



Респираторная микробиота у пациентов с недифференцированными патологическими изменениями в легких

В. И. Майсеенко, И. В. Буйневич, Е. В. Воропаев, О. В. Осипкина,
А. А. Ковалев, А. С. Шафорост, А. А. Зятков

Гомельский государственный медицинский университет, г. Гомель, Беларусь

Резюме

Цель исследования. Изучить микробное разнообразие респираторной микробиоты у пациентов с недифференцированными патологическими изменениями в легких.

Материалы и методы. Проведено исследование биопсийного материала 36 пациентов с недифференцированными патологическими изменениями в легких, полученного при проведении видеоассистированной торакоскопической резекции легких. Изучение микробного разнообразия легких проводили методом высокопроизводительного секвенирования с помощью секвенатора MiSeq (Illumina, США) с использованием протокола, основанного на анализе переменных регионов гена 16s рНК.

Результаты. Изучена плотность и микробное разнообразие легочной микробиоты полученных образцов. Во всех образцах пациентов доминирующими таксонами на уровне типа являются *Proteobacteria* (медиана относительной представленности таксона более 90 %); типы *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* представлены в меньшем количестве, а типы *Fusobacteria* и *Cyanobacteria* — только в некоторых группах. *Fusobacteria* встречались только у пациентов с саркоидозом легких, также только в этой группе медиана относительной представленности типа *Actinobacteria* была намного выше, чем в остальных ($p < 0,05$). Во всех образцах наиболее широко представлены роды *Stenotrophomonas* и *Delftia*. Бактерия рода *Pseudomonas* встречалась у пациентов с раком легких.

Заключение. В результате анализа полученных данных показано, что *Proteobacteria* являлись значительно преобладающим типом микробиоты у пациентов с недифференцированными патологическими изменениями в легких; тип *Fusobacteria* встречался только у пациентов с саркоидозом легких, также только в этой группе медиана относительной представленности типа *Actinobacteria* была намного выше, чем в остальных группах. Наибольшее таксономическое разнообразие на уровне рода наблюдалось у пациентов с саркоидозом легких.

Ключевые слова: микробиота, легкие, туберкулез, саркоидоз, рак легкого

Вклад авторов. Майсеенко В.И., Буйневич И.В.: концепция и дизайн исследования; Майсеенко В.И.: сбор и обработка материала; Ковалев А.А., Майсеенко В.И.: статистическая обработка данных; Воропаев Е.В.: аналитическая оценка содержания исследования; Шафорост А.С., Зятков А.А.: проведение исследований, получение данных, редактирование текста; Осипкина О.В.: редактирование текста; Майсеенко В.И., Буйневич И.В., Воропаев Е.В.: написание, редактирование и утверждение текста.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источники финансирования. Исследование проведено в рамках задания 3.38 «Разработать алгоритм прогнозирования пост-COVID-19 ассоциированной патологии на основании изучения клинико-лабораторных и функциональных показателей» ГПНИ «Трансляционная медицина», подпрограмма 4.2 «Фундаментальные аспекты медицинской науки», руководитель проекта к. м. н., доцент Е.В. Воропаев, сроки выполнения задания — с 01.01.2022 по 31.12.2024 гг., рег. № НИОКТР 20220464.

Для цитирования: Майсеенко ВИ, Буйневич ИВ, Воропаев ЕВ, Осипкина ОВ, Ковалев АА, Шафорост АС, Зятков АА. Респираторная микробиота у пациентов с недифференцированными патологическими изменениями в легких. Проблемы здоровья и экологии. 2024;21(3):120–129. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2024-21-3-17>

The respiratory microbiota in patients with undifferentiated pathological changes in the lungs

Viktoryia I. Maiseenka, Iryna V. Buinevich, Evgenii V. Voropaev, Olga V. Osipkina, Alexey A. Kovalev, Alexander S. Shaforost, Alexey A. Zyatskov

Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

Abstract

Objective. To study the microbial diversity of the respiratory microbiota in patients with undifferentiated pathological changes in the lungs.

Materials and methods. The study of biopsy material obtained during video-assisted thoracoscopic lung resection was conducted in 36 patients with undifferentiated pathological changes in the lungs. The study of the microbial diversity of the lungs was carried out by high-performance sequencing using the MiSeq sequencer (Illumina, USA) using a protocol based on the analysis of variable regions of the 16s rRNA gene.

Results. The density and microbial diversity of the pulmonary microbiota of the obtained samples were studied. In all patient samples, the dominant taxa at the Phylum level are *Proteobacteria* (the median relative representation of the taxon is more than 90%); the Phylums *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* are represented in smaller numbers, and the Phylums *Fusobacteria* and *Cyanobacteria* – only in some groups. *Fusobacteria* were found only in patients with lung sarcoidosis, and only in this group the median relative representation of the Phylum *Actinobacteria* was much higher than in the rest ($p < 0.05$). The Genuses *Stenotrophomonas* and *Delftia* are the most widely represented in all samples. A bacterium of the Genus *Pseudomonas* has been found in patients with lung cancer.

Conclusion. *Proteobacteria* were a significantly predominant Phylum of microbiota in patients with undifferentiated pathological changes in the lungs; *Fusobacteria* were found only in patients with lung sarcoidosis, and only in this group the median relative representation of the *Actinobacteria* were much higher than in the other groups. The greatest taxonomic diversity at the Genus level was observed in patients with lung sarcoidosis.

Keywords: *microbiota, lungs, tuberculosis, sarcoidosis, lung cancer*

Author contributions. Maiseenka V.I., Buinevich I.V.: research concept and design; Maiseenka V.I.: collection and processing of material; Kovalev A.A., Maiseenka V.I.: statistical processing of data; Voropaev E.V.: analytical evaluation of the content of the study; Shaforost A.S., Zyatskov A.A.: conducting research, obtaining data, editing the text; Osipkina O.V.: editing the text; Maiseenka V.I., Buinevich I.V., Voropaev E.V.: writing, editing and approving the text.

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

Funding. The study was conducted within the task 3.38 “To develop an algorithm for predicting post-COVID-19 associated pathology based on the study of clinical, laboratory and functional indicators” GPNI “Translational Medicine”, subprogram 4.2 “Fundamental aspects of medical science”, project manager is Candidate of Medical Sciences, Associate Professor Evgenii V. Voropaev, deadlines for completing the task – from 01.01.2022 to 12.31.2024, reg. NIOKTR No. 20220464.

For citation: Maiseenka VI, Buinevich IV, Voropaev EV, Osipkina OV, Kovalev AA, Shaforost AS, Zyatskov AA. The respiratory microbiota in patients with undifferentiated pathological changes in the lungs. *Health and Ecology Issues*. 2024;21(3):120–129. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2024-21-3-17>

Введение

Заболевания легких обуславливают высокие показатели смертности среди населения [1]. В последнее десятилетие появляется все больше публикаций о том, что микробиота легких, наряду с микробиотой желудочно-кишечного тракта, вносит значительный вклад в развитие респираторных заболеваний и таким образом может рассматриваться как патогенетический фактор [2, 3]. При этом нарушается баланс между микробной иммиграцией и элиминацией, а состав микробиоты легких различается в зависимости от патологии. Наиболее изученные изменения микробиоты легких связаны с обострением хронической обструктивной болезни легких [4] и астмы [5], менее изучены легочные дисбиозы при туберкулезе [6]

и разных формах рака легкого [7].

Согласно результатам исследований, проведенных несколькими независимыми научными группами, преобладающими типами бактерий в составе здоровых легких являются *Bacteroidetes* и *Firmicutes* [8]. Анализ бактериальных генов 16S рРНК с использованием секвенирования и прокариотических баз данных (например, MegaBLAST и EZ BioCloud) позволил идентифицировать основные таксоны, обитающие в респираторном тракте человека [9]. Было отмечено, что около 95 % бактериальных таксонов, обнаруженных в респираторном тракте, могли мигрировать из других отделов легочной системы.

Необходимо подчеркнуть, что исследователи микробных сообществ легкого (как в норме, так

и при патологии) сталкиваются с методическими сложностями, уникальными для этой ниши. Практически все работы по изучению микробиоты легких сосредоточены на изучении образцов мокроты или жидкости бронхоальвеолярного лаважа, так как присутствуют значительные технические сложности отбора образцов из нижних дыхательных путей.

Хотя одни исследования выявляют в целом минимальную контаминацию образцов, полученных при бронхоскопии, микробиотой верхних дыхательных путей [10], другие работы, наоборот, указывают на значительную контаминацию бактериями носоглотки [11]. Инвазивные методы, такие как открытая биопсия легкого, позволяют получить более достоверный материал для исследования, но они практически всегда труднодоступны. Таким образом, в качестве здоровой ткани изучали непораженные участки легких от больных разными формами рака, полученные в ходе хирургических операций [12]. В последнее время широко применяются видеоассистированные торакоскопические резекции легкого. Подобные операции характеризуются малой травматичностью и кровопотерей, коротким сроком реабилитации [13], однако исследований микробиоты легких, полученных таким образом, крайне мало.

Цель исследования

Изучить микробное разнообразие респираторной микробиоты у пациентов с недифференцированными патологическими изменениями в легких.

Материалы и методы

В рамках проведения пилотного проспективного исследования было обследовано 36 пациентов, находившихся в туберкулезном хирургическом торакальном отделении учреждения «Гомельская областная туберкулезная клиническая больница» с октября 2023 г. по апрель 2024 г. В исследование были включены пациенты, которым была выполнена видеоассистированная торакоскопическая резекция легких с диагностической целью из-за выявленных при рентгенофлюорографическом обследовании изменений в легких. Мужчины составили 69,4 % ($n = 25$), женщины — 30,6 % ($n = 11$). Медиана возраста пациентов — 54,0 (37,5; 62,0) года. В предоперационном периоде пациентам проводилось обследование по общепринятой схеме, включавшей лабораторные исследования, бактериологическое исследование мокроты, рентгенографию, компьютерную томографию органов грудной клетки и другие, при этом окончательный диагноз не был установлен. Все участники исследования были информированы о целях исследо-

вания и предстоящих процедурах, у всех было получено информированное письменное согласие на участие в исследовании.

Изучение микробного разнообразия легких проводили с помощью метода высокопроизводительного секвенирования, с помощью секвенатора MiSeq (Illumina, США), с использованием протокола, основанного на анализе варьируемых регионов гена 16s рРНК.

Высокопроизводительное секвенирование включало несколько стадий: экстракция ДНК (набор для выделения NucleoSpin DNA Stool (MACHEREY-NAGEL, Германия)) с последующим измерением концентрации и качества полученной ДНК на спектрофотометре NanoDrop 1000 (ThermoFisher Scientific, США); проведение таргетной ПЦР — амплификация V3/V4 региона гена 16S рибосомальной РНК (ДНК-полимераза (комплект Flash), ООО «Артбиотех», Республика Беларусь); очистка с использованием магнитных частиц AMPure XP (Beckman Coulter, США) и измерение концентрации продуктов таргетной ПЦР на спектрофотометре NanoDrop 1000 (ThermoFisher Scientific, США); электрофоретическая детекция продуктов таргетной ПЦР в агарозном геле для подтверждения наличия целевого продукта; нормализация концентраций полученных ампликонов; индексная ПЦР с использованием высокоточной ДНК-полимеразы (комплект Flash, ООО «Артбиотех», РБ) и набора индексов Nextera XT Index Kit v2 Set A (Illumina, США); очистка на магнитных частицах AMPure XP (Beckman Coulter, США) и измерение концентрации продуктов индексной ПЦР с использованием флуориметра Qubit 4 (набор 1X dsDNA High Sensitivity (Thermo Fisher Scientific, США)); получение объединенной библиотеки, ее денатурация, разведение до загрузочной концентрации, загрузка в секвенатор и проведение высокопроизводительного секвенирования.

Анализ данных проводили с использованием программного DRAGEN Metagenomics (с использованием алгоритма Kraken2) [14]. Удаление последовательностей праймеров проводилось на основании использования сервиса Preprocess 16S [15], низкокачественных прочтений — Trimmomatic [16]. Статистический анализ проведен при помощи программного пакета «Statistica», 10.0, «Excel», а также с помощью среды программирования для статистической обработки данных R: version 4.1.1, пакеты Phyloseq 1.36.0 [17], Ggstatsplot_0.9.1 [18], Tidyverse_1.3.1 [19]. Для характеристики групп исследования и обработки результатов определялись средние значения и стандартная ошибка среднего ($M \pm m$). Количественные данные представляли в виде $Me (Q25; Q75)$ — медианы и интерквартильно-

го размаха (Q25; Q75 — 25-й и 75-й проценти-ли). Категориальные признаки представлены в виде абсолютных значений и долей с указанием 95 % доверительного интервала, определенным по методу Клоппера – Пирсона (% 95 % ДИ). Для сравнения групп по количественному признаку использовали U-тест Манна – Уитни в случае сравнения двух групп или критерий Краскела – Уоллиса, с последующим апостериорным попарным сравнением, в качестве метода контроля ожидаемой доли ложных отклонений. Анализ различия таксономического состава между сравниваемыми группами осуществлялся с применением модели DESeq2 (Differential gene expression analysis based on the negative binomial distribution) на основе отрицательного биномиального распределения для обнаружения различий в количестве считываний между группами [20].

Состав микробиоты оценивали на всех таксономических уровнях (тип, класс, порядок, семейство, род), также на всех уровнях оценивались медианные значения относительного количества определенного таксона в соответствующей группе. В данной статье мы посчитали целесообразным отобразить только доминирующие и наиболее представленные микроорганизмы на уровне типа и рода как наиболее информативные пока-

затели, используемые при оценке микробиоты в доступной нам литературе.

Результаты и обсуждение

Нозологические формы, диагностированные в результате видеоассистированной торакоскопии со 100 % гистологической верификацией были следующими: туберкулез (n = 15) — 41,7 % (25,5; 59,2), саркоидоз легких (n = 6) — 16,7 % (6,4; 32,8), гамартома [21] (n = 5) — 13,9 % (4,7–29,5), рак легких (n = 6) — 16,7 % (6,4; 32,8), постпневмонический фиброз (n = 4) — 11,1 % (3,1; 26,1). Все пациенты были разделены на группы по нозологическому диагнозу.

Изучена плотность и микробное разнообразие легочной микробиоты полученных образцов. Во всех образцах пациентов доминирующими таксонами на уровне типа являются *Proteobacteria* (медиана относительной представленности таксона более 90 %); типы *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* представлены в меньшем количестве, а типы *Fusobacteria* и *Cyanobacteria* — только в некоторых группах. В таблице 1 представлены типы бактерий, медиана относительной представленности которых в группах более 0,005 %.

Таблица 1. Наиболее представленные в группах типы бактерий

Table 1. The phylum of bacteria most represented in the groups

Тип	Туберкулез	Саркоидоз легких	Гамартома	Рак легких	Постпневмонический фиброз
<i>Proteobacteria</i>	97,99	95,69	96,91	98,58	97,88
<i>Firmicutes</i>	1,08	1,68	1,45	0,95	1,24
<i>Bacteroidetes</i>	0,7	0,71	1,63	0,59	0,59
<i>Actinobacteria</i>	0,06	1,44	0,03	0,01	0,04
<i>Fusobacteria</i>	—	0,01	—	—	—
<i>Cyanobacteria</i>	—	—	0,01	—	0,01

Примечание. Числами приведены медианы относительной представленности в %.

В литературных источниках описано увеличение разнообразия бактериальных видов при хронических заболеваниях респираторного тракта, чаще со сдвигом сообщества от типа *Bacteroidetes*, преобладающих в здоровых легких, к типу *Proteobacteria* [22]. Известно, что представители *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Firmicutes* вносят основной вклад в биосинтез пальмитата, гомоцистеина, бутирата и уратов, которые оказывают патогенетическое действие на слизистую оболочку дыхательных путей [23, 24]. В целом ряде исследований было показано, что для инфекционного процесса свойственно повышенное

содержание *Fusobacterium spp.*, при этом развитие вторичной бактериальной инфекции было связано с увеличением бактериального разнообразия и содержания *Actinobacteria spp* [25].

В анализируемых нами группах *Fusobacteria* встречались только у пациентов с саркоидозом легких, также только в этой группе медиана относительной представленности типа *Actinobacteria* была намного выше, чем в остальных (p < 0,05).

При сравнении групп по наиболее представленным типам бактерий с помощью теста Манна – Уитни выявлены некоторые статистические различия. Так, в группе пациентов с раком легких

количество *Actinobacteria* значительно отличалось от выявленного у пациентов с другими заболеваниями ($p = 0,0242$). Однако дополнительно к полученным p -value необходимо сделать поправку на множественные сравнения. Коррекция напрямую связана с количеством проведенных тестов (по сути, с количеством таксонов, умноженном на количество попарных сравнений между группами). В результате поправка может оказаться очень строгой и метод не выявит значимых различий. Поэтому нами для дальнейшего сравнения групп был выбран многомерный метод DESeq2

(Differential gene expression analysis based on the negative binomial distribution).

Примечание. Результаты данного анализа интерпретируют с учетом $padj$ (скорректированное значение вероятности ошибки первого рода), если $padj < 0,1$ (или $0,05$), то можно говорить о значимом различии между группами по соответствующему таксону.

В таблице 2 приведены выявленные нами статистические различия на уровне типа между различными группами.

Таблица 2. Результаты модели DESeq2 (приведены таксоны, для которых $pvalue < 0,05$)
Table 2. Results of the DESeq2 model (taxa for which $pvalue < 0,05$)

Нозологический диагноз	Тип бактерий	<i>Pvalue</i>	<i>Padj</i>
Рак легких	<i>Actinobacteria</i>	0,0000543	0,0003257
Туберкулез	<i>Fusobacteria</i>	0,0073845	0,0590756
Саркоидоз легких	<i>Actinobacteria</i>	0,0193318	0,1546542
Гамартома	<i>Bacteroidetes</i>	0,0000171	0,0001199
Гамартома	<i>Actinobacteria</i>	0,0029295	0,0102531

Во всех группах наиболее широко представлены роды *Stenotrophomonas* и *Delftia*. В таблице 3 отображены роды бактерий, медиана отно-

сительной представленности которых в группах более 1 %.

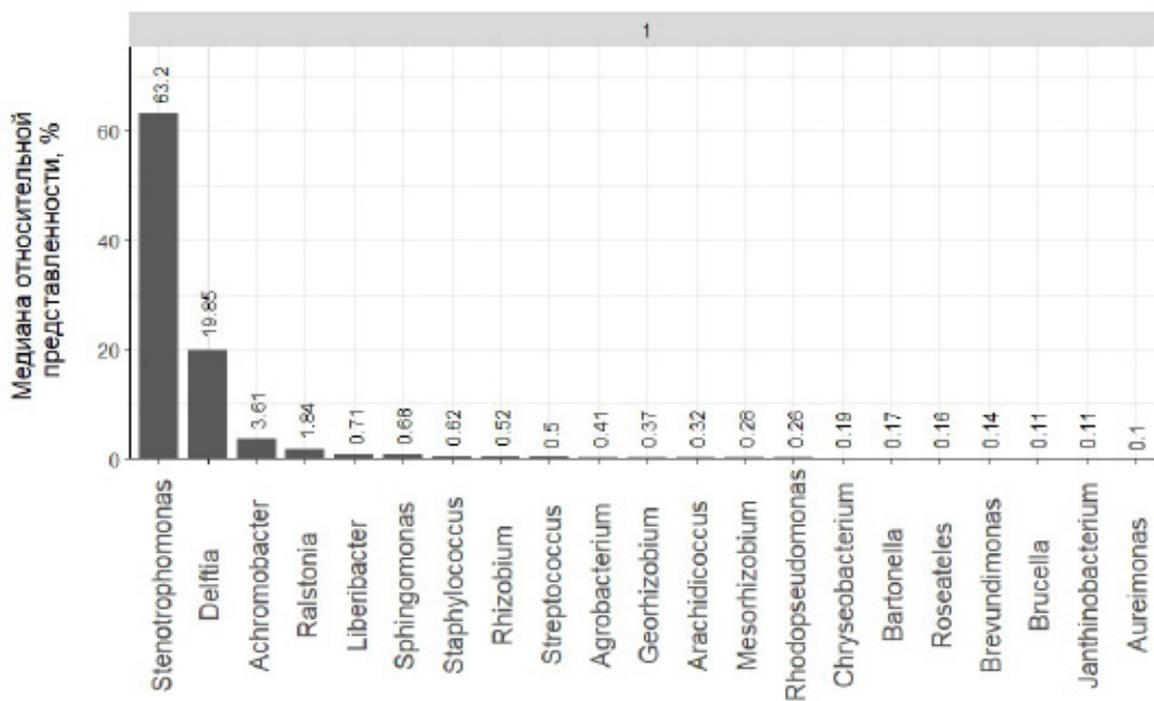
Таблица 3. Наиболее представленные в группах роды бактерий
Table 3. The genres of bacteria most represented in the groups

Род бактерий	Туберкулез	Саркоидоз легких	Гамартома	Рак легких	Постпневмонический фиброз
<i>Stenotrophomonas</i>	64,45	60,5	63,2	68,54	65,52
<i>Delftia</i>	21,4	20,02	19,85	17,96	20,29
<i>Achromobacter</i>	3,7	3,68	3,61	3,54	3,47
<i>Ralstonia</i>	2,62	2,03	1,84	1,9	2,61
<i>Liberibacter</i>	0,84	1	0,71	0,84	0,81

Примечание. Числами приведены медианы относительной представленности в %.

На рисунках 1–4 приведены роды бактерий в различных группах с медианой относительной представленности более 0,1 %. В проанализированных нами образцах бактерия рода *Pseudomonas* встречалась у пациентов с раком легких (рисунок 2), но не наблюдалась в остальных группах, а наибольшее таксономическое разнообразие на уровне рода наблюдалось у пациентов с саркоидозом легких (рисунок 3).

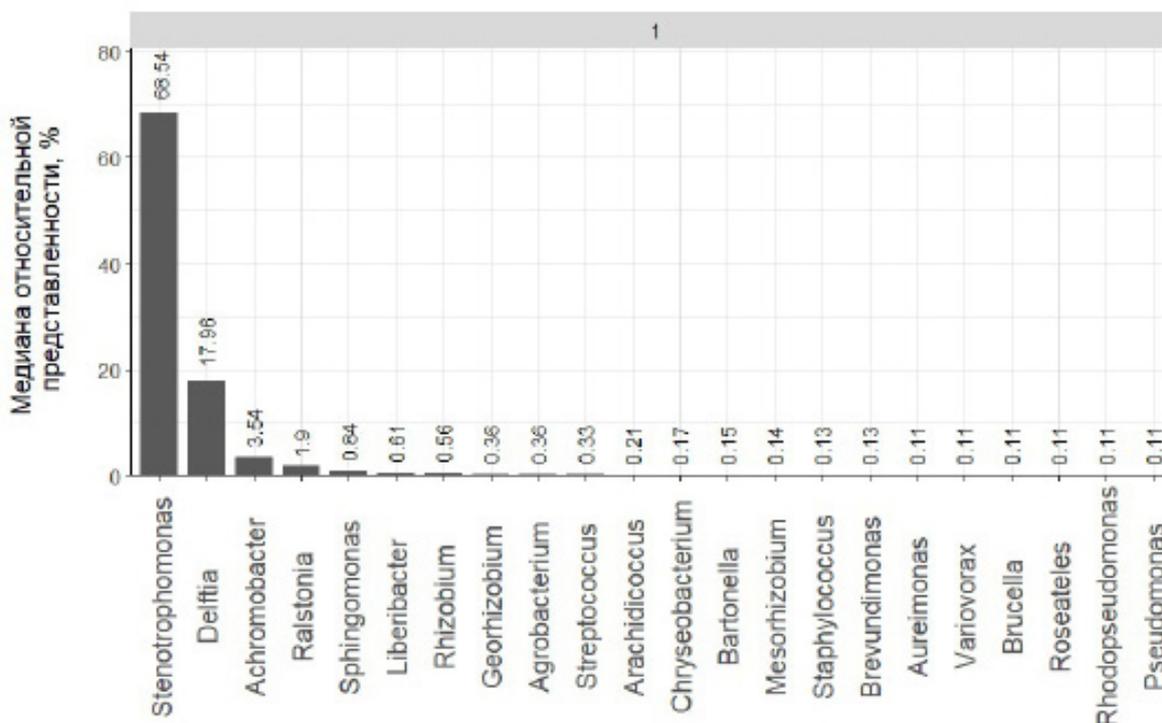
Наблюдаемое при туберкулезе на уровне тенденции увеличение доли *Prevotella* (рисунок 4) в легких коррелирует с концентрацией короткоцепочечных жирных кислот (пропионата и бутирата) [26]. Эти соединения подавляют продукцию интерферона- γ и интерлейкинов, что способствует прогрессированию латентного туберкулеза до активного заболевания.



Приведены таксоны, медиана относительной представленности которых в группах больше 0.1%

Рисунок 1. Медианные значения относительной представленности родов бактерий в группе пациентов с гамартомой легких

Figure 1. Median values of the relative representation of Genuses of bacteria in the group of patients with hamartoma



Приведены таксоны, медиана относительной представленности которых в группах больше 0.1%

Рисунок 2. Медианные значения относительной представленности родов бактерий в группе пациентов с раком легких

Figure 2. Median values of the relative representation of Genuses of bacteria in the group of patients with lung cancer

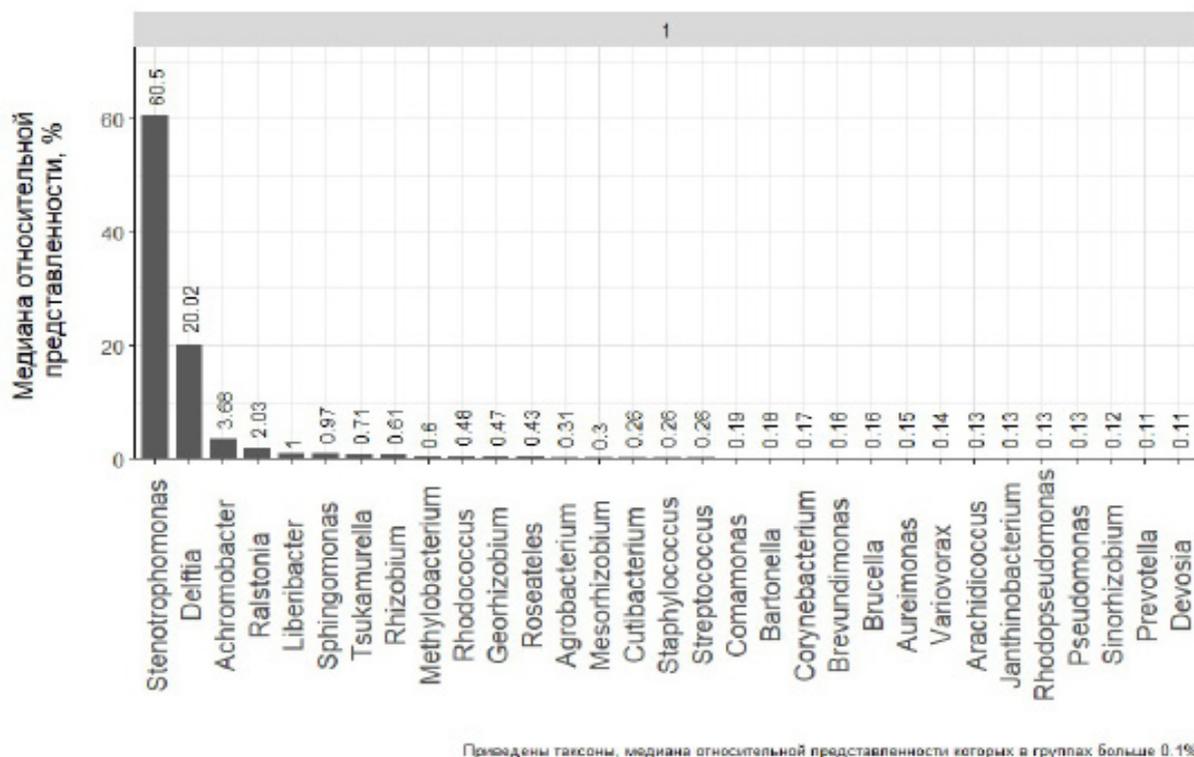


Рисунок 3. Медианные значения относительной представленности родов бактерий в группе пациентов с саркоидозом легких

Figure 3. Median values of the relative representation of Genuses of bacteria in the group of patients with sarcoidosis

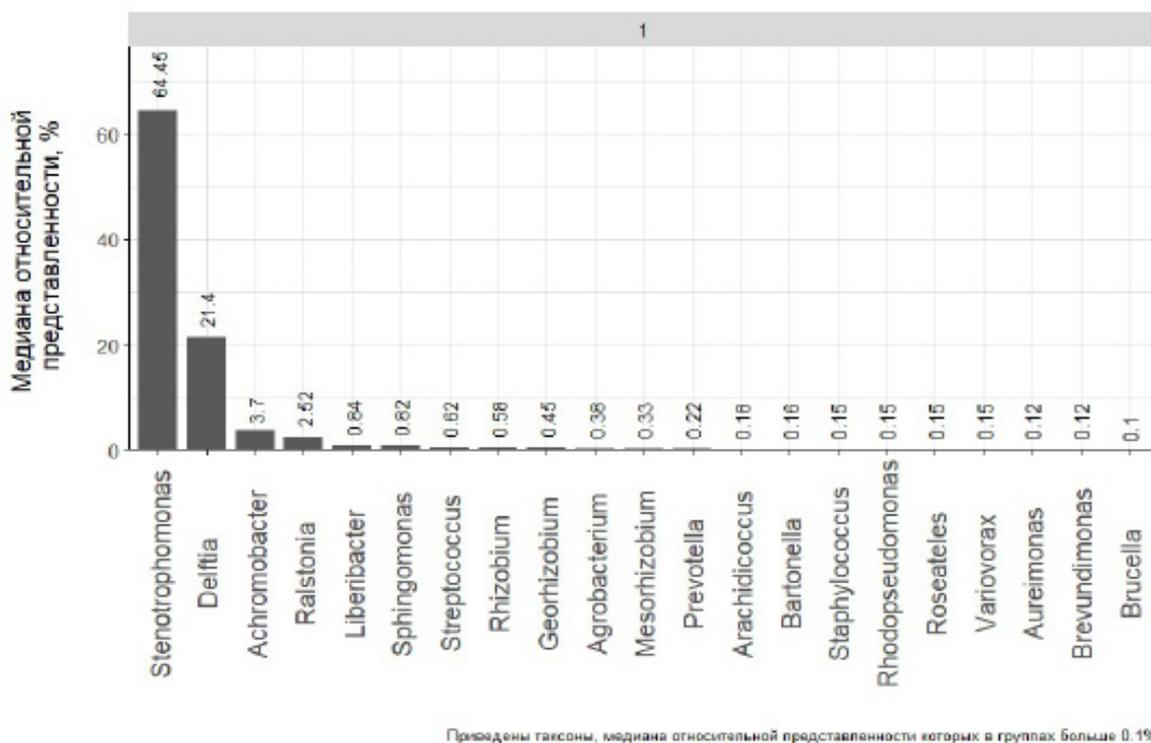


Рисунок 4. Медианные значения относительной представленности родов бактерий в группе пациентов с туберкулезом легких

Figure 4. Median values of the relative representation of Genuses of bacteria in the group of patients with pulmonary tuberculosis

Примечательно, что статистические отличия на уровне рода имеются только в группе пациентов с раком легких (таблица 4), в остальных группах намечены лишь некоторые тенденции.

Таблица 4. Результаты модели DESeq2 в группе пациентов с раком легких
Table 4. Results of the DESeq2 model in lung cancer group

Тип бактерий	Класс бактерий	Порядок бактерий	Семейство бактерий	Род бактерий	Pvalue	Padj
<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinomycetia</i>	<i>Corynebacteriales</i>	<i>Corynebacteriaceae</i>	<i>Corynebacterium</i>	0,0001	0,0160
<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinomycetia</i>	<i>Propionibacteriales</i>	<i>Propionibacteriaceae</i>	<i>Cutibacterium</i>	0,0006	0,0445
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroidia</i>	<i>Bacteroidales</i>	<i>Prevotellaceae</i>	<i>Prevotella</i>	0,0018	0,0755
<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinomycetia</i>	<i>Corynebacteriales</i>	<i>Tsukamurellaceae</i>	<i>Tsukamurella</i>	0,0002	0,0160
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Chitinophagia</i>	<i>Chitinophagales</i>	<i>Chitinophagaceae</i>	<i>Panacibacter</i>	0,0009	0,0492

Использование материала легочной ткани для исследования структуры микробиоты позволяет наиболее информативно исследовать потенциальные маркеры развития рака легких. Проведенная Liu et al. работа на 40 курильщиках, больных раком легких, указала, что состав легочной микробиоты характеризовался наименьшими значениями содержания бактерий типа *Proteobacteria* (преимущественно родов *Acinetobacter* и *Acidovorax*), а также повышением численности представителей типа *Firmicutes* (род *Streptococcus*) и *Bacteroidetes* (род *Prevotella*). По данным других авторов, преобладающие в микробиоме легких фирмикуты (*Streptococcus*) и бактериоиды (*Prevotella*) могут быть настораживающим фактором развития рака и эмфиземы легких. В то же время род *Pseudomonas* может быть триггером аденокарциномы [27].

Разнообразие микробиоты легких является важным показателем злокачественной трансформации. Так, альфа-разнообразие (количество видов в одной среде обитания) ниже у больных раком легких, а бета-разнообразие (раз-

личия между средами обитания) существенно не отличается у здоровых и больных раком легких [28].

Заключение

В результате анализа полученных данных показано, что *Proteobacteria* являлись значительно преобладающим типом микробиоты у пациентов с недифференцированными патологическими изменениями в легких; тип *Fusobacteria* встречался только у пациентов с саркоидозом легких, также только в этой группе медиана относительной представленности типа *Actinobacteria* была намного выше, чем в остальных группах. Наибольшее таксономическое разнообразие на уровне рода наблюдалось у пациентов с саркоидозом легких. Многие вопросы относительно роли микробиоты в патогенезе заболеваний легких остаются дискуссионными и далекими от своего разрешения. Таким образом, исследование респираторной микробиоты целесообразно продолжить.

Список литературы / References

1. Здравоохранение в Республике Беларусь [Электронный ресурс]: офиц. стат. сб. за 2019 г. Минск: ГУ РНПЦ МТ; 2020. [дата обращения 2024 июль 12]. Режим доступа: <http://m.med.by/content/stat/stat2019/2019-1.pdf>
2. Moffatt MF, Cookson WO. The lung microbiome in health and disease. *Clin Med (Lond)*. 2017;17(6):525-529. DOI: <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.17-6-525>
3. Charlson ES, Bittinger K, Chen J, Diamond JM, Li H, Collman RG, et al. Assessing bacterial populations in the lung by replicate analysis of samples from the upper and lower respiratory tracts. *PLoS One*. 2012;7(9):e42786. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042786>
4. Pragman AA, Lyu T, Baller JA, Gould TJ, Kelly RF, Reilly CS, et al. The lung tissue microbiota of mild and moderate chronic obstructive pulmonary disease. *Microbiome*. 2018;6(1):7-19. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0381-4>
5. Lee J-J, Kim S-H, Lee M-J, Kim B-K, Song W-J, Park H-W, et al. Different upper airway microbiome and their functional genes associated with asthma in young adults and elderly individuals. *Allergy*. 2018;74(4):709-719. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1021-1>

6. Shah T, Shah Z, Baloch Z, Cui XM. The role of microbiota in respiratory health and diseases, particularly in tuberculosis. *Biomed. Pharmacother.* 2021;143:112108. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112108>
7. Liu NN, Ma Q, Ge Y, Yi CX, Wei LQ, Tan JC, et al. Microbiome dysbiosis in lung cancer: from composition to therapy. *npj Precis. Onc.* 2020;33(4). DOI: <https://doi.org/10.1038/s41698-020-00138-z>
8. Буслаев В.Ю., Мацкова Л.В., Минина В.И., Дружинин В. Г. Анализ микробиоты лёгких и респираторного тракта человека при заболеваниях легочной системы (обзор). *Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Биология.* 2022;15(3):396-421. DOI: <https://doi.org/10.17516/1997-1389-0395>
- Buslaev VYu, Matskova LV, Minina VI, Druzhinin VG. Analysis of the microbiome of human lungs and respiratory system in lung disorders: a review. *Journal of Siberian Federal University. Biology.* 2022;15(3):396-421. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17516/1997-1389-0395>
9. Ibrionke O, McGuinness LR, Lu S-E, Wang Y, Hussain S, Weisel CP, et al. Species- level evaluation of the human respiratory microbiome. *GigaScience.* 2020;9(4). DOI: <https://doi.org/10.1093/gigascience/giaa038>
10. Dickson RP, Erb-Downward JR, Freeman CM, McCloskey L, Beck JM, Huffnagle GB, et al. Spatial variation in the healthy human lung microbiome and the adapted island model of lung biogeography. *Ann Am Thorac Soc.* 2015;12(6):821-830. DOI: <https://doi.org/10.1513/annatsats.201501-029oc>
11. Yu G, Gail MH, Consonni D, Carugno M, Humphrys M, Pesatori AC, et al. Characterizing human lung tissue micro biota and its relationship to epidemiological and clinical features. *Genome Biol.* 2016;17(1):163. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1021-1>
12. Kovaleva O, Podlesnaya P, Rashidova M, Samoilova D, Petrenko A, Zborovskaya I, et al. Lung microbiome differentially impacts survival of patients with non-small cell lung cancer depending on tumor stroma phenotype. *Biomedicines.* 2020;8(9):349. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines8090349>
13. Самородов Н.А., Сабанчиева Ж.Х., Васильев И.В. Применение видеоассистированных торакоскопических резекций легкого для дифференциальной диагностики заболеваний легких. *Туберкулёз и болезни лёгких.* 2021;99(2):16-20. DOI: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2021-99-2-16-20>
- Samorodov NA, Sabanchieva ZhKh, Vasiliev IV. Application of video-assisted thoracoscopic lung resections for differential diagnosis of lung diseases. *Tuberculosis and Lung Diseases.* 2021;99(2):16-20. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2021-99-2-16-20>
14. 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>
15. Preprocess 16S [Electronic resource]. [date of access 2024 June 12]. Available from: <https://github.com/masikol/preprocess16S>
16. Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics.* 2014;30(15):2114-2120. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
17. McMurdie PJ. phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS One.* 2013;8(4): e61217. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
18. Patil I. Visualizations with statistical details: The “ggstatsplot”. *Journal of Open Source Software.* 2021;6(61)3167. DOI: <https://doi.org/10.21105/joss.03167>
19. Wickham H, Averick M, Bryan J, Chang W, D’Agostino McGowan L, François R. et al. Welcome to the Tidyverse. *Journal of Open Source Software.* 2019;4(43)1686. DOI: <https://doi.org/10.21105/joss.01686>
20. Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 2014;15(12):163. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
21. Fiorelli A, D’Andrilli A, Carlucci A, Vicidomini G, Argento G, Trabalza Marinucci B, Ardisson F, et al. Pulmonary Hamartoma Associated With Lung Cancer (PHALC Study): Results of a Multicenter Study. *Lung.* 2021;199(4):369-378. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00408-021-00460-8>
22. Segal LN, Alekseyenko AV, Clemente JC, Kulkarni R, Wu B, Gao Z, Chen H, Berger KI, Goldring RM, Rom WN, Blaser MJ, Weiden MD. Enrichment of lung microbiome with supraglottic taxa is associated with increased pulmonary inflammation. *Microbiome.* 2013;1(1):19. DOI: <https://doi.org/10.1186/2049-2618-1-19>
23. Wang Z, Yang Y, Yan Z, Liu H, Chen B, Liang Z, et al. Multi-omic meta-analysis identifies functional signatures of airway microbiome in chronic obstructive pulmonary disease. *ISME.* 2020;14(11):2748-2765. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41396-020-0727-y>
24. Zhou BR, Zhang JA, Zhang Q, Permatasari F, Xu Y, Wu D, et al. Palmitic acid induces production of proinflammatory cytokines interleukin-6, interleukin-1 β , and tumor necrosis factor- α via a NF- κ B-dependent mechanism in HaCaT keratinocytes. *Mediators Inflamm.* 2013;5:304-329. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/530429>
25. Стома И.О. Микробиом дыхательных путей. Учебно-методическое пособие. Москва; 2023.
- Stoma IO. The microbiome of the respiratory tract. Educational and methodical manual. Moscow, 2023. (In Russ.).
26. Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell.* 2014;157(1):121-141. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.011>
27. Liang HY, Li XL, Yu XS, et al. Facts and fiction of the relationship between preexisting tuberculosis and lung cancer risk: a systematic review. *Int J Cancer.* 2009;125(12):2936-2944. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.24636>
28. Lee SH, Sung JY, Yong D, Chun J, Kim SY, Song JH, et al. Characterization of microbiome in bronchoalveolar lavage fluid of patients with lung cancer comparing with benign mass like lesions. *Lung Cancer.* 2016;102:89-95. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2016.10.016>

Информация об авторах / Information about the authors

Майсеенко Виктория Игоревна, старший преподаватель кафедры фтизиопульмонологии с курсом ФПКП, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2133-4360>

e-mail: vikamaiseenka@gmail.com

Буйневич Ирина Викторовна, к.м.н., доцент, заведующий кафедрой фтизиопульмонологии с курсом ФПКП, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3241-4182>

e-mail: bryllina@mail.ru

Viktoryia I. Maiseenka, Senior Lecturer at the Department of Phthisiopulmonology with the course of Advanced Training and Retraining, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2133-4360>

e-mail: vikamaiseenka@gmail.com

Iryna V. Buinevich, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Phthisiopulmonology with the course of Advanced Training and Retraining, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3241-4182>

e-mail: bryllina@mail.ru

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

Ковалев 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

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, 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

Alexey A. Zyatskov, Alexey A. Zyatskov, 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

Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

Майсеенко Виктория Игоревна

e-mail: vikamaiseenka@gmail.com

Viktoryia I. Maiseenka

e-mail: vikamaiseenka@gmail.com

Поступила в редакцию / Received 02.07.2024

Поступила после рецензирования / Accepted 14.07.2024

Принята к публикации / Revised 14.08.2024