiski nozīmīgi vecāki (53,03 ± 5,4 vs 45,61 ± 3,0 gadi; $p < 0,001$), kas saskan ar zināmo vecuma lomu adenomu attīstībā (Leslie et al., 2002). Tāpat adenomas biežāk tika konstatētas vīriešiem ($p = 0,027$), kas atbilst epidemioloģiskajiem datiem (Zhou et al., 2018; Kim et al., 2019). Adenomu grupā biežāk novērota dzīvošana galvaspilsētā ($p < 0,001$), kas var būt saistīta ar pilsētvides faktoriem un mikrobiotas izmaiņām (Sonnenburg & Sonnenburg, 2019; Vangay et al., 2018). Tāpat šajā grupā biežāk bija augstākā izglītība ($p < 0,001$), kas var atspoguļot netiešus dzīvesveida faktorus, piemēram, uzturu vai sēdošu darbu (O'Keefe et al., 2015). Pretēji literatūrai (Wolin et al., 2009), fiziskā aktivitāte biežāk tika novērota adenomu grupā ($p < 0,001$), Šī negaidītā atrade var būt saistīta ar atlikušajiem jaucējfaktoriem, atlases īpatnībām vai fiziskās aktivitātes veida, intensitātes, ilguma un novērtēšanas metodes atšķirībām. Smēķēšanas rādītājā nozīmīgas atšķirības netika konstatētas ($p = 0,28$), iespējams, zemās izplatības dēļ (Botteri et al., 2008), bet ĶMI bija augstāks adenomu grupā ($p = 0,039$), kas atbilst zināmajam riskam (Omata et al.,

2013). Augsts alkohola patēriņš bija ievērojami biežāks adenomu grupā ($p < 0,001$), kas saskan ar literatūru par tā lomu kolorektālo adenomu attīstībā (Bagnardi et al., 2015). Lielākajai daļai pacientu konstatētas zema riska adenomas (85,7 %), pārsvarā tubulāras un vidēja izmēra (5–9 mm), kas atbilst skrīninga datiem (Click et al., 2018). Rezultāti apstiprina, ka adenomu attīstība ir saistīta ar vairāku faktoru mijiedarbību. Papildus tradicionālajiem riska faktoriem nozīmīgs potenciāls ir arī jaunu pieeju integrācijai, tostarp mākslīgā intelekta izmantošanai polipu detekcijā (Vilkoite et al., 2023) un mikrobioma biomarķieriem skrīninga precizitātes uzlabošanai (Vilkoite et al., 2022).

Mikrobioma kompozīcija ģinšu līmenī

Shotgun metagenomiskā analīze 123 pacientiem (AD un CO) atklāja tipisku rietumu populācijai raksturīgu mikrobiomu ar dominējošām ģintīm *Faecalibacterium*, *Bacteroides*, *Blautia_A*, *Alistipes*, *Prevotella* un *Roseburia* (Lozupone et al., 2012; Charbonneau et al., 2016). Starp grupām tika novērotas deskriptīvas mikrobioma kompozīcijas atšķirības. *Faecalibacterium* (butirāta producents ar pretiekaisuma iedarbību) bija samazināts AD grupā, kas saskan ar iepriekšējiem pētījumiem par tā saistību ar iekaisumu un priekšvēža izmaiņām (Cao et al., 2014; Martin et al., 2023). Savukārt acteroides relatīvā sastopamība bija augstāka AD grupā, kas var būt saistīts ar prokarcinogēnu metabolītu veidošanos un iekaisuma aktivāciju (Chen et al., 2014; Cheng et al., 2020).

Arī *Phocaeicola* biežāk konstatēts AD grupā, kas var norādīt uz tā iespējamu lomu iekaisuma un metaboliskos procesos (Hu et al., 2023), savukārt metanogēnais arhejs *Methanomassiliicoccus_A* bija nedaudz biežāks AD grupā (Cisek et al., 2024). Vienlaikus butirātu producējošās ģintis *Blautia_A* un *Gemmiger* bija samazinātas, kas var liecināt par aizsargmehānismu pavājināšanos (Louis et al., 2014). Pretēji dažiem literatūras datiem, *Prevotella* un *Alistipes* būtiski neatšķirās starp grupām (Fu et al., 2024; Lo et al., 2022).

Kopumā novērotās izmaiņas – samazināti butirāta producenti un palielināti potenciāli proinflamatoriski taksoni – norāda uz disbiozi, kas var veicināt adenomu attīstību. Līdzīgas tendences aprakstītas arī *Deng* et al. (2025), kur *Bacteroides* bija bagātināts, bet *Faecalibacterium* samazināts polipu grupā.

Alfa daudzveidība

Alfa daudzveidība raksturo mikroorganismu sugu bagātību un vienmērīgumu vienā paraugā, un tā tiek uzskatīta par mikrobioma stabilitātes un veselības indikatoru (Lozupone et al., 2012). Šajā pētījumā tā tika analizēta, izmantojot Šenona, Simpsona un citus indeksus, salīdzinot pacientus ar kolorektālām adenomām (AD) un kontroles grupu (CO).

Rezultāti neuzrādīja statistiski nozīmīgas atšķirības starp grupām nevienā no rādītājiem, kas liecina, ka adenomu klātbūtne nav saistīta ar kopējās mikrobioma daudzveidības izmaiņām. Šie dati saskan ar citiem pētījumiem, kuros alfa daudzveidība agrīnās kolorektālās karcinoģenēzes stadijās bieži nemainās (Zeller et al., 2014; Deng et al., 2025), lai gan atsevišķos gadījumos aprakstīts neliels samazinājums (Ai et al., 2019).

Iegūtie rezultāti norāda, ka būtiskākas izmaiņas adenomu kontekstā var skart nevis mikrobioma kopējo daudzveidību, bet gan tā taksonomisko sastāvu un funkcionālo potenciālu, īpaši metabolisma ceļos, piemēram, butirāta un citu metabolītu sintēzē.

Beta daudzveidība

Beta daudzveidība raksturo mikrobioma struktūras atšķirības starp indivīdiem un tiek uzskatīta par jutīgāku indikatoru mikrobiotas izmaiņām nekā alfa daudzveidība, īpaši agrīnās kolorektālās karcinoģenēzes stadijās (Zhang et al., 2022; Hale et al., 2016). Beta daudzveidības analīzē tika konstatēta statistiski nozīmīga atšķirība starp grupām (p=0,0002). AD grupas paraugi uzrādīja lielāku izkliedi, kas norāda uz augstāku starpindividuālo mikrobioma variabilitāti, savukārt CO grupai bija raksturīgāks stabilāks un homogēnāks mikrobioma profils. Tas liecina, ka AD grupas paraugi ordinācijas telpā bija izkliedētāki un vairāk pakļauta disbiozei. Taksonomiskā līmenī AD grupā biežāk dominēja ar iekaisumu saistīti mikroorganismi, piemēram, *Prevotella*, *Collinsella* un *Holdemanella*, kas iepriekš saistīti ar zarnu barjeras traucējumiem un proinflamatoriem procesiem (Larsen et al., 2017). Savukārt CO grupā dominēja butirāta producenti, piemēram, *Faecalibacterium prausnitzii* un *Anaerostipes*, kuriem ir būtiska nozīme zarnu homeostāzes uzturēšanā un iekaisuma mazināšanā (Louis et al., 2017). Novērotās izmaiņas – samazināts butirāta producentu īpatsvars un palielināta potenciāli proinflamatorisko taksonu klātbūtne – norāda uz mikrobioma strukturālu pārbīdi disbiozes virzienā, kas var veicināt preneoplastisku vidi resnajā zarnā. Šie rezultāti saskan ar *Deng* et al. (2025), kur arī tika konstatētas statistiski nozīmīgas beta daudzveidības atšķirības un nelabvēlīgas mikrobiotas izmaiņas pacientiem ar kolorektāliem polipiem. Kopumā iegūtie dati apstiprina, ka mikrobioma strukturālās izmaiņas var būt nozīmīgs agrīns indikators kolorektālo adenomu attīstībā un potenciāls biomarķieris personalizētai skrīninga pieejai.

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

Diferenciālās sastopamības analīze ir būtiska mikrobioma pētījumos, jo tā ļauj identificēt taksonus, kuru relatīvā sastopamība atšķiras starp pacientiem ar kolorektālām adenomām (AD) un kontroles grupu (CO) (Gloor et al., 2017; Weiss et al., 2017). Šī pieeja palīdz noteikt potenciāli patogēnus vai aizsargājošus mikroorganismus un sniedz ieskatu

slimības mehānismos. Analīzē izmantoti *shotgun* metagenomikas dati, kas nodrošina augstu precizitāti un samazina tehnisko artefaktu ietekmi. Taksonu salīdzināšanai tika pielietoti lineārie modeļi (MaAsLin2, limma), ņemot vērā traucējošos faktorus (piemēram, vecumu, ĶMI), kā arī veikta vairāku testu korekcija ar FDR. Rezultātu interpretācijā izmantots *log fold change* (logFC): pozitīvs logFC norāda lielāku taksona sastopamību konkrētā grupā, negatīvs samazinātu. MaAsLin2 analīzē q <0,25 tika izmantots kā eksploratīvais slieksnis. limma diferenciālās sastopamības analīzē UBA7597 sp003448195 saglabāja statistiski nozīmīgu asociāciju pēc FDR korekcijas (FDR=0,0023). Kopumā analizēti 123 pacientu 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.

UBA7597 sp003448195 AD grupā ir sastopama biežāk; p vērtība 1,03E-06 vēl vairāk apstiprina to, ka pastāv liela atšķirība starp grupām, kas apstiprina apgalvojumu par būtisku atšķirīgu sastopamību.

UBA7597 sp003448195 ir biežāk sastopams pacientiem ar kolorektālām adenomām. Pieaugums ir statistiski nozīmīgs, un koriģētā p vērtība apstiprina šī rezultāta ticamību.

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 pilnībā noskaidrotas. Ņemot vērā tās statistisko nozīmību un konsekvento klātbūtni tikai vienā grupā, tā var kalpot kā potenciāls biomarķieris vai indikators mikrobioma disbiozei kolorektālu adenomu attīstības kontekstā. *UBA7597 sp003448195* pašlaik vērtējams kā potenciāls mikrobioma biomarķiera kandidāts. Tā relatīvā sastopamība bija statistiski nozīmīgi augstāka adenomu grupā, taču atrade nav validēta neatkarīgā kohortā, nav noteikti diagnostiskie robežlielumi, jutība vai specifiskums un nav pierādīta prognostiska nozīme. Kopumā šī analīze atklāj vienu diferenciāli sastopamu mikroorganismu ar iespējamu diagnostisko vai pat patoģenētisko nozīmi. Iegūtie rezultāti uzsver vajadzību pēc turpmākas *UBA7597 sp003448195* validācijas lielākās un neatkarīgās kohortās.

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 mikroorganisma genoms (MAG) (*Metagenome Assembled Genome*), kas pieder pie mazaprakstīto anaerobo baktēriju grupām un līdz šim nav kultivēts laboratorijā vai pilnībā fenotipiski raksturots. Tādēļ tā oficiālais taksonomisks

nosaukums, kā arī ģenētiskā un funkcionālā precīza 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 procesiem 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. Tā kā *UBA7597 sp003448195* tika konstatēts ar stingru statistisko nozīmību pēc FDR korekcijas (FDR = 0,0023), tā konsekventā asociācija ar adenomu statusu liek uzskatīt šo MAG par potenciālu diagnostisku vai prognostisku mikrobioma biomarķieri agrīnai kolorektālo adenomu identifikācijai.

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 novērotas atsevišķas līdzīgas taksonomiskās tendences, kuras papildināja funkcionālo ceļu analīze. Kopumā šīs atrades atbalsta turpmāku mikrobiotas kompozicionālo izmaiņu izpēti pacientiem ar kolorektāliem polipiem un adenomām.

Mikroorganismu ģintis ar būtiskām relatīvās sastopamības atšķirībām pētījumā analizēto faktoru ietekmē

Mikrobiotas sastāva izmaiņu analīze atkarībā no klīniskiem un demogrāfiskiem faktoriem tika veikta, izmantojot lineārus jauktu efektu modeļus (MaAsLin2), kas ļauj ņemt vērā traucējošos mainīgos un nodrošina precīzāku rezultātu interpretāciju (Mallick et al., 2021; Gloor et al., 2017).

Izteiktākā asociācija tika konstatēta *Collinsella sp.*, kurai novērota statistiski nozīmīga negatīva saistība ar gastrītu un GERS. Ņemot vērā šīs ģints saistību ar lipīdu metabolismu un zarnu gļotādas funkciju, tās samazinājums var atspoguļot mikrobioma izmaiņas iekaisuma un augšējā gremošanas trakta slimību kontekstā (Gomez et al., 2018). Līdzīgas, bet pēc FDR korekcijas nenozīmīgas tendences tika novērotas arī *Dialister* un *Parolsenella* gadījumā, kas norāda uz iespējamu, bet vēl nepierādītu šo taksonu lomu (Duvallet et al., 2017).

Attiecībā uz ĶMI tika konstatētas negatīvas asociācijas ar *Holdemania*, *Lawsonibacter* un *RC9*, kas var liecināt par šo taksonu samazināšanos, ja ir augstāks ķermeņa masas indekss. Šādas tendences saskan ar iepriekšējiem pētījumiem, kuros aprakstītas mikrobiotas izmaiņas aptaukošanās gadījumā, īpaši saistībā ar īso ķēžu taukskābju metabolismu (Dao et al., 2016).

Dzimumatkarīgas atšķirības tika novērotas *Ruminococcus sp.* gadījumā, kas biežāk sastopams vīriešiem, iespējams, hormonālu un imunoloģisku faktoru ietekmē (Wu et al., 2024). Savukārt *Sutterella faecalis* biežāk tika konstatēta smēķētājiem, kas saskan ar datiem par smēķēšanas ietekmi uz zarnu mikrobiotu, īpaši saistībā ar gļotādas caurlaidību un imūno atbildi (Allais et al., 2016).

Lai gan daļa identificēto asociāciju nesasniedza statistisko nozīmīgumu pēc vairākkārtējas testēšanas korekcijas, novērotās tendences ir bioloģiski pamatotas un saskan ar literatūru. Tās var kalpot par pamatu turpmākiem pētījumiem un potenciāliem mikrobioma biomarķieriem personalizētā medicīnā. 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)

Abi ceļi- PWY-7371 (1,4-dihidroksi-6-naftoāta biosintēze II) un PWY-7992 (menahinola-8 biosintēzes superceļš) bija bagātīgāki CO grupā (koeficienti attiecīgi +1,57 un +1,52; FDR = 0,1455 abiem). Menahinons ir būtisks bakteriālās elpošanas komponents, kas darbojas kā elektronu transportētājs un ir iesaistīts gan baktēriju metabolismā, gan saimniekorganisma iekaisuma un oksidatīvā līdzsvara regulācijā (Brooijmans et al., 2009). Šo ceļu zemāka relatīvā pārstāvība AD grupā var norādīt uz samazinātu menahinona biosintēzes funkcionālo potenciālu tajās mikroorganismu grupās, kurās šie ceļi ir pārstāvēti. Tā kā metagenomiskā analīze raksturo funkcionālo potenciālu, šie dati neļauj tieši secināt par faktisko K2 sintēzes aktivitāti vai K2 koncentrāciju

Menahinons ir nozīmīgs elektronu nesējs baktēriju elpošanas ķēdēs. Šajā pētījumā PWY-7371 un PWY-7992 zemāka relatīvā pārstāvība adenomu grupā norāda uz samazinājuma tendenci menahinona biosintēzes funkcionālajā potenciālā tajās mikroorganismu grupās, kurās šie ceļi ir pārstāvēti. Shotgun metagenomiskā analīze raksturo gēnu un metabolisma ceļu potenciālu, nevis faktisko metabolisma aktivitāti vai metabolītu koncentrāciju. Tādēļ iegūtie rezultāti nepierāda samazinātu K_2 vitamīna sintēzi vai K_2 deficītu un interpretējami kā eksploratīvs, hipotēzi ģenerējošs funkcionāls signāls, kas turpmāk validējams ar metabolomikas, metatranskriptomikas 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) – uzrādīja zemāku relatīvo pārstāvību 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 zemāku anaerobo aminoskābju

metabolisma funkcionālā potenciāla tendenci, 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 var norādīt uz samazinātu propionāta biosintēzes funkcionālo potenciālu (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. Visu sešu ceļu konsekventais izmaiņu virziens veido bioloģiski interesantu eksploratīvu signālu, kam nepieciešama validācija neatkarīgās kohortās. Tas atbilst iepriekš aprakstītajām disbiozes pazīmēmkolorektālās karcinoģenēzes agrīnajos posmos (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 saskan ar šo konceptu un norāda uz iespējamu mikrobioma funkcionālā potenciāla izmaiņu nozīmi. Īpaši nozīmīgi ir novērotie traucējumi vielmaiņas procesos, kas saistīti ar mikroorganismu enerģijas ražošanu, zarnu epitēlija veseluma nodrošināšanu un zema līmeņa iekaisuma regulāciju. Visu sešu bioloģiski saistīto ceļu konsekventais izmaiņu virziens veido eksploratīvu funkcionālu signālu, kura bioloģiskā nozīme jāpārbauda neatkarīgās kohortās un ar tiešām funkcionālām metodēm.

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 līdzīgu tendenci atspoguļoja funkciju anotācija ar HUMAnN3. Šie rezultāti norāda uz mikrobioma funkcionālajām izmaiņām kā nozīmīgu KRV patoģenēzes komponenti.

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. Pacientiem ar kolorektālām adenomām konstatēts atšķirīgs demogrāfiskais un dzīvesveida profils: viņi bija statistiski nozīmīgi vecāki, ar augstāku ĶMI, biežāk dzīvoja galvaspilsētā, biežāk bija ar augstāko izglītību un biežāk norādīja augstu alkohola patēriņu. Vīriešu īpatsvars adenomu grupā bija skaitliski augstāks, taču, balstoties uz tabulā norādītajiem absolūtajiem skaitļiem, atšķirība nesasniedza statistisko nozīmīgumu. Negaidīti fiziski aktīvo indivīdu īpatsvars bija lielāks adenomu grupā (73,2 % vs. 17,5 %; $p < 0,001$); šī atrade interpretējama piesardzīgi, ņemot vērā iespējamu jaucējfaktoru, atlases īpatnību un fiziskās aktivitātes raksturojuma ietekmi.
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 *UBA7597 sp003448195* bija vienīgā taksonomiskā vienība, kas saglabāja statistiski nozīmīgu asociāciju pēc FDR korekcijas. Tās relatīvā sastopamība bija augstāka adenomu grupā; tomēr bioloģiskā funkcija vēl ir nepietiekami raksturota, tādēļ *UBA7597 sp003448195* pašlaik vērtējams kā potenciāls biomarķiera kandidāts, kam nepieciešama neatkarīga validācija.
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. Adenomu grupā tika novērota samazinājuma tendence vairāku mikrobioma metabolisma ceļu funkcionālajā potenciālā, tostarp menahinona biosintēzes, *Stickland* alanīna fermentācijas un degradācijas, kā arī propionāta veidošanās ceļos. Neviens no šiem ceļiem nesasniedza konvencionālo FDR <0,05 slieksni, tādēļ atrades interpretējamas kā eksploratīvas, hipotēzi ģenerējošas funkcionālas 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. Šie ceļi ir saistīti ar anaerobo aminoskābju metabolismu un enerģijas ieguves procesiem, tādēļ to zemāka relatīvā pārstāvība var atspoguļot atsevišķu anaerobo mikroorganismu grupu funkcionālā potenciāla izmaiņas.
8. PWY-5494 ceļa zemāka relatīvā pārstāvība adenomu grupā var liecināt par samazinātu propionāta biosintēzes funkcionālo potenciālu. Tā kā propionāts ir viena no īso ķēžu taukskābēm, šī atrade ir bioloģiski interesanta, taču tai nepieciešama validācija neatkarīgās kohortās un tieša metabolītu analīze.

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. Turpmākajos pētījumos metagenomiskā analīze būtu papildināma ar mērķētu metabolomiku, lai šos metabolītus noteiktu tieši. 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, būtu prospektīvi izvērtējamas attiecībā uz to spēju modificēt mikrobioma sastāvu un funkcionālo potenciālu, kā arī iespējamo saistību ar adenomu recidīvu vai 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 būtu prospektīvi izvērtējama kā neinvazīva pieeja mikrobioma kompozīcijas un metabolisma funkciju modificēšanai indivīdiem ar paaugstinātu kolorektālu neoplāziju risku. 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.

Publikāciju, ziņojumu un patentu saraksts 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

Literatūras un avotu saraksts

1. 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.
2. 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. PMID:31068913; PMCID:PMC6491826.
3. Aitchison, J. (1982). The statistical analysis of compositional data. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological).*;44(2):139–177.
4. 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.
5. Almeida, A., Mitchell, A. L., Boland, M., et al. (2021). A unified catalog of 204,938 reference genomes from the human gut microbiome. *Nature Biotechnology.*;39:105–114.
6. Almeida, A., Nayfach, S., Boland, M., et al. (2021). A unified catalog of 204,938 reference genomes from the human gut microbiome. *Nature Biotechnology.*;39:105–114. doi:10.1038/s41587-020-0603-3.
7. 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/.
8. 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.
9. 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.
10. 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. PMID:19088354.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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
16. 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. PMID:24799893; PMCID:PMC3985188.
17. 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.

18. 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. PMID:39483461; PMCID:PMC11524876.

19. 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.

20. 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/mjms 2020.27.4.2. PMID:32863742; PMCID:PMC7444842.

21. 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.

22. 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. PMID:29800214; PMCID:PMC6583246.

23. 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.

24. 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.

25. 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.

26. 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.

27. 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 USA.*;111(22):E2329–E2338. doi:10.1073/pnas.1319284111.

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

29. Franzosa, E. A., Sirota-Madi, A., Avila-Pacheco, J., 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.

30. 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. PMID:39331213; PMCID:PMC11436608.

31. 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.

32. 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.

33. 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:10.1080/19490976. 2017.1406584.

34. 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.

35. 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.

36. 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. PMID:22609383.

37. 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.

38. 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.

39. 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.

40. 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. PMID:31211708.

41. 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.

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

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

44. Larsen, J. M. (2017). The immune response to Prevotella bacteria in chronic inflammatory disease. *Immunology.*;151(4):363–374. doi:10.1111/imm.12760. PMID:28542929; PMCID:PMC5506432.

45. 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. PMID:12081733.

46. 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.

47. 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. PMID:17698067.

48. Lilliefors, H. W. (1967). On the Kolmogorov-Smirnov test for normality with mean and variance unknown. *Journal of the American Statistical Association.*;62(318):399–402. doi:10.2307/2283970.

49. 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.

50. 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.

51. 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.

52. 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.

53. 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.

54. 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. PMID:27928878.

55. 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.

56. 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.

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

58. 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.

59. 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.

60. 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. PMID:37451743; PMCID:PMC10410495.

61. MGI Tech Co., Ltd. (n.d.). DNBSEQ-G400RS High-throughput Sequencing Platform. Available from: https://en.mgi-tech.com.

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

63. 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.

64. 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. PMID:25919227; PMCID:PMC4415091.

65. 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. PMID:31433515; PMCID:PMC7003895.

66. 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.

67. 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. PMID:23130996.

68. 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.

69. 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.

70. Pedregosa, F., Varoquaux, G., Gramfort, A., et al. (2011). Scikit-learn: Machine learning in Python. *Journal of Machine Learning Research.*;12:2825–2830.

71. 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/.

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

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

74. 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.

75. 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.

76. 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. PMID:31089293.

77. 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.

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

79. 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.

80. 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. PMID:30388453; PMCID:PMC6498444.

81. 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.

82. 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.

83. 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.

84. 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. PMID:19209175; PMCID:PMC2653744.

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

86. 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.

87. 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. PMID:25432777; PMCID:PMC4299606.

88. 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. PMID:36406447; PMCID:PMC9668862.

89. 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. Chinese. PMID:29968244.

90. 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.