

УДК 579.61:[616.33-002:579.835.12]-08

<https://doi.org/10.51523/2708-6011.2024-21-4-10>

Изменения микробиоты желудка на фоне эрадикационной терапии *Helicobacter pylori* у пациента с гастритом

Е. В. Воропаев¹, О. В. Осипкина¹, А. А. Ковалёв¹, А. С. Шафорост¹,
А. А. Зятыков¹, А. В. Воропаева², Н. И. Шевченко², Ю. А. Назарчук³, И. О. Стома¹

¹Гомельский государственный медицинский университет, г. Гомель, Беларусь

²Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, г. Гомель, Беларусь

³Гомельская городская клиническая больница № 4, г. Гомель, Беларусь

Резюме

Цель исследования. С использованием метода высокопроизводительного секвенирования, основанного на анализе переменных регионов гена 16s рРНК, оценить динамические изменения микробиоты желудка на фоне эрадикационной терапии *Helicobacter pylori* у пациента с гастритом.

Материалы и методы. Пациент (мужчина, 57 лет) с хроническим ассоциированным с *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) умеренновыраженным умеренноактивным гастритом антрума и тела желудка без атрофии и метаплазии. Первичная резистентность *H. pylori* к кларитромицину по результатам полимеразной цепной реакции отсутствует. Для исследования микробиоты желудка использовался метод высокопроизводительного секвенирования, основанный на анализе переменных регионов гена 16S рРНК. Эрадикацию *H. pylori* проводили по схеме: амоксициллин, кларитромицин, омепразол. В исследование включены образцы биоптатов слизистой оболочки желудка (СОЖ), полученные из неизменной ткани (N) и патологически измененной ткани (P) на различных этапах лечения на протяжении 12 месяцев. Таксономическую идентификацию прочтений проводили с использованием программного пакета DRAGEN Metagenomics (алгоритм Kraken2).

Результаты. Отрицательная динамика альфа-разнообразия микробиома желудка (в 5,8 раза) отмечена у пациента без лечения при оценке неизменной ткани СОЖ. При использовании антибиотикотерапии отмечено увеличение альфа-разнообразия микробиоты желудка более чем в 8 раз.

Заключение. Анализ данных таксономического разнообразия микробиоты желудка в морфологически различных образцах СОЖ на различных этапах терапии свидетельствует о положительных изменениях динамического состава микробиоты желудка в процессе лечения, что подтверждается снижением относительной представленности *H. pylori*. При использовании терапии, основанной только на ингибиторах протонной помпы, снизить количество *H. pylori* удастся незначительно. Динамика альфа-разнообразия микробиоты желудка связана с морфологическим состоянием ткани и без применения терапии имеет значительную и достаточно быструю тенденцию к существенному снижению (в 2 раза менее чем за два месяца). При использовании стандартной эрадикационной терапии первой линии на основе кларитромицина удастся достичь снижения *H. pylori* до минимальных количеств, но полной эрадикации не происходит.

Ключевые слова: *H. pylori*, эрадикационная терапия, высокопроизводительное секвенирование, 16S рРНК, антибиотикорезистентность, динамический состав микробиоты желудка

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочитали и одобрили финальную версию для публикации.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источники финансирования. Исследование проведено в рамках выполнения проекта «Изучить особенности микробиоты различных биотопов организма человека в норме и при патологических состояниях, оценить ее значение в развитии связанных с ними заболеваний», рег. № НИОКТР 20220463, Государственная программа научных исследований «Трансляционная медицина», подпрограмма 4.2 «Фундаментальные аспекты медицинской науки».

Для цитирования: Воропаев ЕВ, Осипкина ОВ, Ковалёв АА, Шафорост АС, Зятыков АА, Воропаева АВ, Шевченко НИ, Назарчук ЮА, Стома ИО. Изменения микробиоты желудка на фоне эрадикационной терапии *Helicobacter pylori* у пациента с гастритом. Проблемы здоровья и экологии. 2024;21(4):91–102. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2024-21-4-10>

Changes in gastric microbiota associated with *Helicobacter pylori* eradication therapy in a patient with gastritis

Evgenii V. Voropaev¹, Olga V. Osipkina¹, Alexey A. Kovalev¹, Alexander S. Shaforost¹, Aliaksei A. Ziatskov¹, Alla V. Voropaeva², Natalia I. Shevchenko², Yury A. Nazarchuk³, Igor O. Stoma

¹Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

²Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Belarus

³Gomel City Clinical Hospital No. 4, Gomel, Belarus

Abstract

Objective. To evaluate dynamic changes in the gastric microbiota against the background of *Helicobacter pylori* eradication therapy in a patient with gastritis using the method of high-throughput sequencing based on the analysis of variable regions of the 16S rRNA gene.

Materials and methods. The patient (male, 57 years old) with chronic associated *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) moderately severe and moderately active gastritis of the antrum and body of the stomach without atrophy and metaplasia. There is no primary resistance of *H. pylori* to clarithromycin according to polymerase chain reaction results. Next generation sequencing method based on the analysis of variable regions of the 16S rRNA gene was used to study the gastric microbiota. *H. pylori* eradication was performed according to the following scheme: amoxicillin, clarithromycin, omeprazole. The study included gastric mucosa (GM) biopsy samples obtained from unchanged tissue (N) and pathologically altered tissue (P) at different stages of treatment during 12 months. Taxonomic identification of reads was performed using the DRAGEN Metagenomics software package (Kraken2 algorithm).

Results. Negative dynamics of alpha-diversity of gastric microbiome (by 5.8 times) was noted in the patient without treatment when assessing the unchanged tissue of the stomach. When antibiotic therapy was used, an increase in alpha-diversity of the gastric microbiota by more than eight times was noted.

Conclusion. Analysis of the data of taxonomic diversity of gastric microbiota in morphologically different samples of the gastric microbiota at different stages of therapy indicates positive changes in the dynamic composition of the gastric microbiota in the course of treatment, which is confirmed by a decrease in the relative representation of *H. pylori*. When using therapy based only on proton pump inhibitors, the number of *H. pylori* is not significantly reduced. The dynamics of alpha-diversity of gastric microbiota is related to the morphological state of the tissue, and without the use of therapy has a significant and rather rapid tendency to a significant decrease (2-fold in less than two months). It is possible to achieve reduction of *H. pylori* to minimal amounts using standard first-line eradication therapy based on clarithromycin, but complete eradication does not occur.

Keywords: *H. pylori*, eradication therapy high-throughput sequencing, 16S rRNA, antibiotic resistance, dynamic composition of gastric microbiota

Author contributions. All authors contributed substantially to the research and analysis work and preparation of the article, read and approved the final version for publication.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study was carried out within the project «To study the features of microbiota of different biotopes of the human body in norm and pathological conditions, to assess its significance in the development of related diseases» State registration number: 20220463 State programme of scientific research «Translational Medicine», subprogramme 4.2 «Fundamental Aspects of Medical Science».

For citation: Voropaev EV, Osipkina OV, Kovalev AA, Shaforost AS, Zyatkov AA, Voropaeva AV, Shevchenko NI, Nazarchuk YuA, Stoma IO. Changes in gastric microbiota associated with *Helicobacter pylori* eradication therapy in a patient with gastritis. *Health and Ecology Issues*. 2024;21(4):91–102. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2024-21-4-10>

Введение

H. pylori является первым официально признанным в 1994 г. Международным агентством по исследованию рака бактериальным канцерогеном первого порядка и одним из наиболее успешных патогенов человека, поскольку более половины населения мира инфицировано этой граммотрицательной бактерией, колонизация которой в отсутствие адекватного лечения может сохраняться на протяжении всей жизни [1–3].

Инфекция, вызванная данным патогеном, играет важную роль в развитии заболеваний верхних отделов желудочно-кишечного тракта, таких как гастрит, язвенная болезнь, аденокарцинома желудка и MALT-лимфома [4].

Достаточно часто терапевтические подходы, направленные на эрадикацию *H. pylori*, основываются на специфической терапии первой очереди при использовании комбинированного набора антибактериальных препаратов системного дей-

ствия, таких как амоксициллин, кларитромицин, а также препарата, снижающего кислотность желудка — омепразола [5]. Амоксициллин является бета-лактамым антибактериальным препаратом группы пенициллинов широкого спектра действия, кларитромицин — полусинтетический антибиотик группы макролидов, омепразол относится к препаратам, называемым ингибитором протонной помпы [6]. В то же время важной проблемой в лечении инфекции *H. pylori* является устойчивость к антибиотикам [7]. За последние 20 лет антибиотикорезистентность *H. pylori* постоянно росла в различных странах [8], в связи с чем предварительная оценка резистентности к назначаемым антибактериальным препаратам и отказ от эмпирической антибиотикотерапии *H. pylori*, безусловно, является важной задачей [9].

Эффективная эрадикация *H. pylori* способствует заживлению язв, снижению ежегодной частоты рецидивов и связанных с ними осложнений, таких как кровотечение и перфорация [10], для язвы желудка — на 69 %, а для язвы двенадцатиперстной кишки — на 80 % [10], кроме того, снижается вероятность развития рака желудка [11]. Состав микробиоты желудка также изменяется при использовании терапии на основе ингибиторов протонной помпы и при раке желудка [12].

Желудок человека содержит сложную микробиоту, в основном состоящую из представителей типов *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и *Fusobacteria*, как у *H. pylori*-положительных, так и у *H. pylori*-отрицательных, но с разным процентом относительной численности [13]. Наличие *H. pylori* оказывает значительное влияние на состав и альфа-разнообразие микробиоты желудка, обычный подход к оценке которого заключается в анализе изменений разнообразия сообщества (разнообразие и обилия организмов в сообществе), в том числе с течением времени [14]. Колонизация бактериями, отличными от *H. pylori*, может способствовать сохранению хронического воспаления и повышению риска рака желудка.

Таким образом, при проведении терапии, направленной на эрадикацию *H. pylori*, происходят значительные изменения в составе всей микробиоты желудка, оценка которых представляет значительный интерес для подбора схем адекватного лечения [15].

Цель исследования

С использованием метода высокопроизводительного секвенирования, основанного на анализе переменных регионов гена 16S рРНК, оценить динамические изменения микробиоты желудка на фоне эрадикационной терапии *H. pylori* у пациента с гастритом.

Материалы и методы

Пациент В., мужчина в возрасте 57 лет на начало исследования, с диагнозом, выставленным по результатам эндоскопии. Для оценки выраженности гастрита использовалась оперативная система оценки гастритов — OLGА (Operative Link on Gastritis Assessment) [16]. Патогистологическое заключение: «Хронический умеренно выраженный умеренно активный дуоденит. Хронический умеренно выраженный умеренно активный гастрит антрума и тела желудка без атрофии и метаплазии, с гиперплазией лимфоидных фолликулов со светлыми центрами (в антральном отделе), Нр+ (единичны). Аас = 0. Стадия гастрита — 0 (OLGA)».

Этапы эндоскопического обследования включали в себя период до лечения, в течение которого взятие биоптата осуществлялось дважды с двухмесячным интервалом. Далее были использованы две схемы лечения в динамике: лечение только ингибиторами протонной помпы, используемое лекарственное средство — пантопразол в течение 10 дней и лечение комбинацией препаратов для эрадикации *H. pylori*: кларитромицин, амоксициллин, омепразол в течение 14 дней. Интервал между окончанием антибиотикотерапии и забором биоптата составил один месяц. Другой антибиотикотерапии на протяжении данного исследования пациент не получал. В исследование были включены образцы биоптатов СОЖ, полученные из неизменной ткани (N) и патологически измененной ткани (P) на различных этапах лечения. На начальном этапе терапии у *H. pylori* отсутствовала устойчивость к кларитромицину в регионе 23S рРНК (мутации А2143G, А2142G и А2142С) по результатам полимеразной цепной реакции в реальном времени [17]. Присутствие *H. pylori*, кроме морфологического метода, подтверждалось с помощью ПЦР и высокопроизводительного секвенирования переменных регионов гена 16S рРНК. Морфологическая картина СОЖ при последующих биопсиях не изменялась.

Изучение микробного разнообразия желудка пациента с гастритом проводилось с помощью высокопроизводительного секвенирования на основе анализа переменных регионов гена 16S рРНК. В стерильные пробирки с транспортной средой были отобраны образцы биоптатов желудка, полученные из неизменной ткани (N) и патологически измененной ткани (P) СОЖ, с последующей экстракцией ДНК с использованием коммерческого набора NucleoSpin DNA Stool (Macherey-Nagel, Германия), адаптированных для высокопроизводительного секвенирования. Концентрацию и оценку качества ДНК измеряли на спектрофотометре NanoDrop

1000 (ThermoFisher Scientific, США). Для дальнейшего анализа использовали образцы, для которых соотношение экстинкций составляло: $A_{260}/A_{280} \geq 1,67$, $A_{260}/A_{230} \geq 1,90$. Исследование состава микробиоты проводили методом высокопроизводительного секвенирования на платформе Illumina MiSeq согласно руководству по пробоподготовке образцов для секвенирования фрагмента гена 16S рНК прокариот, включающему ряд этапов:

- Обогащение и целевая ПЦР. Обогащение проводили с использованием универсальных праймеров (V1–V5-прямой: agagtttgatcctggctcag, V1–V5-обратный: ccgtcaattcctttagttt), охватывающих регионы V1-V5 гена 16S рНК прокариот и ПЦР-смеси с высокоточной ДНК-полимеразой (2,5x Flash MasterMix, ООО «Артбиотех», Республика Беларусь), для увеличения количества копий гена 16S рНК. На полученных ампликонах амплифицировали гипервариабельные регионы V3–V4 гена 16S рНК прокариот (целевую ПЦР) с использованием ПЦР-смеси с высокоточной ДНК-полимеразой (2,5x Flash MasterMix, ООО «Артбиотех», РБ) и набора праймеров на V3–V4 регион гена 16S: прямой V3–V4: 5'cgtcggcagcgtcagatgtgtataagagacagcctacggnggcwgcag'3, обратный V3–V4: 5'gtctcgtgggctcggagatgtgtataagacagagactachvggtatctaattcc'3.

- Оценка результата целевой ПЦР. Выполнялась проведением электрофоретического разделения нуклеиновых кислот. Для образцов с выявленной на электрофореграмме зоной (около 550 п. н. (пар нуклеотидов)) проводили очистку продуктов целевой ПЦР с использованием магнитных частиц AMPure XP (Beckman Coulter, США) и нормализацию концентрации образцов.

- Индексная ПЦР. Для проведения индексной ПЦР использовали смесь 2,5x Flash Master Mix (ООО «Артбиотех», Республика Беларусь) и набор индексов Nextera XT Index Kit v2 Set A (Illumina, США), который позволяет увеличить количество исследуемых образцов до 96 штук в одном запуске.

- Очистка продуктов индексной ПЦР. Очистку проводили магнитными частицами AMPure XP (Beckman Coulter, США).

- Оценка результата индексной ПЦР. Проводилась путем электрофоретического разделения нуклеиновых кислот и выявления зоны около 630 п. н. на электрофореграмме. Выполняли измерение концентрации ДНК с использованием флуориметра Qubit 4 с использованием набора 1X dsDNA High Sensitivity (Thermo Fisher Scientific, США).

- Нормализация концентрации образцов после индексной ПЦР. Приготовление образца для секвенирования проводили путем эквимолярного объединения нормализованных образцов после индексной ПЦР.

- Приготовление образца для секвенирования с заданной концентрацией для проведения высокопроизводительного секвенирования.

- Настройка высокопроизводительного секвенатора.

Для данных, полученных в ходе высокопроизводительного секвенирования, проводился биоинформатический анализ, позволяющий провести таксономическую идентификацию прочтений с использованием программного пакета DRAGEN Metagenomics (алгоритм Kraken2) [18].

Альфа-разнообразие оценивалось с использованием четырех подходов [14]: разнообразие, наблюдаемое в настоящее время (Observed), индекс Шеннона (Shannon), индекс Симпсона (Simpson), индекс Chao1.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования оценивалась динамика изменения альфа-разнообразия микробиоты желудка до лечения и после лечения. Данные представлены в виде таблиц 1 и 2, рисунков 1 и 2.

Образцы забирали на протяжении 12 месяцев с различными интервалами (рисунки 1 и 2, таблицы 1 и 2).

Таблица 1. Значения альфа-разнообразия в образцах пациента до и после лечения (образцы, полученные из неизменной (N) ткани)

Table 1. Alpha diversity values in patient samples before and after treatment (samples obtained from unaltered (N) tissue)

Образец (дата забора)	Показатель оценки альфа-разнообразия				Этапы оценки
	Observed	Shannon	Simpson	Chao1	
4448N (08.04.2022)	99	1,8830	0,5939	99,75	До лечения
4683N (02.06.2022)	55	0,3748	0,1023	55,00	До лечения
4834N (15.06.2022)	85	1,4927	0,4727	85,00	Пантопразол – 10 дней
6112-1N (15.03.2023)	103	3,1673	0,9046	103,00	*ЭР – 14 дней
6112-3N (15.03.2023)	107	3,0728	0,8883	107,00	*ЭР – 14 дней

*ЭР — эрадикационная терапия *H. pylori* на основе комбинации препаратов: кларитромицин, амоксициллин, омепразол.

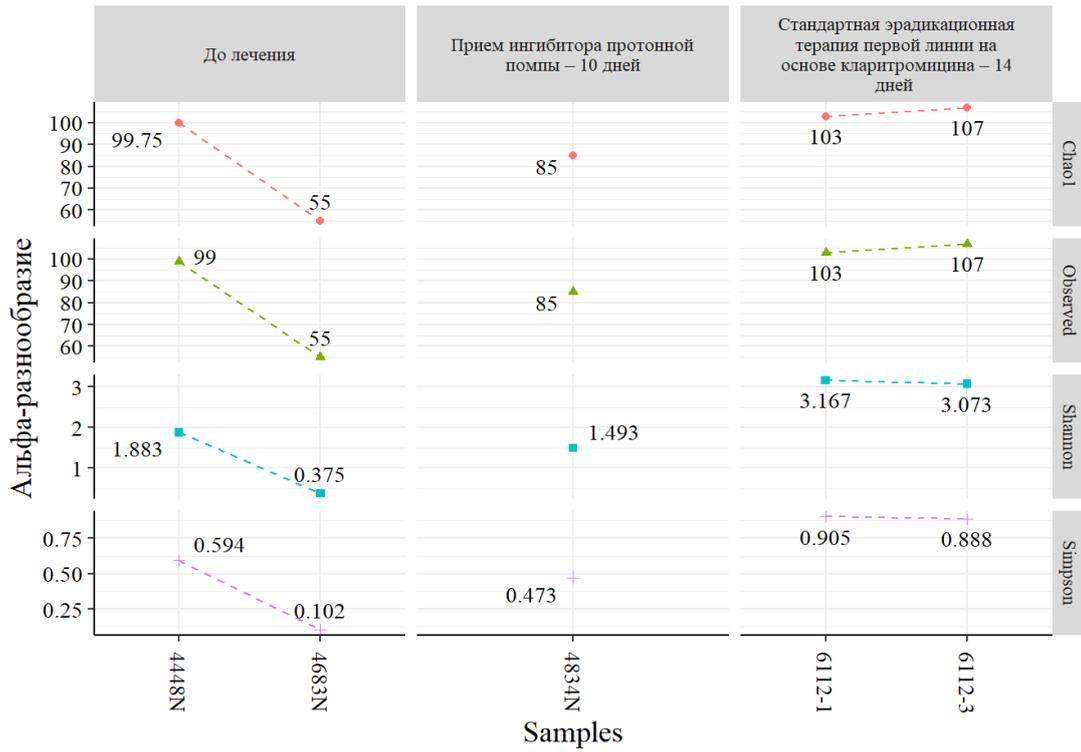


Рисунок 1. Динамика изменения альфа-разнообразия в образцах пациента, полученных из неизменной ткани (N) до и после лечения

Figure 1. Dynamics of alpha diversity changes in patient samples obtained from unaltered tissue (N) before and after treatment

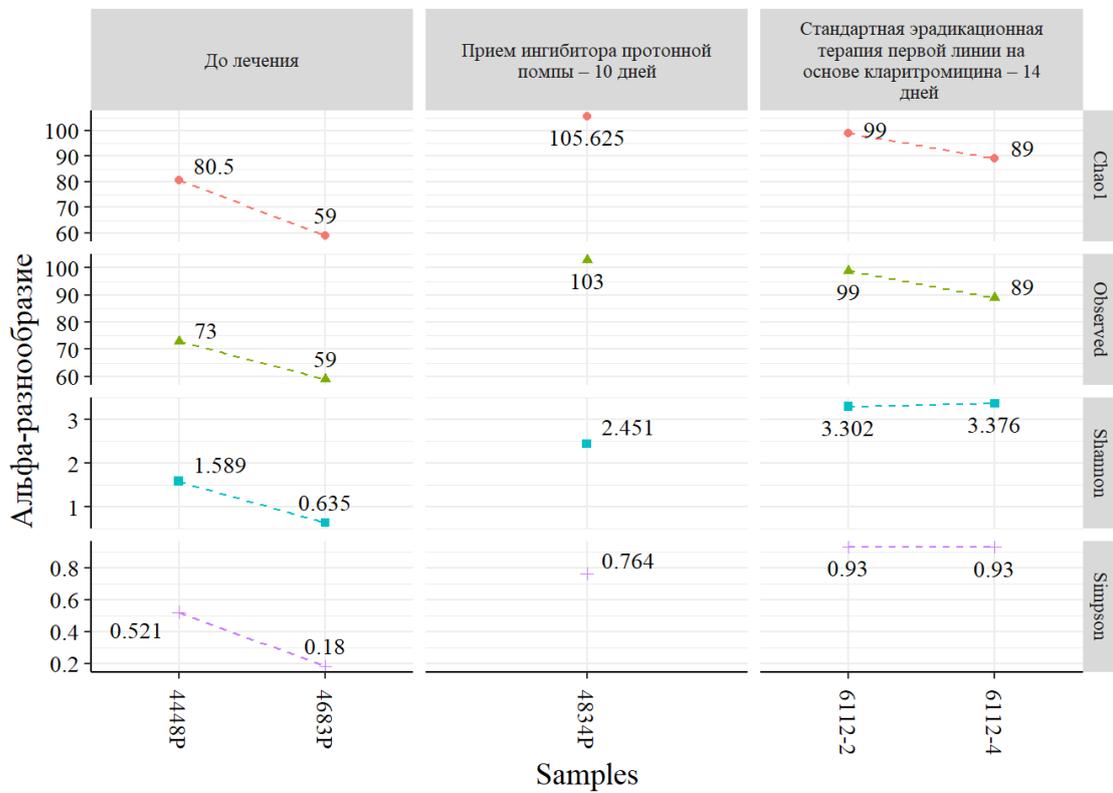


Рисунок 2. Динамика изменения альфа-разнообразия в образцах пациента, полученных из патологически измененной ткани (P) до и после лечения

Figure 2. Dynamics of alpha diversity changes in patient samples obtained from pathologically altered tissue (P) before and after treatment

Таблица 2. Значения альфа-разнообразия в образцах пациента до и после лечения (образцы, полученные из патологически измененной (P) ткани)

Table 2. Alpha diversity values in patient samples before and after treatment (samples obtained from pathologically altered (P) tissue)

Образец (дата забора)	Показатель оценки альфа-разнообразия				Этапы оценки
	Observed	Shannon	Simpson	Chao1	
4448P (08.04.2022)	73	1,5889	0,5207	80,500	До лечения
4683P (02.06.2022)	59	0,6346	0,1801	59,000	До лечения
4834P (15.06.2022)	103	2,4510	0,7638	105,625	Пантопразол — 10 дней
6112-2 P (15.03.2023)	99	3,3021	0,9303	99,000	*ЭР — 14 дней
6112-4 P (15.03.2023)	89	3,3755	0,9299	89,000	*ЭР — 14 дней

* ЭР — эрадикационная терапия *H. pylori* на основе комбинации препаратов: кларитромицин, амоксициллин, омепразол.

Как видно из представленных данных, уровень альфа-разнообразия зависел от длительности времени без терапии (два месяца) и от использованных терапевтических подходов и менялся динамически в неизменной (N) и в патологически измененной (P) тканях. Интересно отметить, что менее чем за два месяца без проведения терапии наблюдалось снижение уровней альфа-разнообразия, связанное с увеличением рода *H. pylori* как в неизменной (N), так и в патологически измененной (P) тканях.

При использовании метода Simpson при оценке альфа-разнообразия микробиома желудка наибольшая разница в отрицательной динамике альфа-разнообразия (в 5,8 раза) отмечена у пациента в период без лечения и получена при оценке неизменной ткани СОЖ, в то время как при анализе патологически измененной ткани СОЖ при использовании аналогичного подхода отмечено снижение альфа-разнообразия в 2,89 раза.

При использовании терапии, основанной только на ингибиторах протонной помпы, отмечено увеличение альфа-разнообразия микробиоты желудка в 4,2 (для патологически измененной ткани) — 4,7 раза (для неизменной ткани), практически до начальных уровней. При использовании специфической антибиотикотерапии отмечено увеличение альфа-разнообразия микробиоты желудка для патологически измененной ткани в 5,16 раза и в 8,84 раза — для неизменной ткани.

На наш взгляд, наиболее показательным для оценки альфа-разнообразия оказался метод Simpson, показавший наибольшие различия при оценке альфа-разнообразия микробиоты желудка.

На следующем этапе работы проведена таксономическая оценка структуры микробиоты желудка в динамике — до и после лечения.

На первом этапе данного раздела исследования мы проанализировали таксономию микробиоты желудка на уровне типа (рисунки 3 и 4).

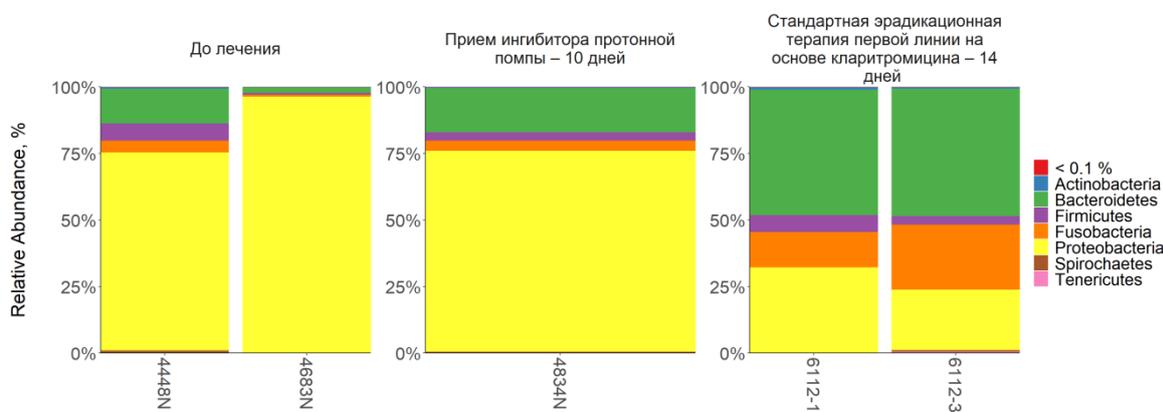


Рисунок 3. Динамика изменения микробиоты в образцах пациента до и после лечения, образцы получены из неизменной (N) ткани (таксономия на уровне типа)

Figure 3. Microbiota dynamics in patient samples before and after treatment, samples obtained from unaltered (N) tissue (taxonomy at the type level)

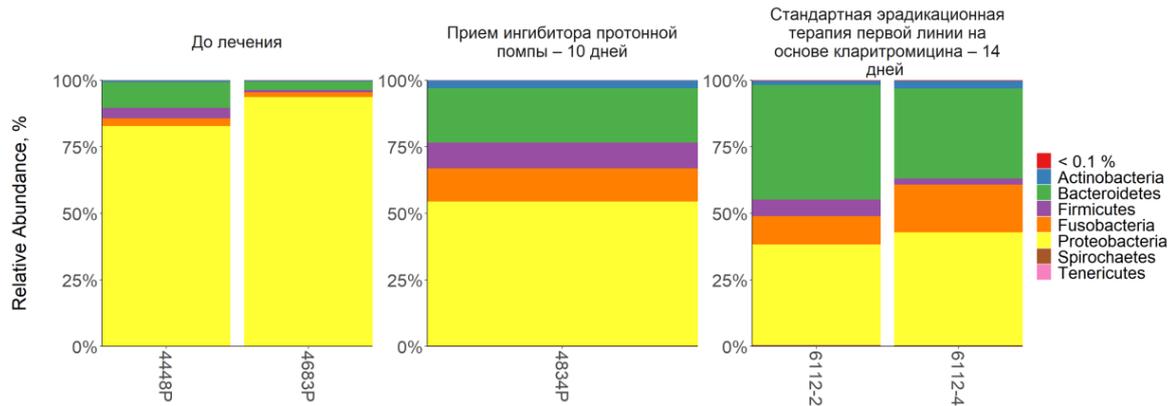


Рисунок 4. Динамика изменения микробиоты в образцах пациента до и после лечения, образцы получены из патологически измененной (P) ткани (таксономия на уровне типа)

Figure 4. Microbiota dynamics in patient samples - before and after treatment, samples obtained from pathologically altered (P) tissue (type-level taxonomy)

Как видно из данных, представленных на рисунках 3 и 4, в динамике до лечения отмечено изменение микробиоты с увеличением типа *Proteobacteria* и снижением типов *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Fusobacteria* и *Actinobacteria*. После приема ингибиторов протонной помпы отмечено снижение типа *Proteobacteria*, наиболее существенное снижение данного таксона отмечено после прохождения полного специфического курса антибиотикотерапии. Наряду со снижением

доли *Proteobacteria* в микробиоме желудка отмечено увеличение типов *Bacteroides*, *Firmicutes*, *Fusobacteria* и *Actinobacteria*, показатели медианных значений которых снижались до лечения.

Анализ изменения соотношения *Firmicutes* / *Bacteroidetes* в динамике показывает, что на всех этапах исследования относительная представленность типа *Bacteroidetes* выше, чем типа *Firmicutes* (таблица 3).

Таблица 3. Соотношение *Firmicutes* / *Bacteroidetes* в образцах неизменной (N) и патологически измененной ткани (P) в динамике

Table 3. *Firmicutes* / *Bacteroidetes* ratio in samples of unaltered (N) and pathologically altered tissue (P) in dynamics

№ образца норма (N) / патология (P)	Этап	<i>Firmicutes</i> / <i>Bacteroidetes</i> норма (N)	<i>Firmicutes</i> / <i>Bacteroidetes</i> патология (P)
4448N / 4448P	До лечения	0,487	0,395
4683N / 4683P	До лечения	0,205	0,201
4834N / 4834P	Прием ингибитора протонной помпы — 10 дней	0,170	0,453
6112-1N / 6112-2P	Стандартная эрадикационная терапия первой линии на основе кларитромицина — 14 дней	0,129	0,137
6112-3N / 6112-4P	Стандартная эрадикационная терапия первой линии на основе кларитромицина — 14 дней	0,062	0,060

Согласно данным, представленным в таблице 3 и на рисунках 3 и 4, в процессе терапии на фоне снижения относительной представленности *Proteobacteria* наблюдается уменьшение величины соотношения *Firmicutes* / *Bacteroidetes* в биоптатах неизменной (N) и патологически измененной ткани (P), кроме образцов 4683N и 4683P.

Как видно из данных, представленных на рисунках 5 и 6, в динамике до лечения отмечено изменение микробиоты с увеличением класса *Epsilonproteobacteria* и снижением классов *Betaproteobacteria* и *Bacteroidia*.

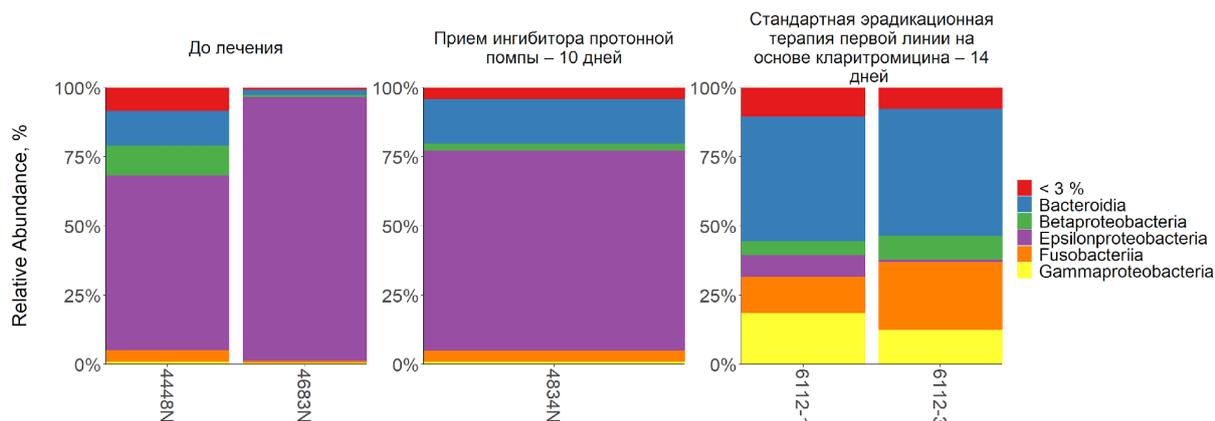


Рисунок 5. Динамика изменения микробиоты в образцах пациента до и после лечения, образцы получены из неизменной (N) ткани (таксономия на уровне класса)

Figure 5. Dynamics of microbiota changes in patient samples before and after treatment, samples obtained from unaltered (N) tissue (class-level taxonomy)

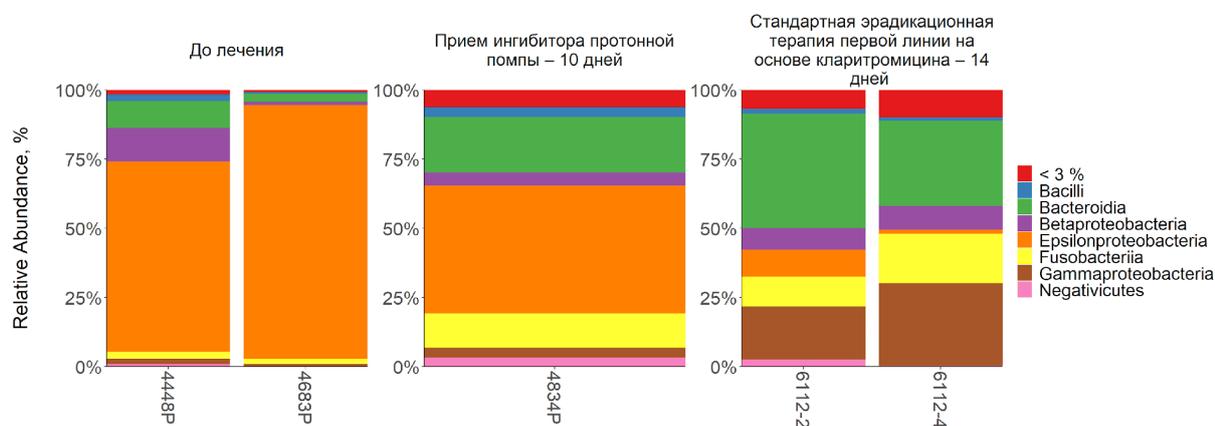


Рисунок 6. Динамика изменения микробиоты в образцах пациента до и после лечения, образцы получены из патологически измененной (P) ткани (таксономия на уровне класса)

Figure 6. Dynamics of microbiota changes in patient samples before and after treatment, samples obtained from pathologically altered (P) tissue (class-level taxonomy)

После приема ингибиторов протонной помпы отмечено существенное снижение класса *Epsilonproteobacteria*, но наиболее существенное снижение данного таксона отмечено после прохождения полного курса антибиотикотерапии комбинацией препаратов для эрадикации *H. pylori*: кларитромицин, амоксициллин, омепразол в течение 14 дней.

Наряду со снижением доли *Epsilonproteobacteria*, в микробиоме желудка отмечено увеличение классов *Gammaproteobacteria*, *Fusobacteria* и *Betaproteobacteria*, медианные значения которых снижались до лечения.

Как видно из данных, представленных на рисунках 7 и 8, в динамике до лечения отмечено изменение микробиоты с увеличением рода *Helicobacter* и снижение родов *Prevotella* и *Neisseria*. После приема ингибиторов протонной помпы отмечено снижение рода *Helicobacter*, а наиболее существенное снижение данного таксона отмечено после прохождения полного курса антибиотикотерапии комбинацией препаратов для эрадикации *H. pylori*: кларитромицин, амоксициллин, омепразол в течение 14 дней.

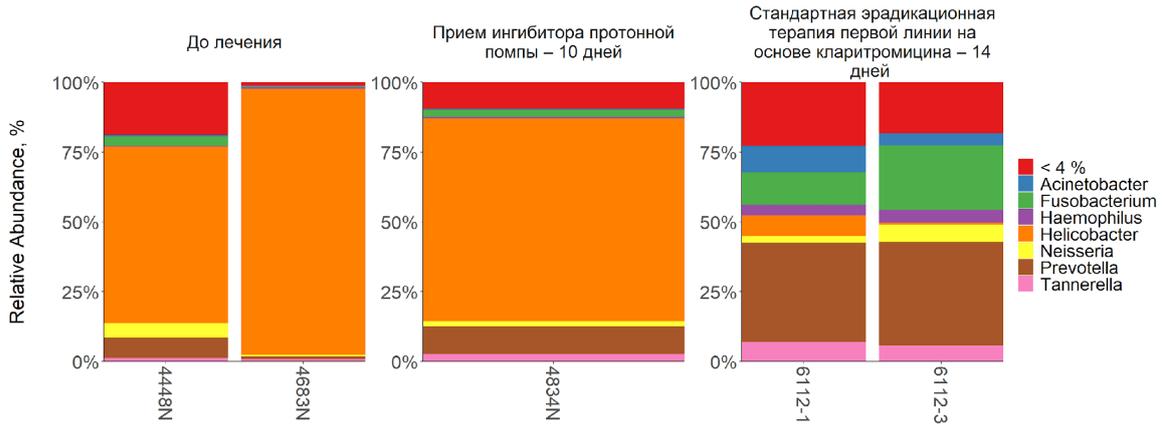


Рисунок 7. Динамика изменения микробиоты в образцах пациента до и после лечения, образцы получены из неизменной (N) ткани (таксономия на уровне рода)
 Figure 7. Dynamics of microbiota changes in patient samples before and after treatment, samples obtained from unaltered (N) tissue (taxonomy at genus level)

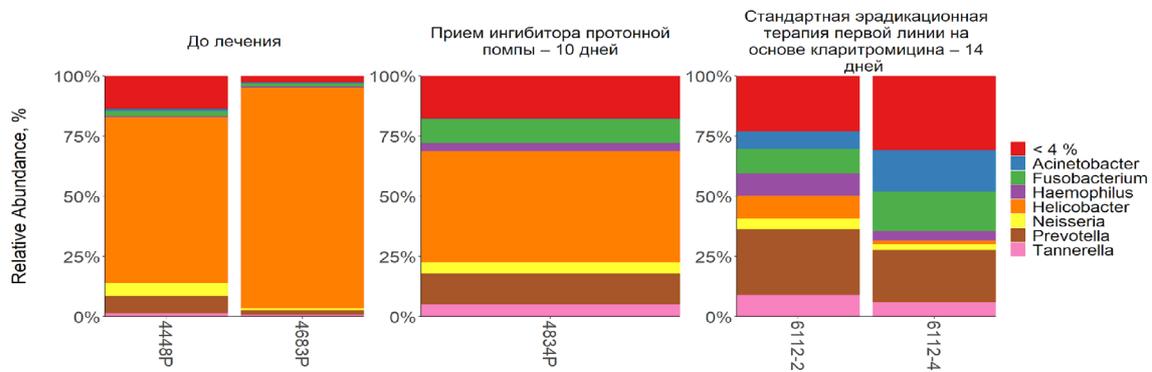


Рисунок 8. Динамика изменения микробиоты в образцах пациента до и после лечения, образцы получены из патологически измененной (P) ткани (таксономия на уровне рода)
 Figure 8. Microbiota dynamics in patient samples - before and after treatment, samples obtained from pathologically altered (P) tissue (genus-level taxonomy)

Как видно из данных, представленных на рисунках 9 и 10, в динамике до лечения отмечено изменение микробиоты с увеличением вида *pylori* относящемуся к роду *Helicobacter* и, соответственно, снижение видов *nucleatum* и *melaninogenica*.

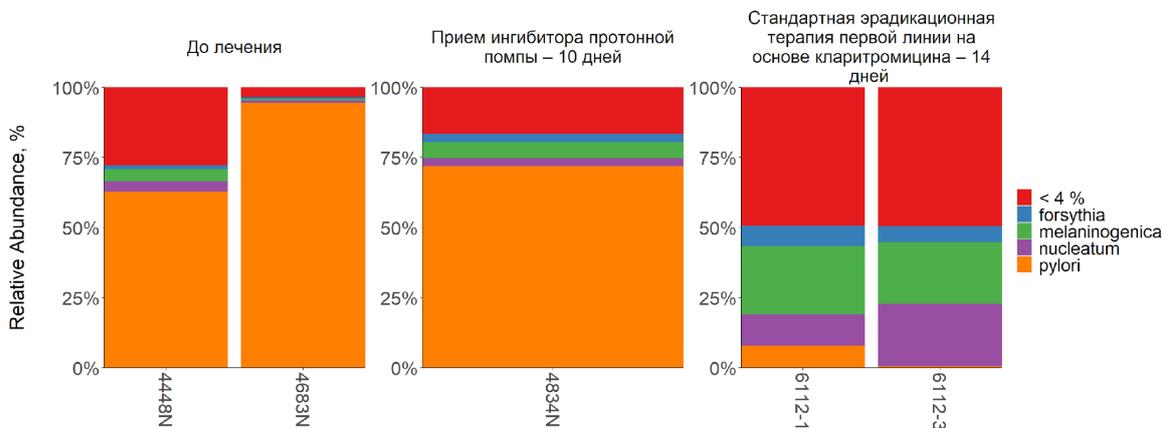


Рисунок 9. Динамика изменения микробиоты в образцах пациента до и после лечения, образцы получены из неизменной (N) ткани (таксономия на уровне вида)
 Figure 9. Dynamics of microbiota changes in patient samples before and after treatment, samples obtained from unaltered (N) tissue (taxonomy at the species level)

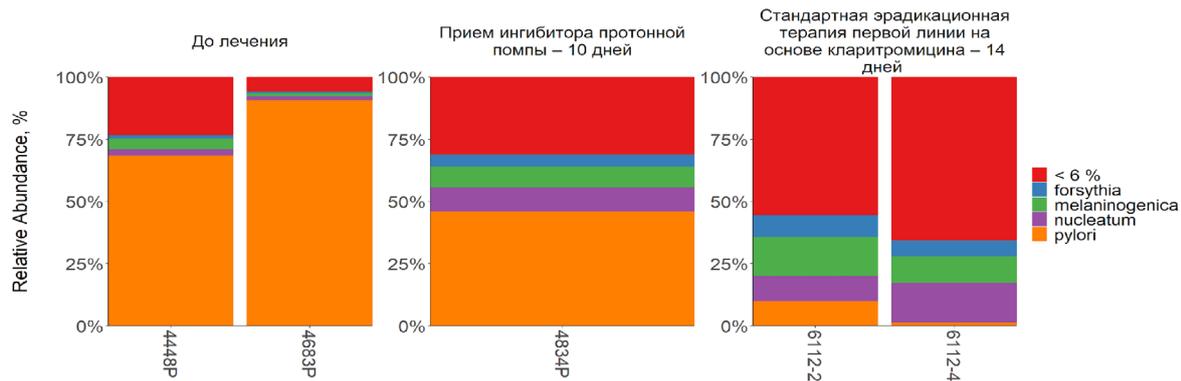


Рисунок 10. Динамика изменения микробиоты в образцах пациента до и после лечения, образцы получены из патологически измененной (P) ткани (таксономия на уровне вида)

Figure 10. Dynamics of microbiota changes in patient samples before and after treatment, samples obtained from pathologically altered (P) tissue (taxonomy at the species level)

После приема ингибиторов протонной помпы отмечено незначительное снижение вида *pylori* род *Helicobacter*, в то время как наиболее существенное снижение данного вида отмечено после прохождения полного курса антибиотикотерапии комбинацией препаратов для эрадикации *H. pylori*: в течение 14 дней.

Наряду со снижением доли бактерии *H. pylori*, в микробиоме желудка отмечено увеличение видов *H. nucleatum* и *H. melaninogenica*, медианные значения которых снижались до лечения.

Заключение

1. Анализ данных таксономического разнообразия микробиоты желудка в образцах неизмененной ткани (N) и патологически измененной ткани (P) желудка на различных рассматриваемых этапах (до лечения, прием ингибиторов протонной помпы, эрадикационная антибиотикотерапия) свидетельствует о положительных

изменениях динамического состава микробиоты желудка в процессе лечения (увеличение альфа-разнообразия), что подтверждается снижением относительной представленности *H. pylori*. Следует отметить, что при использовании терапии, основанной только на ингибиторах протонной помпы, снизить количество *H. pylori* удастся незначительно.

2. Динамика альфа-разнообразия микробиоты желудка связана с морфологическим состоянием ткани и без применения терапии имеет значительную и достаточно быструю тенденцию к существенному снижению (в 2 раза менее чем за два месяца), что связано с увеличением в составе микробиоты *H. pylori*.

3. При использовании стандартной эрадикационной терапии первой линии на основе кларитромицина удается достичь снижения *H. pylori* до минимальных количеств, но полной эрадикации не происходит.

Список литературы / References

- Jia Z, Zheng M, Jiang J, Cao D, Wu Y, Zhang Y, et al. Positive *H. pylori* status predicts better prognosis of non-cardiac gastric cancer patients: results from cohort study and meta-analysis. *BMC Cancer*. 2022;22(1):155. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-022-09222-y>
- Popescu D, Andronescu D, Babes PA. The association between *Helicobacter pylori* infection and liver and biliary tract disorders. *Curr Health Sci J*. 2018;44(2):186-191. DOI: <https://doi.org/10.12865/CHSJ.44.02.16>
- Pormohammad A, Mohtavinejad N, Gholizadeh P, Dabiri H, Salimi Chirani A, Hashemi A, et al. Global estimate of gastric cancer in *Helicobacter pylori*-infected population: A systematic review and meta-analysis. *J Cell Physiol*. 2019;234(2):1208-1218. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.27114>
- Jemilohun AC, Otegbayo JA. *Helicobacter pylori* infection: past, present and future. *The Pan African Med J*. 2016;(23):216. DOI: <https://doi.org/10.11604/pamj.2016.23.216.8852>
- Gupta A, Shetty S, Mutalik S, Chandrashekar H R, K N, Mathew EM, Jha A, et al. Treatment of *H. pylori* infection and gastric ulcer: Need for novel Pharmaceutical formulation. *Heliyon*. 2023;9(10):e20406. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e20406>

e20406

- Kim SY, Choi DJ, Chung JW. Antibiotic treatment for *Helicobacter pylori*: Is the end coming? *World J Gastrointest Pharmacol Ther*. 2015;6(4):183-198. DOI: <https://doi.org/10.4292/wjgpt.v6.i4.183>
- Smith SI, Yamaoka Y. Antibiotic resistance and therapy for *Helicobacter pylori* infection. *Antibiotics (Basel)*. 2023;12(12):1669. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12121669>
- Boyanova L, Hadzhiyski P, Gergova R, Markovska R. Evolution of *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics: a topic of increasing concern. *Antibiotics (Basel)*. 2023;12(2):332. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020332>
- Thung I, Aramin H, Vavinskaya V, Gupta S, Park JY, Crowe SE, et al. Review article: the global emergence of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;43(4):514-533. DOI: <https://doi.org/10.1111/apt.13497>
- Ford AC, Gurusamy KS, Delaney B, Forman D, Moayyedi P. Eradication therapy for peptic ulcer disease in *Helicobacter pylori*-positive people. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;4(4):CD003840. DOI: <https://doi.org/10.1002/14651858>

CD003840.pub5

10. Luo X, Qi S, Chen M, Gan T, Lv X, Yang J, et al. Maintaining *H. pylori* negativity after eradication can consolidate its benefit in gastric cancer prevention: a meta-analysis. *Clin Transl Gastroenterol.* 2024;15(8):e00742. DOI: <https://doi.org/10.14309/ctg.0000000000000742>

11. Serrano C, Harris PR, Smith PD, Bimczok D. Interactions between *H. pylori* and the gastric microbiome: impact on gastric homeostasis and disease. *Curr Opin Physiol.* 2021;21: 57-64. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2021.04.003>

12. Alarcon T, Perez Perez G I. Microbiota and gastric diseases in 2022. *Microb Health Dis.* 2022;4:e764. DOI: https://doi.org/10.26355/mhd_20229_764

13. Wagner BD, Grunwald GK, Zerbe GO, Mikulich-Gilbertson SK, Robertson CE, Zemanick ET, et al. On the Use of Diversity Measures in Longitudinal Sequencing Studies of Microbial Communities. *Front Microbiol.* 2018;9:1037. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01037>

14. Sitkin S, Lazebnik L, Avalueva E, Kononova S, Vakhitov T. Gastrointestinal microbiome and *Helicobacter pylori*: eradicate, leave it as it is, or take a personalized benefit-risk approach?

World J Gastroenterol. 2022;28(7):766-774. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v28.i7.766>

15. Carlosama YH, Acosta CP, Sierra CH, Rosero CY, Bolaños HJ. The operative link on gastritis assessment (OLGA) system as a marker for gastric cancer and dysplasia in a colombian population at risk: a multicenter study. *Biomedica.* 2023;43(Sp. 3):30-40. DOI: <https://doi.org/10.7705/biomedica.6995>

16. Воропаева А.В., Борсук А.Д., Шевченко Н.И., Мартыненко С.М. Определение резистентности *Helicobacter pylori* к кларитромицину в образцах биоптатов СОЖС использованием TaqManR® MGB-зондов. *Проблемы здоровья и экологии.* 2023;20(1):144-151. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2023-20-1-18>

Voropaeva AV, Borsuk AD, Shevchenko NI, Martynenko SM. Determination of *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin in biopsy samples of gastric mucosa using TaqMan® MGB probes. *Health and Ecology Issues.* 2023;20(1):144-151. (In Russ.) DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2023-20-1-18>

17. Wood DE, Lu J, Langmead B. Improved metagenomic analysis with Kraken 2. *Genome Biol.* 2019;20(1):257. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1891-0>

Информация об авторах / Information about the authors

Воропаев Евгений Викторович, к.м.н., доцент, проректор по научной работе, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9435-6109>

e-mail: voropaev.evgenii@gmail.com

Осипкина Ольга Викторовна, заведующий научно-исследовательской лабораторией, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1931-4224>

e-mail: olga.osipkina@mail.ru

Ковалёв Алексей Алексеевич, старший преподаватель кафедры медицинской и биологической физики, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9148-487X>

e-mail: kovalev.data.analysis.gsmu@yandex.by

Шафорост Александр Сергеевич, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6725-5353>

e-mail: asofocl@mail.ru

Зятков Алексей Александрович, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9542-3791>

e-mail: ziatskovaa@gmail.com

Воропаева Алла Викторовна, к.б.н., доцент, врач клинической лабораторной диагностики, ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», Гомель, Беларусь

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0213-2421>

e-mail: allo4ka3665@mail.ru

Шевченко Наталья Ивановна, к.м.н., доцент, заведующий лабораторией клеточных технологий, ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», Гомель, Беларусь

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0579-6215>

e-mail: shevchenkoni@bk.ru

Назарчук Юрий Алексеевич, врач-эндоскопист (заведующий) диагностического отделения, ГУЗ «Гомельская городская клиническая больница № 4», Гомель, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5696-1690>

e-mail: nazarius2201@mail.ru

Evgenii V. Voropaev, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Vice-Rector for Scientific Work, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9435-6109>

e-mail: voropaev.evgenii@gmail.com

Olga V. Osipkina, Head of the Research Laboratory, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1931-4224>

e-mail: olga.osipkina@mail.ru

Alexey A. Kovalev, Senior Lecturer at the Department of Medical and Biological Physics, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9148-487X>

e-mail: kovalev.data.analysis.gsmu@yandex.by

Alexander S. Shaforost, Senior Researcher at the Research Laboratory, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6725-5353>

e-mail: asofocl@mail.ru

Aliaksei A. Ziatskov, Senior Researcher at the Research Laboratory, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9542-3791>

e-mail: ziatskovaa@gmail.com

Alla V. Voropaeva, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Belarus

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0213-2421>

e-mail: allo4ka3665@mail.ru

Natalia I. Shevchenko, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Laboratory of Cell Technologies, Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Belarus

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0579-6215>

e-mail: shevchenkoni@bk.ru

Yury A. Nazarchuk, Endoscopist (Head) at the Diagnostic Department, Gomel City Clinical Hospital No. 4, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5696-1690>

e-mail: nazarius2201@mail.ru

Стома Игорь Олегович, д.м.н., профессор, ректор УО
«Гомельский государственный медицинский университет»,
Гомель, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0483-7329>
e-mail: igor.stoma@gsmu.by

Igor O. Stoma, Doctor of Medical Sciences, Professor,
Rector of Gomel State Medical University, Gomel, Belarus
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0483-7329>
e-mail: igor.stoma@gsmu.by

Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

Воропаев Евгений Викторович
e-mail: voropaev.evgenii@gmail.com

Evgenii V. Voropaev
e-mail: voropaev.evgenii@gmail.com

Поступила в редакцию / Received 18.10.2024

Поступила после рецензирования / Accepted 20.10.2024

Принята к публикации / Revised 29.11.2024