

КОЛИБАКТИН-ПРОДУЦИРУЮЩАЯ *E. COLI* И ЕЕ КОРРЕЛЯЦИЯ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ У КАЗАХСТАНСКИХ ПАЦИЕНТОВСурдеану А.Х.¹, Курентай Б.А.¹, Гусмаулемова А.Д.¹, Баянбек Д.С.¹, Кулмамбетова Г.Н.*²¹ТОО «Национальный центр биотехнологии», Кургальжинское шоссе 13/5, Астана, Казахстан, 010000²Кафедра биотехнологии и микробиологии, Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан, 010000

*kulmambetova@biocenter.kz

АБСТРАКТ

В последние годы все больше данных подтверждает значимость кишечного дисбиоза в развитии и прогрессировании колоректального рака (КРР). Особое внимание уделяется *Escherichia coli*, продуцирующей колибактин, которая рассматривается как один из ключевых микробных факторов канцерогенеза. Колибактин-продуцирующая *Escherichia coli* несет остров патогенности *pks*, кодирующий низкомолекулярный гентоксин колибактин. Этот токсин оказывает выраженное цитотоксическое действие на эпителиальные клетки кишечника, вызывая двунитевые разрывы ДНК и остановку клеточного цикла. Подобные повреждения способствуют развитию геномной нестабильности, что в конечном итоге повышает риск возникновения и прогрессирования колоректального рака.

Целью нашего исследования было определение клинической роли *pks+* *E. coli* в развитии и прогрессировании КРР у Казахстанских пациентов. От 113 пациентов Национального научного онкологического центра с подтвержденным диагнозом колоректальной аденокарциномы были получены биоптаты слизистой оболочки кишечника из трех мест (опухоль, прилежащий к опухоли неизмененный участок и дистально расположенный здоровый участок). Для обнаружения маркерных генов колибактина (*clbA*, *clbB*, *clbQ*) в отобранном биоматериале были использованы методы количественной ПЦР и рутинной ПЦР. Была проведена комплексная оценка взаимосвязи между носительством *pks+* *Escherichia coli* и такими факторами, как размер и локализация опухоли, потребление красного и переработанного мяса, наличие вредных привычек, а также метаболические и соматические заболевания у пациентов.

Наши результаты продемонстрировали, что колибактин-продуцирующая *E. coli* выявлялась у онкологических пациентов в 60% биопсий опухолевой ткани, в 53% образцов из прилежащих к опухоли участков и в 54% биоптатов из дистально расположенной слизистой оболочки кишечника ($P > 0,05$). Выявлена статистически достоверная взаимосвязь между носительством *pks+* *Escherichia coli* и размером опухоли у пациентов с КРР ($P = 0,009$). Это может указывать на то, что патогенные штаммы *E. coli* выступают не только как драйверные микроорганизмы, инициирующие канцерогенез толстой кишки, но и как потенциальные долгосрочные колонизаторы опухолевой ткани, вовлеченные в патогенез и прогрессирование заболевания на более поздних стадиях.

Ключевые слова: *Escherichia coli*, *pks+*, детекция, колибактин, колоректальный рак, кПЦР, опухоль

ВВЕДЕНИЕ

Колоректальный рак является одной из ведущих проблем онкологической службы и здравоохранения в целом. Среди женщин это вторая по распространенности форма рака и третья среди мужчин. Несмотря на то, что достигнут определенный прогресс в определении мутаций маркерных генов, участвующих в опухолеобразовании кишечника, роль микробиоты, как драйвера спорадических поломок ДНК энтероцитов, еще изучается [1]. Кроме этого к факторам риска, способствующих развитию КРР, можно отнести вредные привычки, такие как курение и алкоголь, несбалансированную диету, прием антибиотиков, гормональный дисбаланс и загрязнение окружающей среды [2].

Кишечник является уникальным органом, населяющие микроорганизмы которого, по количеству клеток, превосходят любой другой человеческий орган и даже весь организм в целом, а набор генов прокариотических симбионтов превышает человеческий геном в 150 раз [3]. Микробиота напрямую влияет на гомеостаз желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и является одним из важных факторов поддержания нормальной физиологии человека [4]. Комменсальные бактерии обеспечивают иммуномоду-

лирующую, метаболическую, барьерную, детоксикационную и синтетическую функции [5]. Например, некоторые метаболиты, полученные путем ферментирования углеводов симбиотической микрофлорой, являются энергетическими и питательными субстратами для энтероцитов, в то время как другие регулируют клеточные процессы и поддерживают гомеостаз глюкозы [6]. В микробиоте кишечника основными доминирующими типами бактерий являются *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*. Нарушение соотношения доминирующих типов симбиотических бактерий, снижение бактериального разнообразия и сдвиг микрофлоры в пользу патогенных микроорганизмов может влиять на риски развития опухолеобразования в кишечнике [1].

В последние годы многие исследования сфокусированы на выявлении определенных проканцерогенных бактерий, связанных с КРР. Одним из таких патогенных представителей кишечной микрофлоры является колибактин-продуцирующая *Escherichia coli*, которая нередко обнаруживается в биопсиях опухолей толстой кишки [7].

В целом кишечная палочка является комменсальным микроорганизмом семейства *Enterobacteriaceae*, которая заселяет кишечник уже в течении первых дней жизни после рождения и является достаточно постоянным пред-

ставителем микрофлоры. Некоторые штаммы *Escherichia coli* являются патогенными и могут быть причиной ряда инфекционных заболеваний [8]. Патогенные штаммы *E. coli* вооружены рядом токсинов, в том числе группой токсинов-цикломодулинов, которые включают в себя колибактин, цитотоксический некротизирующий фактор, цитолетальный расширяющийся токсин и фактор ингибирования цикла [7]. Цикломодулины приводят к образованию ДНК-аддуктов, что приводит к межцепочным сшивкам и последующим двуцепочным разрывам, оказывая мутагенный эффект в эукариотических клетках, блокируют клеточный цикл и индуцируют пролиферацию [8]. Кроме того, адгезины FimH и FmlH pks+ штаммов *E. coli* обеспечивают бактериям близкий доступ и прикрепление к эпителиальным клеткам кишечника, значительно увеличивая их цитопатический и проканцерогенный потенциал [9].

В 2006 году Нугайред с коллегами впервые идентифицировал и описал геномный остров pks+ в патогенных штаммах кишечной палочки (HE3034), вызвавшей менингит. Им впервые было определено, что экспрессия генов острова поликетидсинтазы продуцирует генотоксин колибактин, вызывающий повреждение ядерной ДНК, остановку митоза и мегалоцитозу клеток-мишеней [10].

Колибактин представляет собой гибридный поликетид-нерибосомальный пептид, который кодируют 19 генов геномного островка pks. Как отмечалось ранее, колибактин обладает выраженной генотоксичностью, вызывая межцепочные сшивки ДНК (ICLs), которые приводят к образованию разрывов двойной нити ДНК (DSB) с последующей модификацией дифференцировки энтероцита и арестом клеточного цикла в фазе G2/M, что может способствовать канцерогенезу клетки. Во время развития опухоли и усиления воспалительной реакции в очаге поражения экспрессия отдельных генов pks-островка увеличивается, влияя на формирования микросреды опухоли [8]. Данные одного из крупных мета-анализов подтверждают, что колибактин-продуцирующая *E. coli* может увеличивать риск развития КРР по сравнению с контрольной группой пациентов [11].

Таким образом, целью нашего исследования было определение распространенности и клинической значимости pks+ *E. coli* в развитии и прогрессировании КРР у Казахстанских пациентов. Учитывая многочисленные исследования последних лет о значимой роли патогенных штаммов кишечной палочки в индукции и прогрессировании канцерогенеза толстого кишечника, мы стремились определить присутствие и сравнить распространенность данного патогена в очаге поражения, и в неизмененных прилегающих к опухоли и отдаленных от очага тканях. Кроме этого, целью нашего исследования было выяснить взаимосвязь между носительством pks+ *E. coli* и клинико-морфологическими характеристиками опухоли, а также дополнительным, не связанными с онкообразованием параметрами, касающиеся образа жизни, диеты и состояния здоровья онкопациентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты и сбор образцов

В нашем исследовании приняло участие 113 паци-

ентов (50 мужчин и 63 женщины), с октября 2022 года по апрель 2024 года в Национальном научном онкологическом центре г. Астаны, Казахстан. Все онкопациенты имели гистологически подтвержденный диагноз - колоректальная аденокарцинома, по поводу которого в стационаре им было проведено хирургическое лечение с резекцией опухоли и прилегающих к ней участков кишечника, а также региональных лимфотических узлов. Биоптаты слизистой оболочки кишечника для исследования брались из трех мест: непосредственно опухоль (СТ), нормальные проксимально прилегающие к опухоли ткани (АТ) и нормальные дистально расположенные от патологического очага ткани, взятые на расстоянии не менее 10 см от карциномы (НТ). Все материалы биопсии были фиксированы в 20% сахарозе и транспортированы в лабораторию в течение 2 часов.

Этическое одобрение

Все 113 пациентов дали свое письменное информативное согласие на участие в данном исследовании, которое было согласовано и одобрено Этической комиссией ТОО "Национальный центр биотехнологий" МЗ РК. Также, в соответствии с действующими руководствами, участниками были заполнены анкеты-опросники.

Экстракция ДНК и обнаружение pks+*Escherichia coli* в исследуемых образцах с помощью методов ПЦР

Экстракция ДНК из биоптатов пациентов с КРР производилась в соответствии с инструкцией набора DNA Micro Kit (Qiagen, Germany). С помощью спектрофотометра (NanoDrop 1000; Thermo Fisher Scientific, USA) были определены количественные и качественные характеристики ДНК исследуемых образцов.

Специфический ген pks-островка колибактин-продуцирующих штаммов *Escherichia coli* clbB использовался в качестве таргетного для количественного обнаружения с помощью РТ-ПЦР CFX384 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США). Реакцию проводили в 10 мкл, содержащий 5 мкл SYBR Green (BioLabs, Россия), 0,5 мкл каждого из специфических праймеров (10 мкМ), разведенных в воде и 50 нг/мкл ДНК. В качестве отрицательного контроля была использована вода, не содержащая нуклеаз. Значения порогового цикла (Ct) для pks+ *E. coli* нормализовали на стабильный контроль референсного housekeeping гена- транспортера органических анионов растворенных веществ (SLCO). Все анализы проведены в двух повторностях, с выведением среднего значения результатов для дальнейших расчетов. Количество pks+*Escherichia coli* в исследуемых тканях рассчитывалась по формуле $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{pks+ E. coli} - \Delta Ct_{SLCO}$, $Fold\ change = 2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Последовательность праймеров для амплификации гена clbB pks+*E. coli*

Прямой праймер:

5'-GCGCATCCTCAAGAGTAAATA-3';

Обратный праймер:

5'-GCGCTCTATGCTCATCAACC-3'.

Для определения наличия других вирулентных генов колибактина pks+*Escherichia coli* clbA и clbQ в изучаемых образцах был использован метод ПЦР.

Последовательность праймеров для амплификации

гена *clbA pks+ E. coli*

Прямой праймер:

5'-AAGCCGTATCCTGCTCAAAA-3';

Обратный праймер:

5'-GCTTCTTTGAGCGTCCACAT-3'.

Последовательность праймеров для амплификации гена *clbQ pks+ E. coli*

Прямой праймер:

5'-GCACGATCGGACAGGTTAAT-3';

Обратный праймер:

5'-TAGTCTCGGAGGGATCATGG-3'.

Реакцию ПЦР проводили с помощью CFX96 Real-Time System термоциклирующего блока C1000 Touch с использованием следующих условий: денатурация при 95°C в течение 5 минут, 35 циклов при 95°C в течение 30 секунд, 58 °C в течение 30 секунд, 72 °C в течение 45 секунд, с финальной элонгацией 72 °C в течение 5 минут.

Статистический анализ

Статистический анализ был произведен с помощью программного обеспечения R Studio (<https://www.r-project.org>), версия 4.2.0. Непрерывные переменные для двух независимых или парных выборок рассчитывались с использованием t-критерия Стьюдента, а для двух непарных групп с помощью критерия Манна–Уитни (Уилкоксона). Для сравнения более, чем двух независимых групп использовался критерий Краскела–Уоллиса. Для оценки статистической значимости между двумя категориальными переменными использовался тест Фишера, где значения P-value меньше 0,05 считается статистически значимым, а больше и равно 0,05 – нет.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Колоректальный рак по-прежнему остается одной из ведущих проблем онкологической службы Казахстана. В последние годы большое количество исследований подтверждают значительную роль дисбиоза микробиоты кишечника в развитии воспалительных процессов толстой

кишка с последующим ее канцерогенезом. Мы провели скрининг биопсий 113 пациентов с подтвержденным диагнозом КРП, подвергшихся оперативному вмешательству. Образцы для исследования на наличие *pks+E.coli* были отобраны из 3 мест: сама опухоль, прилежащая к ней ткань и отдаленный здоровый участок ткани толстого кишечника. Для подтверждения наличия колибактин-продуцирующих штаммов кишечной палочки у данных онкобольных был проведен RT-PCR анализ образцов биопсии трех локализаций для каждого конкретного пациента на наличие генов *clbA*, *clbB*, *clbQ*.

Колибактин-продуцирующая кишечная палочка была обнаружена у пациентов с КРП в 60% биоптатов взятых из опухоли, в 53% образцов взятых из прилежащей к опухоли ткани и в 54% образцов взятых из дистально расположенных от образования участков слизистой кишки. ($P > 0.05$). Как видно из таблицы 1 в Казахстанской популяции мужчины и женщины примерно в равной пропорции заболели раком, 44% и 56% соответственно. Также распространенность изучаемых патогенных штаммов кишечной палочки в данной выборке не зависела от пола и составила в образцах у мужчин 62% и 59% у женщин ($P = 0,84$). Из всех наблюдаемых пациентов только 4% употребляли алкоголь и 15% курили сигареты, и при сравнении с группой онкобольных без вредных привычек существенных различий во встречаемости *pks+E.coli* не выявлено ($P = 0,28$). Такие распространенные сопутствующие заболевания как гипертоническая болезнь ($P = 1$), диабет ($P = 0,26$) и ожирение ($P = 1$) у данной группы онкобольных тоже не дали статистически значимой разницы в заболеваемости раком толстого кишечника, как у пациентов с положительным статусом колибактин-продуцирующей кишечной палочки, так и без такового. Кроме этого, при сравнении локализации опухолевого процесса, например, в проксимальных и дистальных отделах толстого кишечника, не удалось выявить достоверных различий по преобладанию *pks+E.coli* среди данной выборки больных ($P = 0, 53$).

Таблица 1 - Распределение *pks* и характеристики выборки

Подгруппа	Pks-положительные	Pks-отрицательные	Всего	Статистическая значимость
Пол				
М	31 (62%)	19 (38%)	50 (44%)	p-value = 0.84
Ж	37 (59%)	26 (41%)	63 (56%)	
Диабет				
Да	13 (50%)	13 (50%)	26 (23%)	p-value = 0.26
Нет	55 (63%)	32 (37%)	87 (77%)	
Курение сигарет				
Да	8 (47%)	9 (53%)	17 (15%)	p-value = 0.28
Нет	60 (62%)	36 (38%)	96 (85%)	
Алкоголь				
Да	2 (50%)	2 (50%)	4 (4%)	p-value = 0.64
Нет	66 (61%)	42 (39%)	108 (96%)	

Гипертоническая болезнь				
Да	36 (60%)	24 (40%)	60 (53%)	p-value = 1
Нет	32 (60%)	21 (40%)	53 (47%)	
Локализация опухоли				
Проксимально	23 (66%)	12 (34%)	35 (31%)	p-value = 0.53
Дистально	45 (58%)	33 (42%)	78 (69%)	
ИМТ				
Норма	36 (63%)	21 (37%)	57 (90%)	p-value = 1
Выше нормы	4 (67%)	2 (33%)	6 (10%)	
Этническая принадлежность				
Азиаты	51 (65%)	28 (35%)	79 (71%)	p-value = 0.21
Европейцы	17 (52%)	16 (48%)	33 (29%)	
Степень дифференцировки опухоли				
GII	30 (61%)	19 (39%)	49 (44%)	p-value = 1
GIII	38 (60%)	25 (40%)	63 (56%)	

Из таблицы 2 видно, что употребление красного мяса, которое широко распространено на территории нашей страны и традиционно является частью рациона большинства населения не показало значительных различий в количестве копий колибактин-продуцирующей кишечной палочки ($P = 0,16$). Наличие в диете переработанного красного мяса, содержащего дополнительно потенциально вредные добавки и искусственные красители, которые оказывают негативное влияние на гомеостаз микробиоты кишечника, в нашей выборке онкопациентов не демонстрируют статистически значимого различия в распространенности *pks+E.coli* ($P = 0,54$). Возраст пациентов, как и индекс массы тела также не выявил достоверной разницы в преобладании колибактин-продуцирующей *Escherichia coli* у данных онкобольных ($P = 0,21$ и $P = 0,56$ соответственно).

Единственный показатель, демонстрирующий существенную статистическую значимость у пациентов с КРР в носительстве *pks+E.coli* является размер опухоли ($p = 0,009$). Увеличение размера опухоли достоверно коррелирует с положительным статусом *pks+ Escherichia coli* в кишечнике у данной группы больных.

Это совпадает с другими исследованиями, которые также подтверждают, что колибактин может индуцировать рост опухолей толстой кишки. Например, в исследовании на мышах АОМ/IL10(-/-) было продемонстрировано, что клетки опухоли, инфицированные колибактин-продуцирующей *Escherichia coli* демонстрируют более усилен-

ный рост как у моделей ксенотрансплантата, так и у моделей АОМ/DSS, по сравнению с неинфицированными неоклетками. В основе механизма лежит цитопатическое действие генотоксина колибактина, которое вызывает повреждение ДНК, что ведет к запуску механизмов старения клеток (сенестенции) с последующим накоплением в них p53, активацией провоспалительных факторов и факторов роста [12]. Другое исследование на мышинных моделях АОМ/DSS также подтверждает, что колонизация кишечника колибактин-продуцирующим штаммом *E.coli* (EcNC101WT) способствует увеличению количества и размера опухолей в толстом кишечнике по сравнению с мышами колонизированных штаммом, не способным синтезировать колибактин (EcNC101WT Δ *clbP*) [13].

ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании проведенном соавторами ранее, было выявлено, что *Escherichia coli* в практически 70% случаях обнаруживалась в тканях опухоли толстого кишечника в казахстанской популяции, что послужило поводом для дальнейшего исследования этого патобионта на наличие кластера генов *pks* у данной группы пациентов [14]. В последние годы все больше исследований говорят о вкладе вирулентных штаммов *Escherichia coli* в развитие рака толстой кишки, что подтверждает один из крупных метаанализов 2022 года [11]. В нашем исследовании была установлена положительно коррелирующая связь между наличием колибактин-продуцирующей *Escherichia coli* и

Таблица 2 - Распределение *pks* и характеристики выборки

	Значение <i>pks</i>	Возраст	ИМТ	Размер опухоли	СЕА	Потребление переработанного мяса г/день	Потребление красного мяса г/день	Общее потребление мяса г/день
<i>pks</i>	положительные	62.76	26.66	5.17	10.33	30.94	188.97	262.34
	отрицательные	60.11	27.21	4.02	103.90	24.14	146.73	236.96
	p-value	0.21	0.56	0.009	0.29	0.54	0.16	0.61

образцах биопсий пациентов с КРР и более большим размером опухоли. Это перекликается с исследованиями на мышинных моделях, где инфицирование *pks+E.coli* животных с раком кишечника имели большие размеры опухоли по объему, а также по количеству [12, 13]. Есть исследования, которые отмечают, что прогрессирование рака толстой кишки отрицательно коррелирует с распространенностью *pks+ Escherichia coli*. Например, в исследовании пациентов с КРР в Японии, отмечается негативная связь между размером опухоли и количеством копий колибактин-продуцирующей *Escherichia coli*. Авторы делают вывод, что патогенные штаммы кишечной палочки скорее всего играют роль “драйверных” бактерий, инициирующих канцерогенез слизистой кишечника, а затем значительно уменьшают свое присутствие в очаге на более поздних стадиях рака [15]. Необходимы дальнейшие исследования на наличие *pks+E.coli* у пациентов на разных стадиях рака, которые должны внести ясность в понимание взаимосвязи между ростом опухоли и количеством вирулентных кишечных палочек.

Интересно, что при сравнении нескольких исследований из разных регионов мира, можно заметить, что существует прямая статистически достоверная корреляция между наличием колибактин-продуцирующей *Escherichia coli* в микробиоме кишечника и раком толстой кишки в странах западной Европы (Великобритания, Франция) и Западной Азии (Ирак), в то время как в странах Восточной Азии (Япония) и Юго-Восточной Азии (Малайзия)

такая связь не является статистически существенной (Таблица 3).

Возможно, такая разница между странами обусловлена особенностями диеты в каждом конкретном регионе. Например, в исследовании на мышах было показано, что добавление постбиотика путресцина пробиотического штамма *Escherichia coli Nissle 1917* значительно снижает канцерогенную активность *pks+E.coli* и развитие опухоли толстого кишечника. Авторы предполагают, что употребление пищи, богатой путресцином может стать профилактической мерой, которая будет способствовать снижению риска КРР у носителей *pks+E. coli* [13]. В то время как в другом исследовании на мышах *Apc^{Min/+}* было продемонстрировано, что добавление пребиотика инулина в количестве 10% в рацион в течение 4 недель инфицированным *pks+E. coli* (EcNC101) животным приводило к усилению роста колибактин-продуцирующих кишечных палочек, повышению маркеров двуцепочных разрывов ДНК (DSB) и способствовало прогрессированию опухоли толстого кишечника [16]. Таким образом можно сделать вывод, что рацион питания может оказывать непосредственное влияние на количество *pks+ Escherichia coli*, угнетая или стимулируя их рост и активность, и способствует как прогрессированию, так и подавлению опухолеобразования в толстой кишке. Учитывая тот факт, что разные регионы мира имеют существенные вариации в предпочтениях в диете, состав микробиоты, в этом случае также будет характеризоваться уникальными сигнатурами

Таблица 3 - Сравнение распространенности *pks* предыдущих исследований

Название исследования	Образец	Количество пациентов	Страна	Преобладание <i>pks+E.coli</i>
<i>Shimpoh et al., 2017 Япония(28)</i>	Смыв толстой кишки	98	Япония	рак-43% контроль-46% p>0,05
<i>Alalwany et al. 2024, Ирак. (2)</i>	Ткань толстой кишки	80	Ирак	рак-62% контроль-0% p<0,001
<i>Chen B., et al. 2023, Великобритания. (5)</i>	Крипты толстой кишки	30	Великобритания	рак-78,5% контроль-29,6% p<0,01
<i>Iwasaki et al. 2022, Япония. (8)</i>	Кал	968	Япония	рак-32,6% контроль-30,8% p>0,05
<i>Thevambiga Iyadorai et al., 2020 Малайзия. (9)</i>	Слизистая толстой кишки	71	Малайзия	рак-16,7% контроль-4,3% p>0,05
<i>Buc et al., 2013, Франция. (4)</i>	Слизистая толстой кишки	69	Франция	рак-55,3% контроль-19,3% p<0,01

в зависимости от страны. Поэтому уместно будет предположить, что разница в канцерогенном потенциале *pks+E.coli* в различных регионах, возможно, обусловлена особенностями микробиомного ландшафта исследуемых, где другие представители микробиоты или их метаболиты, имеющие агонистический эффект на колибактин, подавляют его действие и корреляция с КРР в данном случае не является статистически существенной.

В исследовании, проведенном ранее среди казахстанских онкобольных с КРР была выявлена статистически значимая взаимосвязь между наличием в микрофлоре у пациентов *Escherichia coli* и потреблением красного и переработанного мяса, по сравнению с пациентами-носителями без опухолевого процесса в кишечнике ($P=0.04$) [14]. Ряд метаанализов последних лет, показывает, что употребление красного мяса в определенной степени повышает риск развития рака толстой кишки. Метаанализ на основе 27 исследований, опубликованный в августе 2025 года, показал статистически значимую положительную ассоциацию между употреблением мяса говядины и увеличением риска опухолеобразования толстого кишечника на 30% ($RR = 1.19$, 95% CI : 0.99–1.43, $p = 0.06$) [17]. Другой метаанализ, опубликованный в 2025 году, также подтверждается статистически значимое увеличение риска возникновения КРР при употреблении красного и переработанного мяса. Для красного мяса показатель рака увеличивался на 15-22% (HR 1,15–1,22; 95% CI 1,07–1,39), для переработанного- до 21% (HR 1,13–1,21; 95% CI 1,07–1,30), общее потребление мяса увеличивало риск возникновения опухолевого процесса в толстой и прямой кишке на 17-28% (HR 1,13–1,21; 95% CI 1,10–1,48) [18]. Метаанализ 2001 года выявил, что употребление красного или любого другого мяса приводит к увеличению риска опухоли толстой кишки вплоть до 17%, а употребление переработанного мяса в количестве 25 грамм увеличивает риск неопроцесса в кишечнике на 49% [19].

Интересно, что в нашем исследовании мы не выявили существенной статистически значимой взаимосвязи между употреблением красного и переработанного мяса и носительством колибактин-продуцирующей *Escherichia coli* у пациентов с КРР. Так в другом исследовании, основанном на данных двух проспективных когорт была выявлена статистически подтвержденная взаимосвязь между западным стилем питания и наличием опухоли толстого кишечника с более высоким титром *pks+E.coli* ($P=0.01$). Но в ходе вторичного анализа для оценки связи между количеством потребляемого мяса (общего, переработанного и необработанного), как наибольшей части индекса западной диеты и рака толстого кишечника по статусу *pks+Escherichia coli* статистически достоверной корреляции обнаружено не было ни для одной переменной ($P>0.05$) [20].

Таким образом, можно предположить, что стиль питания в определенной степени модулирует риски развития КРР, особенно в контексте дисбиотических состояний микрофлоры кишечника, но определение конкретных пищевых компонентов и веществ, а также отдельных микроорганизмов и их микробиального взаимодействия, влияющих на канцерогенный потенциал *pks+E.coli* требуют дальнейших масштабных исследований. Кроме этого, в этом

исследовании мы не выявили существенной статистически значимой взаимосвязи между этнической принадлежностью пациентов, их образом жизни, сопутствующими соматическими заболеваниями, локализацией опухоли и носительством колибактин-продуцирующей *Escherichia coli*.

Одним из лимитирующих факторов нашего исследования была недостаточно большая выборка пациентов. Увеличение выборки онкобольных могло бы повысить мощность исследования и позволило бы точнее и детальнее выявить ассоциации между носительством колибактин-продуцирующей *Escherichia coli* и клинико-морфологическими характеристиками исследуемых. Кроме этого, использование такого современного и высокочувствительного метода как цифровая ПЦР для абсолютной детекции генов-мишеней в образце, повысило бы точность и аккуратность полученных результатов. В целом используемые нами методы амплификации ДНК (RT-PCR и PCR) являются надежными, достоверными и широко применяемыми в исследованиях по всему миру. Учитывая, что исследование на распространенность *pks+E.coli* у пациентов с КРР в Казахстанской популяции проводится впервые, выборка в 113 человек является достаточной для оценки потенциальной важности этого патогена в развитии и прогрессировании КРР и заключении предварительных выводов. Для точного подтверждения наших результатов необходимы дополнительные исследования с большей выборкой пациентов.

ВЫВОДЫ

Обнаруженная положительная корреляция между размером опухоли и количеством копий *pks+E.coli* указывает на определенную роль этого патогена в этиопатогенезе рака толстой кишки не только на начальных стадиях неопластического процесса, но и на более поздних. Это служит поводом для дальнейших исследований роли колибактин-продуцирующей *Escherichia coli* в формировании и прогрессировании КРР, а также делает ее перспективным биомаркером для формирования новых подходов в диагностике, прогнозировании и лечении рака толстого кишечника.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (грант № AP23488977).

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Pandey H., Tang D.W.T., Wong S.H. et al. Gut Microbiota in Colorectal Cancer: Biological Role and Therapeutic Opportunities // *Cancers* (Basel). – 2023. – Vol.15, №3.
- 2 Akinduti P.A., Izevbigie O.O., Akinduti O.A. et al. Fecal Carriage of Colibactin-Encoding *Escherichia coli* Associated With Colorectal Cancer Among a Student Populace // *Open Forum Infect Dis*. – 2024. – Vol.11, №4. – P.ofae106.
- 3 Qin J., Li R., Raes J. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing // *Nature*. – 2010. – Vol.464, №7285. – P.59-65.

- 4 Neish A.S. Microbes in gastrointestinal health and disease // *Gastroenterology*. – 2009. – Vol.136, №1. – P.65-80.
- 5 Jandhyala S.M., Talukdar R., Subramanyam C. et al. Role of the normal gut microbiota // *World J Gastroenterol*. – 2015. – Vol.21, №29. – P.8787-8803.
- 6 Villéger R., Lopès A., Veziat J. et al. Microbial markers in colorectal cancer detection and/or prognosis // *World J Gastroenterol*. – 2018. – Vol.24, №22. – P.2327-2347.
- 7 Tariq H., Noreen Z., Ahmad A. et al. Colibactin possessing *E. coli* isolates in association with colorectal cancer and their genetic diversity among Pakistani population // *PLoS One*. – 2022. – Vol.17, №11. – P.e0262662.
- 8 Sadeghi M., Mestivier D., Sobhani I. Contribution of pks+ *Escherichia coli* (*E. coli*) to Colon Carcinogenesis // *Microorganisms*. – 2024. – Vol.12, №6.
- 9 Jans M., Kolata M., Blancke G. et al. Colibactin-driven colon cancer requires adhesin-mediated epithelial binding // *Nature*. – 2024. – Vol.635, №8038. – P.472-480.
- 10 Nougayrède J.P., Homburg S., Taieb F. et al. *Escherichia coli* induces DNA double-strand breaks in eukaryotic cells // *Science*. – 2006. – Vol.313, №5788. – P.848-851.
- 11 Gaab M.E., Lozano P.O., Ibañez D. et al. A Meta-Analysis on the Association of Colibactin-Producing pks+ *Escherichia coli* with the Development of Colorectal Cancer // *Lab Med*. – 2023. – Vol.54, №1. – P.75-82.
- 12 Cougnoux A., Dalmasso G., Martinez R. et al. Bacterial genotoxin colibactin promotes colon tumour growth by inducing a senescence-associated secretory phenotype // *Gut*. – 2014. – Vol.63, №12. – P.1932-1942.
- 13 Oliero M., Cuisiniere T., Ajayi A.S. et al. Putrescine Supplementation Limits the Expansion of pks+ *Escherichia coli* and Tumor Development in the Colon // *Cancer Res Commun*. – 2024. – Vol.4, №7. – P.1777-1792.
- 14 Kulmambetova G., Kurentay B., Gusmaulemova A. et al. Association of *Fusobacterium nucleatum* infection with colorectal cancer in Kazakhstani patients // *Front Oncol*. – 2024. – Vol.14. – P.1473575.
- 15 Miyasaka T., Yamada T., Uehara K. et al. Pks-positive *Escherichia coli* in tumor tissue and surrounding normal mucosal tissue of colorectal cancer patients // *Cancer Sci*. – 2024. – Vol.115, №4. – P.1184-1195.
- 16 Oliero M., Hajjar R., Cuisiniere T. et al. Inulin impacts tumorigenesis promotion by colibactin-producing *Escherichia coli* in *Apc(Min/+)* mice // *Front Microbiol*. – 2023. – Vol.14. – P.1067505.
- 17 Woon J.Y., Vidanapathirana G., Lam A.K. et al. Systematic Analysis of the Differential Effects of Red Meat on Colorectal Cancer Risks: A Meta-Analytic Approach // *J Gastrointest Cancer*. – 2025. – Vol.56, №1. – P.170.
- 18 Ungvari Z., Fekete M., Varga P. et al. Association between red and processed meat consumption and colorectal cancer risk: a comprehensive meta-analysis of prospective studies // *Geroscience*. – 2025. – Vol.47, №3. – P.5123-5140.
- 19 Sandhu M.S., White I.R., McPherson K. Systematic review of the prospective cohort studies on meat consumption and colorectal cancer risk: a meta-analytical approach // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. – 2001. – Vol.10, №5. – P.439-446.
- 20 Arima K., Zhong R., Ugai T. et al. Western-Style Diet, pks Island-Carrying *Escherichia coli*, and Colorectal Cancer: Analyses From Two Large Prospective Cohort Studies // *Gastroenterology*. – 2022. – Vol.163, №4. – P.862-874.

UDC 616.34

COLIBACTIN-PRODUCING *E. COLI* AND ITS CORRELATION WITH COLORECTAL CANCER IN KAZAKHSTANI PATIENTSSurdeanu A.K², Kurentay B.A¹, Gusmaulemova A.D¹, Bayanbek D.S¹, Kulmambetova G.N^{1*}.¹LLP «National Center for Biotechnology», Korgalzhyn highway 13/5, Astana, Kazakhstan, 010000²Department of Biotechnology and Microbiology, L.N. Gumilyov Eurasian National University. Astana, Kazakhstan, 010000

*kulmambetova@biocenter.kz

ABSTRACT

In recent years, increasing evidence has confirmed the importance of intestinal dysbiosis in the development and progression of colorectal cancer (CRC). Particular attention is paid to colibactin-producing *Escherichia coli*, which is considered one of the key microbial factors in carcinogenesis. Colibactin-producing *Escherichia coli* carries the pks pathogenicity island encoding the low-molecular genotoxin colibactin. This toxin has a pronounced cytotoxic effect on intestinal epithelial cells, causing double-strand DNA breaks and cell cycle arrest. Such damage contributes to the development of genomic instability, which ultimately increases the risk of colorectal cancer.

The aim of our study was to determine the clinical role of pks+ *E. coli* in the development and progression of CRC in Kazakhstani patients. Biopsies of the intestinal mucosa were obtained from 113 patients of the National Scientific Oncology Center with a confirmed diagnosis of colorectal adenocarcinoma from three sites (tumor, adjacent tumor-unaltered area, and distally located healthy area). To detect marker genes of colibactin (clbA, clbB, clbQ) in the selected biomaterial, quantitative PCR and routine PCR methods were used. A comprehensive assessment of the relationship between the carriage of pks+ *Escherichia coli* and such factors as tumor size and location, consumption of red and processed meat, the presence of bad habits, as well as metabolic and somatic diseases in patients was carried out.

Our results demonstrated that colibactin-producing *E. coli* was detected in 60% of tumor tissue biopsies, 53% of tumor-adjacent samples, and 54% of distal intestinal mucosa biopsies in cancer patients ($P > 0.05$). A statistically significant relationship was found between pks+ *Escherichia coli* carriage and tumor size in patients with CRC ($P = 0.009$). This may indicate that pathogenic *E. coli* strains act not only as driver microorganisms initiating colon carcinogenesis, but also as potential long-term colonizers of tumor tissue involved in the pathogenesis and progression of the disease at later stages.

Keywords: *Escherichia coli*, pks+, detection, colibactin, colorectal cancer, qPCR, tumor

УДК 616.34

КОЛИБАКТИН ӨНДІРЕТІН *E. SOLI* ЖӘНЕ ОНЫҢ ҚАЗАҚСТАНДЫҚ ПАЦИЕНТТЕРДЕГІ КОЛОРЕКТАЛЬДЫ ОБЫРМЕН КОРРЕЛЯЦИЯСЫСүрдеану Ә.Х², Күрентай Б.А¹, Ғұсмәулемова А.Д¹, Баянбек Д.С¹, Құлмамбетова Г.Н^{1*}¹ТОО «Ұлттық биотехнология орталығы», Қорғалжын шоссеі 13/5, Астана, Қазақстан, 010000²Биотехнология және микробиология кафедрасы, Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті. Л.Н. Гумилева г. Астана, Қазақстан

*kulmambetova@biocenter.kz

АБСТРАКТ

Соңғы жылдары колоректальды қатерлі ісіктің (КҚІ) дамуы мен дамуындағы ішек дисбиозының маңыздылығын растайтын мәліметтер көбейіп келеді. Канцерогенездің негізгі микробтық факторларының бірі ретінде қарастырылатын колибактин өндіретін *Escherichia coli* - ге ерекше назар аударылады. Колибактин өндіретін *Escherichia coli* төмен молекулалы генотоксин колибактинді кодтайтын pks патогендік аралын алып жүреді. Бұл токсин ішектің эпителий жасушаларына айқын цитотоксикалық әсер етеді, ДНҚ-ның екі рет бөлінуіне және жасуша циклінің тоқтауына әкеледі. Мұндай өзгерістер геномдық тәуелсіздікке ықпал етеді, нәтижесінде колоректальды қатерлі ісіктің пайда болуы мен өршу қаупі артады.

Біздің зерттеуіміздің мақсаты Қазақстандық пациенттерде pks+ *E. coli* КҚІ дамуы мен прогрессиясындағы клиникалық рөлін анықтау болды. Колоректальды аденокарцинома диагнозы расталған Ұлттық ғылыми онкологиялық орталықтың 113 пациентінен үш жерден ішектің шырышты қабығының биоптаттары алынды (ісік, ісікке бейім өзгермеген аймақ және дистальды орналасқан сау аймақ). Таңдалған биоматериалда колибактиннің маркер гендерін (clbA, clbB, clbQ) зерттеу үшін ПТР саны мен әдеттегі ПТР әдістері қолданылды. pks+ *Escherichia coli* тасымалдаушылары мен ісік мөлшері мен локализациясы, қызыл және өңделген ет әсері, зиянды заттардың болуы, пациенттердегі метаболикалық және соматикалық аурулар сияқты факторлар арасында кешенді бағалау жүргізілді.

Біздің нәтижелеріміз ісік тінінің биопсиясында 60%, ісік аймақтарында 53% және дистальды орналасқан ішек шырышты қабығының 54% ($P > 0,05$) онкологиялық науқастарда колибактин өндіретін *E. coli* анықталғанын көрсетті.

Статистика *pks+* *Escherichia coli* тасымалдаушысы мен КҚІ бар науқастарда ісік мөлшері арасындағы сенімді байланысы анықталды ($P=0,009$). Бұл *E. coli* патогендік штамдары тоқ ішектің канцерогенезін бастайтын драйвер микроорганизмдері ретінде ғана емес, сонымен қатар аурудың кейінгі кезеңдерінде патогенезі мен өршуіне қатысатын ісік тінінің әлеуетті ұзақ мерзімді колонизаторлары ретінде де пайда болатынын көрсетуі мүмкін.

Түйін сөздер: *Escherichia coli*, *pks+*, анықтау, колибактин, тоқ ішек ісігі, сПТР, ісік