



# Основные молекулярно-биологические, метаболические и иммунологические механизмы трансплантации фекальной микробиоты

О.В. Голощапов<sup>1\*</sup>, А.В. Бейнарович<sup>1</sup>, А.Б. Чухловин<sup>1</sup>, Р.В. Клементьева<sup>1</sup>, А.А. Щербаков<sup>1</sup>, Е.А. Бакин<sup>1</sup>, И.К. Голубовская<sup>1</sup>, Н.Д. Венцловайте<sup>2</sup>, О.С. Юдинцева<sup>1</sup>, М.В. Горчакова<sup>1</sup>, В.Е. Карев<sup>2</sup>, М.А. Кучер<sup>1</sup>, М.А. Суворова<sup>3</sup>, Е.В. Светкина<sup>4</sup>, Г.Г. Родионов<sup>4</sup>, В.В. Гостев<sup>2,5</sup>, С.В. Сидоренко<sup>2,5</sup>, И.С. Моисеев<sup>1</sup>, А.Д. Кулагин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>3</sup> Научно-исследовательская лаборатория «Explana», Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>4</sup> ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» Министерства Российской Федерации по делам гражданской обороны, чрезвычайным ситуациям и ликвидации последствий стихийных бедствий, Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>5</sup> ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

**Цель представления клинического наблюдения:** продемонстрировать основные молекулярно-биологические, метаболические и иммунологические эффекты трансплантации фекальной микробиоты (ТФМ) на примере редкого случая развития острой реакции «трансплантат против хозяина» с поражением кишечника (РТПХ ЖКТ) у пациентки после проведения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК).

**Материалы и методы.** Для оценки основных, известных механизмов ТФМ было использовано таргетное секвенирование фрагментов V3–V4 участка гена 16S рРНК на платформе Miseq (16s секвенирования), мультиплексная полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, хромато-масс-спектрометрия, иммунофенотипирование субпопуляций лимфоцитов, гистологический и иммуногистохимический методы исследования.

**Клинический случай.** Пациентке 40 лет с диагнозом «миелодиспластический синдром», анамнезом двух неуспешных алло-ТГСК в связи с неприживлением трансплантата в качестве «терапии спасения» была выполнена третья гаплоидентичная ТГСК от отца. В связи с развитием в раннем посттрансплантационном периоде вирусно-бактериального колита (ассоциированного с полирезистентным штаммом *K. pneumoniae* и вирусом герпеса 6-го типа) на 46–47-е сутки после алло-ТГСК была выполнена ТФМ. После проведенной процедуры отмечалось полное разрешение симптомов энтеропатии. Однако на Д+106 после гаплоидентичной ТГСК в связи с детекцией минимальной остаточной болезни была отменена иммуносупрессивная терапия, что привело к развитию РТПХ по типу overlap-синдрома с поражением кожи 4-й степени, слизистых оболочек кишечника 3-й степени. Это потребовало возобновления и в последующем усиления иммуносупрессивной терапии, на фоне чего отмечалось полное разрешение симптомов РТПХ.

После выполнения ТФМ у пациентки отмечено полное разрешение клинических симптомов вирусно-бактериального колита. По результатам 16s секвенирования, значимо возросло видовое разнообразие фекальной микробиоты, выявлено уменьшение относительного количества условно-патогенных бактерий (род *Klebsiella*, *Enterococcus*, *Streptococcus*), уверенный рост комменсальных микроорганизмов: *Bacteroides*, появление родов *Faecalibacterium*, *Blautia*, *Rozesburia*. Развитие острой РТПХ ЖКТ, спровоцированной отменой такролимуса, способствовало повторному эпизоду обеднения микробиоты кишечника. По мере разрешения симптомов РТПХ на фоне возобновления иммуносупрессии был вновь зафиксирован рост индекса Шеннона, а состав фекальной микробиоты пациентки приблизился к таковому у донора. Состав микробиоты на всех клинических этапах — до и после ТФМ, в период максимальной манифестации симптомов острой РТПХ кишечника, усиления иммуносупрессивной терапии — оказывал влияние на метаболизм желчных, жирных кислот плазмы крови и на показатели иммунной системы.

**Выводы.** ТФМ может быть частью терапии, направленной на раннюю реконституцию иммунной системы и обмена органических кислот, у пациентов после алло-ТГСК. Состав фекальной микробиоты, метаболический профиль и спектр субпопуляции лимфоцитов могут быть маркерами контроля комплексной реабилитации после алло-ТГСК.

**Ключевые слова:** трансплантация фекальной микробиоты, реакция «трансплантат против хозяина», аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, метаболом, желчные кислоты, субпопуляция лимфоцитов

**Финансирование:** анализ результатов выполнен при поддержке гранта РФФИ № 20-315-90083.

**Конфликт интересов:** Бакин Е.А. работал над исследованием, когда был сотрудником НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. академика И.П. Павлова» (Санкт-Петербург, Россия). В настоящее время Бакин Е.А. — сотрудник компании CytoReason (Тель-Авив, Израиль). Венцловайте Н.Д. работала над исследованием, когда была сотрудником НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой, ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. академика И.П. Павлова» (Санкт-Петербург, Россия). В настоящее время Венцловайте Н.Д. — сотрудник компании ООО «Немецкий Медицинский Центр» (Россия). Другие авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Благодарность:** авторы выражают благодарность Прокофьевой Ольге Анатольевне, Жаравиной Светлане Васильевне за организационную работу при проведении исследования.

**Для цитирования:** Голощапов О.В., Бейнарлович А.В., Чухловин А.Б., Клементьева Р.В., Щербakov А.А., Бакин Е.А., Голубовская И.К., Венцловайте Н.Д., Юдинцева О.С., Горчакова М.В., Карев В.Е., Кучер М.А., Суворова М.А., Светкина Е.В., Родионов Г.Г., Гостев В.В., Сидоренко С.В., Моисеев И.С., Кулагин А.Д. Основные молекулярно-биологические, метаболические и иммунологические механизмы трансплантации фекальной микробиоты. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2024;34(5):59–74. <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2024-34-5-59-74>

## Basic Molecular Biology, Metabolic and Immunological Mechanisms of Fecal Microbiota Transplantation

Oleg V. Goloshchapov<sup>1\*</sup>, Anastasia V. Beynarovich<sup>1</sup>, Alexey B. Chukhlovina<sup>1</sup>, Ruslana V. Klementeva<sup>1</sup>, Alexander A. Shcherbakov<sup>1</sup>, Evgeny A. Bakin<sup>1</sup>, Irina K. Golubovskaya<sup>1</sup>, Natalia D. Ventslovayte<sup>2</sup>, Olesya S. Yudinseva<sup>1</sup>, Margarita V. Gorchakova<sup>1</sup>, Vadim E. Karev<sup>2</sup>, Maxim A. Kucher<sup>1</sup>, Mariia A. Suvorova<sup>3</sup>, Ekaterina V. Svetkina<sup>4</sup>, Gennadij G. Rodionov<sup>4</sup>, Vladimir V. Gostev<sup>2,5</sup>, Sergey V. Sidorenko<sup>2,5</sup>, Ivan S. Moiseev<sup>1</sup>, Alexander D. Kulagin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> R. Gorbacheva Memorial Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup> Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russian Federation

<sup>3</sup> Explana Research Laboratory, Saint Petersburg, Russian Federation

<sup>4</sup> A.M. Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine of the Ministry of Russian Federation for Civil Defense, Emergencies and Elimination of Consequences of Natural Disasters

<sup>5</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russian Federation

**Aim:** demonstration of basic molecular biological, metabolic and immunological effects of fecal microbiota transplantation (FMT), on the example of a rare case of acute graft-versus-host disease (GVHD) with intestinal damage in a patient after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT).

**Materials and methods.** To monitor the basic effects of FMT, we performed targeted DNA sequencing of 16S rRNA gene (V3–V4) using MiSeq platform as well as multiplex real-time PCR, MS/gas chromatography technique, immunophenotyping of blood lymphocytes, histological and immunohistochemical techniques.

**Clinical case.** A 40-year-old female patient diagnosed with myelodysplastic syndrome, with a history of two unsuccessful allo-HSCTs due to graft failure, underwent the third haploidentical HSCT (haplo-HSCT) from her father as ‘salvage’ therapy. Due to early viral/bacterial colitis post-transplant associated with a multidrug-resistant strain of *K. pneumoniae* and herpes virus type 6, FMT was performed on days 46 and 47 after allo-HSCT. Complete resolution of the enteropathy symptoms was noted following FMT. However, immunosuppressive therapy was canceled on D+106 after haplo-HSCT due to the detection of minimal residual disease causing development of the ‘overlap’-type GVHD with damage skin lesions grade 4, and intestinal mucous membranes grade 3. This complication required resumption and subsequent intensification of immunosuppressive therapy with complete resolution of GVHD symptoms.

Following FMT treatment, the patient showed complete resolution of clinical colitis symptoms. According to results of 16S rRNA sequencing, the species-specific diversity of fecal microbiota increased significantly, along with decreased relative contents of opportunistic bacteria (*Klebsiella*, *Enterococcus*, *Streptococcus* genera). A significant growth was revealed for commensal *Bacteroidota*, and re-emergence of *Faecalibacterium*, *Blautia*, *Roseburia*. Acute gastrointestinal GVHD promoted by tacrolimus withdrawal was associated with repeated depletion of intestinal microbiota. Upon resolution of GVHD and resumed immunosuppression, increased microbiota diversity (Shannon index) was again recorded, and the parameters of patient’s fecal microbiota reached the donor values. The microbiota shifts at all clinical stages (before and after FMT, at the peak of acute intestinal GVHD and intensive immunosuppressive therapy) showed some relations with metabolism of bile and fatty acids in blood plasma and immune parameters.

**Conclusions.** FMT may be a component of complex therapy aimed at early reconstitution of immune system and organic acid metabolism in patients after allo-HSCT. The composition of fecal microbiota, metabolic profile and spectrum of lymphocyte subpopulations may be markers for monitoring complex rehabilitation after allo-HSCT.

**Keywords:** fecal microbiota transplantation, graft-versus-host disease, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, metabolome, bile acids, lymphocyte subpopulation

**Funding:** data analysis was supported by the grants from Russian Foundation for Fundamental Studies No. 20-315-90083.

**Conflict of interests:** Evgenyi A. Bakin performed the study at the R. Gorbacheva Memorial Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (Saint Petersburg, Russia). Currently, Evgenyi A. Bakin is a staff member at the CytoReason Company (Tel-Aviv, Israel). Natalia D. Venclovaite performed the study at the R. Gorbacheva Memorial Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (Saint Petersburg, Russia). Currently Natalia D. Venclovaite is a staff member of the German Medical Center (Russia). Other authors did not declare any conflicts of interest.

**Acknowledgement:** the authors are much appreciative to Olga A. Prokofieva and Svetlana V. Zharavina whose organizational efforts sufficiently promoted the study.

**For citation:** Goloshchapov O.V., Beynarovich A.V., Chukhlovin A.B., Klementeva R.V., Shcherbakov A.A., Bakin E.A., Golubovskaya I.K., Ventslovaite N.D., Yudinseva O.S., Gorchakova M.V., Karev V.E., Kucher M.A., Suvorova M.A., Svetkina E.V., Rodionov G.G., Gostev V.V., Sidorenko S.V., Moiseev I.S., Kulagin A.D. Basic Molecular Biology, Metabolic and Immunological Mechanisms of Fecal Microbiota Transplantation. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 2024;34(5):59–74. <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2024-34-5-59-74>

## Введение

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) остается наиболее эффективным методом лечения большинства злокачественных заболеваний системы крови [1–3]. Одним из основных механизмов действия алло-ТГСК является развитие реакции «трансплантат против опухоли», в результате которой Т-лимфоциты донора распознают антигены гистосовместимости на злокачественных клетках реципиента и уничтожают их [1, 4]. Однако активированные Т-лимфоциты способны распознавать те же антигены на нормальных клетках тканей реципиента, приводя, в свою очередь, к развитию реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) [1].

Рецидив основного заболевания развивается примерно у 25 % пациентов после алло-ТГСК [4]. Предикторами посттрансплантационного рецидива могут служить выявление минимальной остаточной болезни и/или снижение донорского химеризма, что зачастую требует снижения или даже полной отмены иммуносупрессивной терапии. Известно, что подобная тактика может индуцировать развитие РТПХ [4, 5].

Одним из наиболее тяжелых и трудно поддающихся лечению проявлений РТПХ является острая РТПХ с поражением желудочно-кишечного тракта (РТПХ ЖКТ) [6]. На сегодняшний день доказана связь между нарушением состава фекальной микробиоты (ФМ) и развитием РТПХ [7]. Алло-ТГСК и связанная с ней терапия (режим кондиционирования, антибактериальная терапия и низкомикробная диета) оказывают значимое негативное влияние на состав и видовое разнообразие ФМ [8]. Снижение содержания основных групп комменсальных бактерий, таких как *Firmicutes*, *Bacteroides*,

*Actinobacteria*, приводит к избыточной колонизации кишечного тракта оппортунистическими патогенами типа *Proteobacteria* (*Gammaproteobacteria*), отдела *Firmicutes* (*Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. и др.). Последние индуцируют продукцию провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6), приводя к активации Т-лимфоцитов и развитию острой РТПХ ЖКТ [3, 6, 7, 9].

За последние годы трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) зарекомендовала себя как эффективный способ коррекции состава кишечного биоценоза многих заболеваний ЖКТ и метод биологической деколонизации антибиотикорезистентных штаммов [10–12], доказав свою эффективность и безопасность в отношении иммунокомпрометированных пациентов [13], в том числе и при развитии острой РТПХ ЖКТ и overlap-синдрома [2, 14].

Результаты последних исследований продемонстрировали роль ФМ в регуляции экспрессии генов, модуляции иммунных и метаболических процессов в организме хозяина [15–18]. В процессе своей жизнедеятельности комменсальные бактерии вырабатывают короткоцепочечные жирные кислоты, желчные кислоты, аминокислоты, которые взаимодействуют со специфическими рецепторами, такими как TLR, NLR, G-протеиновыми рецепторами (GPR43, 41, 109A), FXR, которые, в свою очередь, участвуют в регуляции иммунитета и обмена веществ в организме человека [15].

В представленном клиническом случае впервые продемонстрировано изменение состава ФМ, динамика клеточного и гуморального звеньев иммунной системы, метаболизма желчных и ненасыщенных жирных кислот на всех этапах терапии острой РТПХ ЖКТ у пациентки после алло-ТГСК.

## Материалы и методы

В 15 временных точках (до ТФМ, на 1-й день после алло-ТГСК (Д+1), Д+3, Д+8, Д+16, Д+30, Д+45, Д+60, Д+70, Д+75, Д+105, Д+120, Д+140, Д+200 и Д+260) для оценки бактериального состава и разнообразия ФМ использовался метод таргетного секвенирования фрагментов V3–V4 участка гена 16S рРНК на платформе Miseq («Illumina», США) в соответствии со стандартным протоколом 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation («Illumina», США). Реакцию амплификации фрагментов V3–V4 проводили с применением высокоточной полимеразы с корректирующей активностью Phusion High-Fidelity DNA Polymerase («Thermo Fischer Scientific», США). Для мультиплексирования ДНК-библиотек были использованы ДНК-индексы Nextera XT Index Kit («Illumina», США). Секвенирование проводили с использованием наборов 600-cycle MiSeq Reagent Kit v3 («Illumina», США) с получением парных ридов длиной 300 нуклеотидов. Контроль качества проведенного секвенирования для каждого образца включал следующие параметры: не менее 50 000 ридов (sequence reads) на образец; оптимальное количество высококачественных ридов со значением Q30 более 60 %; отсутствие химерных последовательностей и сверхпредставленных последовательностей.

Для анализа общей бактериальной массы ФМ использовался метод мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием коммерческой тест-системы «Колонифлор-16» (ООО «Альфалаб», Россия) [19].

Хромато-масс-спектрометрические методы исследования для определения концентрации желчных кислот (ЖК) в плазме крови выполнялись с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа «Agilent 1200» с тройным квадруполом «Agilent 6460» («Agilent Technologies», США), а полиненасыщенных жирных кислот — с помощью газового хроматографа «Agilent 7890» с масс-селективным детектором («Agilent Technologies», США).

Иммунофенотипирование субпопуляций лимфоцитов выполнялось на проточном цитофлуориметре «Cytomics FC500» («Beckman Coulter», США).

Гистологическое и иммуногистохимическое исследования срезов, залитых в парафин образцов ткани, проводили с использованием стандартных методик. Использовалась рутинное окрашивание срезов гематоксилином и эозином и иммуногистохимическое определение экспрессии CD3 в ткани.

Настоящее исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Первый СПбГМУ им. академика И.П. Павлова» Минздрава России (протокол № 192 от 30.01.2017).

## Клинический случай

Пациентка К. — женщина 40 лет с установленным в 2007 г. диагнозом приобретенной апластической анемии с синдромом пароксизмальной ночной

гемоглобинурии с выраженными гемолитическими кризами. Проводились курсы терапии циклоспорином, экулизумабом (в течение 10 мес.), на фоне которых на протяжении 10 лет сохранялась стойкая клинико-лабораторная ремиссия.

В 2017 г. в гемограмме была выявлена двухростковая цитопения (тромбоцитопения 2-й степени, анемия 1-й степени), после выполнения трепанобиопсии был диагностирован миелодиспластический синдром, рефрактерная анемия с избытком бластов II.

В дальнейшем проведено два курса терапии гипометилирующими агентами с эффектом в виде стабилизации заболевания.

В апреле 2018 г. пациентке была выполнена алло-ТГСК от полностью HLA-совместимого донора из международного регистра с достижением полной клинико-гематологической ремиссии и восстановлением донорского гемопоэза. Однако в ранние сроки после алло-ТГСК наблюдалось снижение донорского химеризма до 80–89 %, что потребовало ранней отмены (Д+64) иммуносупрессивной терапии, проведения терапии гипометилирующими агентами, а также введения донорских лимфоцитов. Однако при контрольном рестадировании на Д+100 выявлены моносомия 7-й хромосомы и снижение донорского химеризма до 20–30 %, констатировано отторжение трансплантата на фоне рецидива заболевания. В связи с чем принято решение о выполнении повторной ТГСК от того же донора. Однако после повторной трансплантации в августе 2018 г. было зафиксировано восстановление гемопоэза реципиента (химеризм < 3 % донорский, моносомия 7-й хромосомы в 100 % метафаз), констатировано первичное неприживание трансплантата.

Учитывая восстановление собственного гемопоэза, отсутствие иммунологического эффекта «трансплантат против лейкоза» и сохранение явлений основного заболевания, по жизненным показаниям было принято решение о выполнении гаплоидентичной ТГСК от отца в рамках «терапии спасения».

В дальнейшем посттрансплантационный период протекал следующим образом:

— **Д+3–Д+7** после алло-ТГСК — развитие синдрома выброса цитокинов 3-й ст. (фебрильная лихорадка, цитолиз, макулопапулезная сыпь на поверхности кожных покровов), в связи с чем была начата терапия руксолитинибом в дозе 10 мг/сут. На фоне проводимого лечения отмечали разрешение кожных высыпаний. Руксолитиниб отменен на Д+29.

— **Д+15** — констатированы приживление трансплантата, клинико-гематологическая ремиссия основного заболевания, донорский химеризм 95–97 %.

— **Д+25** — развитие диареи до 7 раз в сутки в объеме 1300 мл/сут., без патологических примесей. По результатам бактериологического исследования кала выявлен мультирезистентный к большинству групп антибактериальной терапии (пенициллинам, цефалоспорином, фторхинолонам, карбапенемам) штамм *K. pneumoniae* в титре 10<sup>8</sup> КОЕ/мл, в связи

с чем принято решение о проведении фармакологической деконтаминации: к терапии добавлен амикацин перорально в дозе 1000 мг/сут. Выполнена фиброколоноскопия: визуализировалась слизистая оболочка толстой кишки без повреждений. По результатам морфологического исследования отмечался слабо выраженный фиброз стромы и минимально выраженные реактивные изменения эпителия желез (рис. 1а). По результатам ПЦР лизата участка слизистой толстой кишки выявлен вирус герпеса 6-го типа — диагностирован вирусный колит, к терапии добавлен ганцикловир 10 мг/кг/сут.

— **Д+31** — на фоне проводимой противобактериальной, противовирусной терапии наблюдалась положительная динамика в виде снижения кратности (3 р./сут.) и объема (300 мл/сут.) стула. Однако, несмотря на проводимую терапию, при бактериологическом исследовании кала, мочи и смыва из зева вновь выявлен мультирезистентный штамм *K. pneumoniae*. Учитывая сохранение явлений энтеропатии, было принято решение о проведении биологической деколонизации *K. pneumoniae* посредством проведения ТФМ.

— **Д+46 и Д+47** после гаплоидентичной ТГСК проведена ТФМ от здорового неродственного донора. Два дня подряд пациентка принимала по 15 капсул с замороженной ФМ. Общий вес фекального трансплантата — 22 г. Пациентке перед подписанием информированного согласия были подробно объяснены все преимущества, недостатки и побочные явления метода ТФМ. Протоколы обследования донора фекального трансплантата, приготовление капсул с замороженной ФМ, протокол приема капсул с ФМ подробно изложены ранее [10, 14].

— **Д+49–57 (Д+3–11 после ТФМ)** — положительная динамика в виде уменьшения кратности и объема стула. На Д+8 после ТФМ отмечали оформленный стул 2 р./сут.

— **Д+106 (Д+60 ТФМ)** — проведено молекулярно-генетическое исследование аспирата костного мозга, подтвержден полный донорский химеризм (> 97 %). Однако диагностирована минимальная остаточная болезнь +2,3 %, в связи с чем решено прекратить иммуносупрессивную терапию такролимусом.

— **Д+114 (Д+68 ТФМ)** — у пациентки диагностирована тяжелая РТПХ с поражением кожи 4-й степени, слизистых кишечника 3-й степени, в связи с чем возобновлен прием такролимуса в дозе 1 мг/сут.

— **Д+119 (Д+73 ТФМ)** — отрицательная динамика в виде усиления диареи (водянистый стул до 17 р./сут., объемом до 2500 мл/сут. с примесью слизи). Повторно выполнена фиброколоноскопия и фиброгастроуденоскопия. Патологические изменения в биоптате были представлены обширной лимфоцитарной (CD3<sup>+</sup>) инфильтрацией стромы слизистой оболочки и эпителиальной выстилки желез (рис. 1d) с формированием фокусов глыбчатого ядерного рексиса ядер апоптотически измененных эпителиальных клеток, субтотальным или тотальным

разрушением части желез (рис. 1с, е, f). К терапии добавлены глюкокортикостероиды (метил-преднизолон 2 мг/сут.) и руксолитиниб 15 мг/сут.

— **Д+153 (Д+105 ТФМ)** — положительная динамика в виде уменьшения кратности и объема стула, снижение уровня фекального кальпротектина с 774 мкг/г (Д+90 ТФМ) до 56 мкг/г (Д+120 ТФМ). Повторно выполнены фиброгастроуденоскопия, фиброколоноскопия, по результатам гистологического обследования: патологические изменения слизистой оболочки толстой кишки характеризовались очаговой скудной лимфоцитарной внутриэпителиальной инфильтрацией и очаговым ядерным рексисом эпителиальных клеток без явлений деструкции желез как проявлений слабо выраженной острой РТПХ (рис. 1b).

— **Д+244 (Д+190 ТФМ)** — клинических признаков overlap-синдрома со стороны кожи, слизистых и кишечника не отмечается, стул оформленный 1 раз/сут. Аппетит удовлетворительный, прибавка в весе 5,5 кг (с момента диагностики overlap-синдрома пациентка потеряла 20 % массы тела, минимальный вес пациентки составил 40 кг).

— **Д+304 (Д+260 ТФМ)** — пациентка находится в состоянии стойкой клинико-гематологической ремиссии. Признаков РТПХ кишечника нет. Полный срок наблюдения за пациенткой составил более 5 лет.

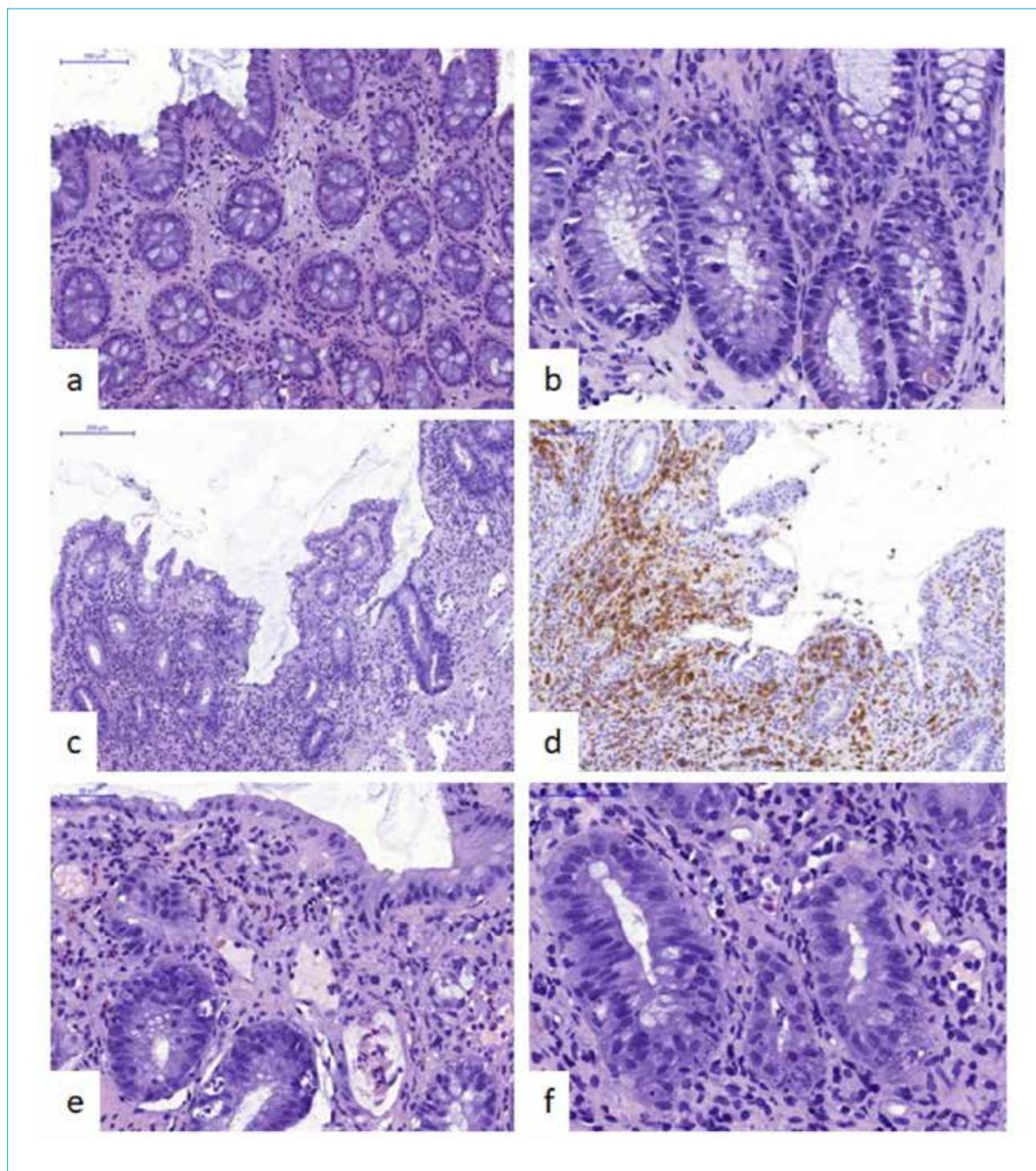
## Результаты и обсуждение

### Динамика состава фекальной микробиоты на фоне ТФМ и терапии острой РТПХ ЖКТ

После ТФМ наблюдался рост уровня общей бактериальной массы с  $1,0 \times 10^9$  до  $7,0 \times 10^{11}$  КОЕ/г, который достигал максимальных значений на Д+70 ТФМ —  $1,0 \times 10^{13}$  КОЕ/г (рис. 2d). Наряду с увеличением общей численности микроорганизмов повысилось и видовое разнообразие кишечной микробиоты; индекс Шеннона вырос с 2,0 до 3,6 в течение 3 дней после проведения процедуры (рис. 2с).

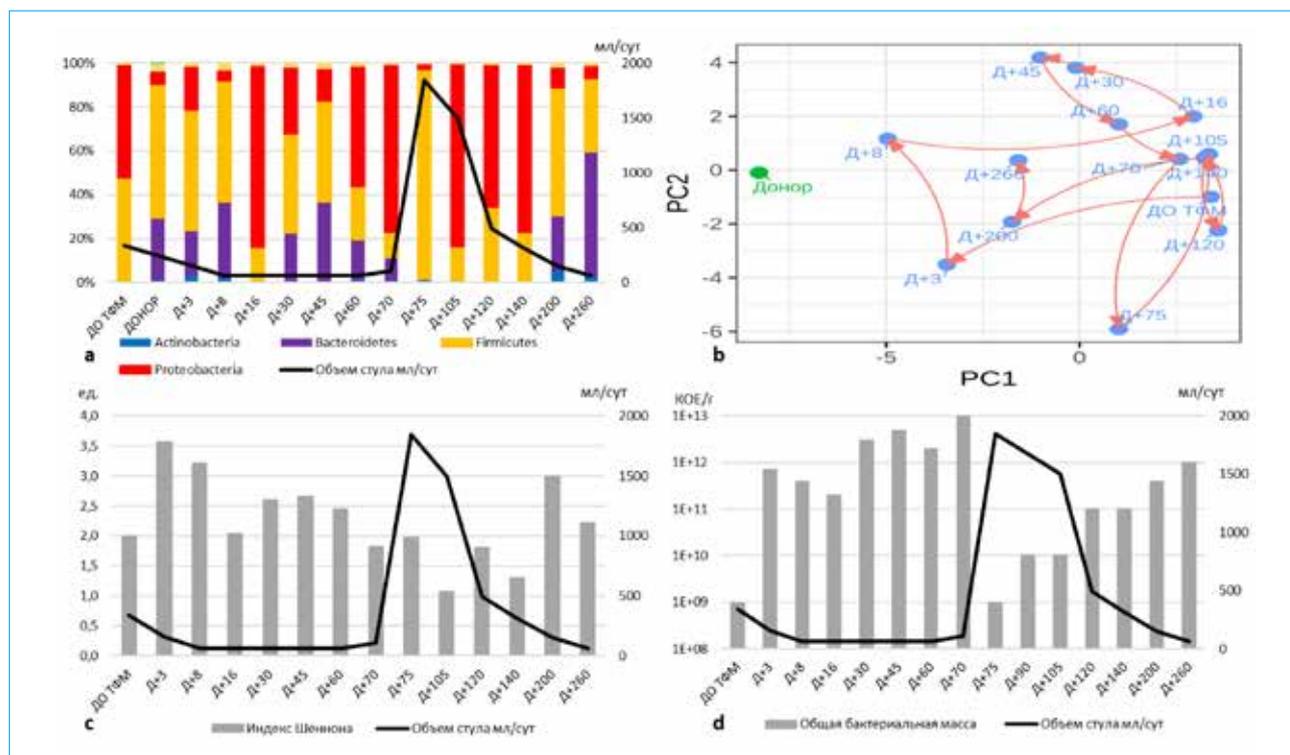
Микробиота пациентки до ТФМ главным образом была представлена бактериальными типами *Proteobacteria* (51,4 %) и *Firmicutes* (47,1 %) (рис. 2а), в частности условно-патогенными микроорганизмами родов *Klebsiella* (43,9 %), *Enterococcus* (16,4 %), *Streptococcus* (23,6 %), *Lactobacillus* (2,5 %), *Enterobacter* (0,6 %). Напротив, микробиота донора была богата представителями типов *Bacteroides* (27,7 %), *Firmicutes* (60,9 %), *Aktinobacteria* (1,2 %).

После ТФМ с Д+3 по Д+70 в составе ФМ пациентки стали преобладать *Firmicutes* (11,7–55,2 %), *Bacteroides* (10,4–36,3 %), *Aktinobacteria* (0,3–2,8 %), отмечался рост родов *Faecalibacterium* (до 29,4 %), *Blautia* (до 7,8 %), *Rozeburia* (до 9,5 %) (рис. 3а–d). Значимо снизилось значение родов *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Lactobacillus* (рис. 3е–h). Состав микробиоты реципиента максимально приблизился к донорскому на 3–8-е сутки после ТФМ (рис. 2b).



**Рисунок 1.** Морфологические изменения слизистой оболочки толстой кишки на всех этапах терапии: а – неспецифические реактивные изменения слизистой оболочки на D+25; б – слабовыраженная РТПХ без деструкции желез слизистой оболочки на D+153; с–f – тяжелая РТПХ с выраженной внутриэпителиальной лимфоцитарной инфильтрацией и снижением/деструкцией желез в собственной пластинке слизистой оболочки на D+119; окраска гематоксилином и эозином – а, б, с, е, f, иммуногистохимическое исследование (CD3) – д; увеличение отражено на изображениях в виде мерной шкалы

**Figure 1.** Morphological changes of colonic mucosa membranes at different stages of therapy: а – non-specific reactive changes of mucous membrane on D+25; б – mild GVHD pattern without destruction of mucous glands on D+153; с–f – severe GVHD pattern with massive intraepithelial lymphocytic infiltration and reduction/destruction of glands in the lamina propria of the mucous membrane on D+119; hematoxylin and eosin staining – а, б, с, е, f; immunohistochemical examination for CD3 – д; scale bars are shown in the pictures



**Рисунок 2.** а – относительное содержание отдельных типов бактерий (по оси абсцисс – сроки после ТФМ, дни); б – профиль микробиоты реципиента; в – индекс видового разнообразия Шеннона; д – динамика общей бактериальной массы ( $\log_{10}$  КОЕ/г); для в и д: по оси абсцисс – сроки после ТФМ, дни; по оси ординат – параметры микробиоты (левая ось), объем стула (правая ось)

**Figure 2.** а – relative content of individual bacterial phyla (abscissa – time after FMT, days); б – recipient microbiota profile; в – Shannon species diversity index; д – dynamics of total bacterial mass ( $\log_{10}$  CFU/g); for в and д: abscissa – time after FMT, days; ordinate – microbiota parameters (left axis), stool volume (right axis)

После ранней отмены иммуносупрессивной терапии у пациентки развилась острая РТПХ ЖКТ (на Д+75 после ТФМ), на фоне чего мы наблюдали резкое снижение общей бактериальной массы до предтрансплантационных значений ( $1,0 \times 10^9$  КОЕ/г) и обеднение видового разнообразия микробиоты (индекс Шеннона снизился до 2,0) (рис. 2с, д). С 70-х по 140-е сутки после ТФМ различия между составом микробиоты донора и реципиента были максимальными (рис. 2б). Вновь намечился рост представителей *Proteobacteria* (до 83 % на Д+105 ТФМ) (рис. 2а), повышение доли родов *Klebsiella*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Lactobacillus* (рис. 2е–h). Уровень *Bacteroides* снизился с 10,5 до 0,3 %, уменьшилась численность родов *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Blautia*, *Roseburia* (рис. 2а–d). Подобный профиль ФМ сохранялся до Д+140 ТФМ. По мере разрешения симптомов острой РТПХ ЖКТ индекс Шеннона демонстрировал рост до 3,0 (рис. 2с), нарастала общая бактериальная масса до  $1,0 \times 10^{12}$  КОЕ/г (рис. 2д), а состав микробиоты пациентки вновь возвратился к таковому у донора на Д+200–+260 после ТФМ. Стали преобладать представители филумов *Bacteroides* (56,7 %), *Firmicutes* (33,5 %),

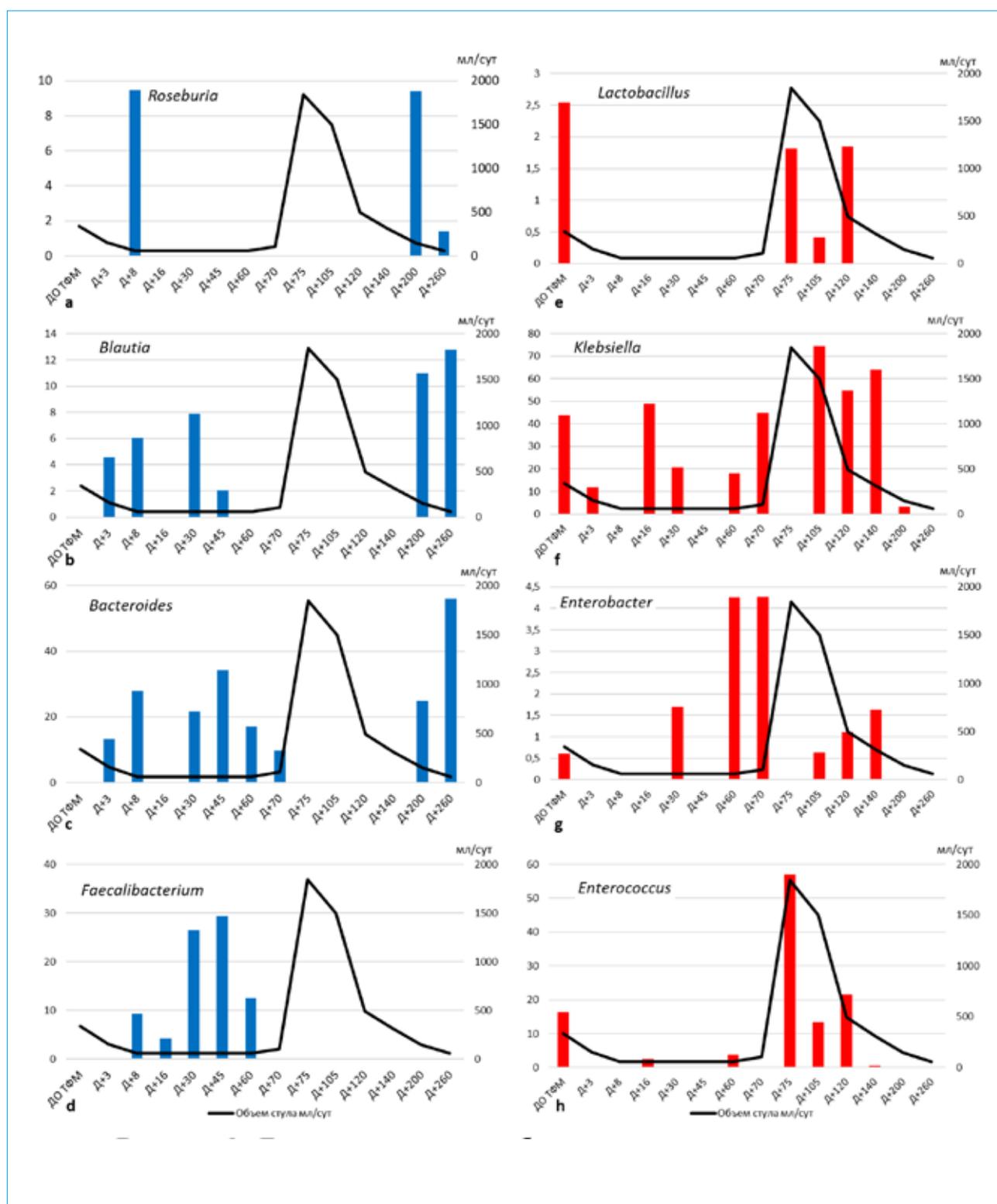
вновь определялись *Actinobacteria* (2,5 %), уровень *Proteobacteria* снизился до 5,6 % (рис. 2а).

#### Динамика уровня органических кислот на фоне ТФМ и терапии острой РТПХ ЖКТ

С учетом того что состав ФМ несколько раз радикально изменялся, следовало ожидать и аналогичных изменений уровней полиненасыщенных жирных кислот и желчных кислот.

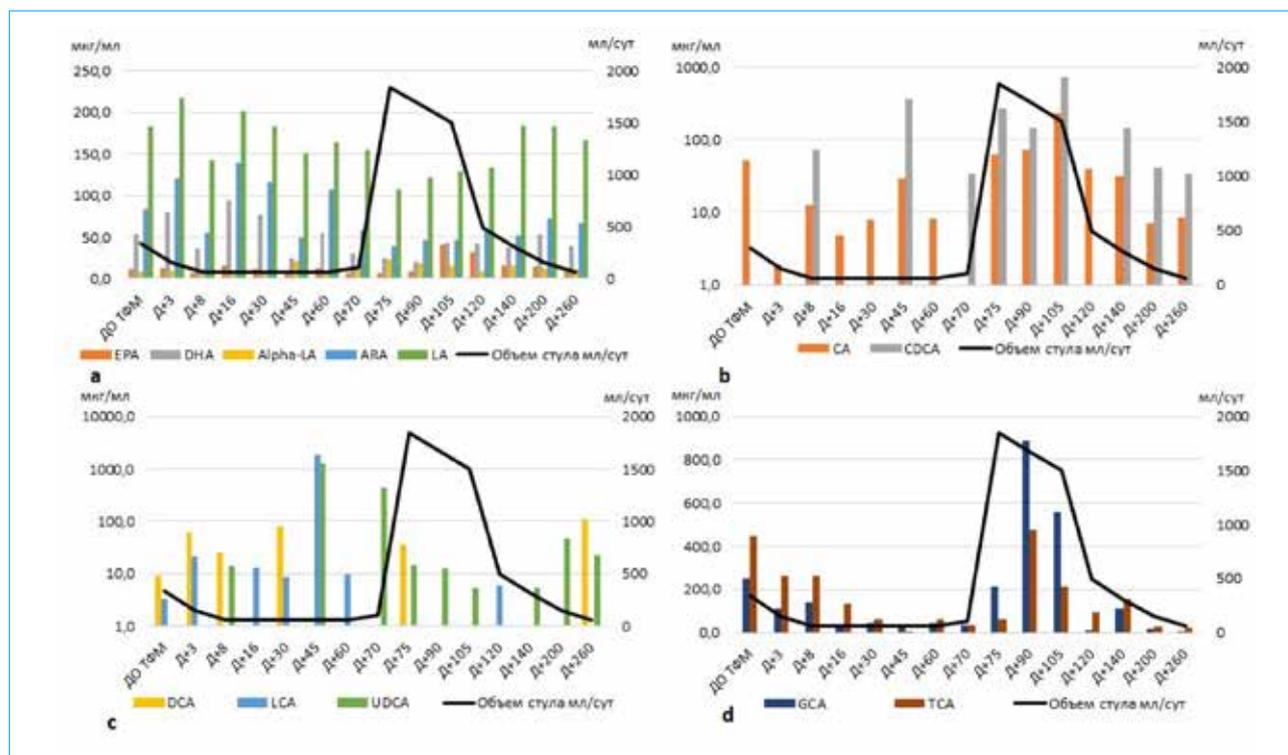
В начале наблюдения у пациентки наблюдали низкий уровень вторичных (дезоксихолевая кислота (DCA) – 9,2 мкг/мл, литохолевая кислота (LCA) – 3,3 мкг/мл) и третичной (урсодезоксихолевая кислота (UDCA) – 0 мкг/мл) желчных кислот. После ТФМ прослеживался значительный рост содержания желчных кислот с максимальными значениями на Д+45 после ТФМ. С Д+70–75 после ТФМ уровень DCA и UDCA резко снижается, что соответствовало периоду развития острой РТПХ ЖКТ (рис. 4с). К концу исследования, после разрешения явления острой РТПХ (Д+200–260 после ТФМ), уровень вторичных желчных кислот вновь восстанавливается.

Обращает на себя внимание, что увеличение объема диареи сопровождалось увеличением уровня парных и первичных желчных кислот, таких



**Рисунок 3.** Динамика отдельных бактериальных родов в ходе исследования: а – *Roseburia*, б – *Blautia*, в – *Bacteroides*, д – *Faecalibacterium*, е – *Lactobacillus*, ф – *Klebsiella*, г – *Enterobacter*, h – *Enterococcus*; по оси абсцисс – сроки после ТФМ, по оси ординат – отношение отдельного рода к общей бактериальной массе (левая ось), объем стула, мл/сут. (правая ось)

**Figure 3.** Dynamics of distinct bacterial genera in the course of disease treatment: а – *Roseburia*, б – *Blautia*, в – *Bacteroides*, д – *Faecalibacterium*, е – *Lactobacillus*, ф – *Klebsiella*, г – *Enterobacter*, h – *Enterococcus*; abscissa – terms after FMT, ordinate – ratio of distinct genus to the total bacterial mass (left axis); stool volume, mL/day (right axis)



**Рисунок 4.** Динамика органических кислот в плазме крови в ходе исследования: а — полиненасыщенные жирные кислоты, б — первичные желчные кислоты, с — вторичные желчные кислоты, д — парные желчные кислоты; по оси абсцисс — сроки после ТФМ, по оси ординат — содержание желчных кислот в плазме, мкг/мл (левая ось), объем стула, мл/сут (правая ось)

**Figure 4.** Time-dependent changes of organic acids in blood plasma of the patient: а — polyunsaturated fatty acids, б — primary bile acids, с — secondary bile acids, д — paired bile acids; abscissa — terms after FMT; ordinate — plasma bile acid content, ug/mL (left axis), stool volume, mL/day (right axis)

как гликохолевая (GCA), таурохолевая (TCA), холевая (CA) и хенодесоксихолевая кислоты (CDCA) (рис. 4b, d).

Прослеживается прямая взаимосвязь между общей бактериальной массой и уровнем UDCA, обратная зависимость — между общей бактериальной массой и уровнем первичных и парных желчных кислот. Выявлено, что повышение синтеза UDCA было связано с ростом таких бактериальных семейств, как *Ruminococcaceae*, *Bacteroidaceae*; напротив, ее уровень снижается при нарастании численности семейств *Enterobacteriaceae* и *Enterococcaceae*.

После проведения ТМФ поддерживается относительно стабильный уровень омега-3 полиненасыщенной жирной кислоты — эйкозапентаеновой кислоты (EPA), однако перед началом энтеропатии, начиная с Д+70, наблюдается снижение концентрации последней. Максимальные значения EPA регистрировали на Д+105 после ТФМ, т.е. с момента начала положительной динамики в виде уменьшения кратности и объема стула и снижения уровня фекального кальпротектина, за 40 дней до разрешения РТПХ ЖКТ (рис. 4a). С общей бактериальной массой и клинической картины РТПХ ЖКТ также коррелируют омега-6 жирные кислоты — арахидоновая

(ARA), линолевая (LA) кислоты и омега-3 полиненасыщенная жирная кислота — докозагексаеновая кислота (DHA); чем более выражена энтеропатия, тем меньше их уровень. Значения омега-3 альфа-линоленовой кислоты (alpha-LA) изменяются противоположным образом.

#### **Динамика показателей иммунной системы на фоне ТФМ и терапии острой РТПХ ЖКТ**

Динамика показателей состава периферической крови (абсолютное количество лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов) полностью отражает этапы клинической картины. Отмечался рост уровня иммунных клеток крови сразу после ТФМ, а минимальные значения зарегистрированы на фоне манифестации острой РТПХ и эскалации иммуносупрессивной терапии (рис. 5a).

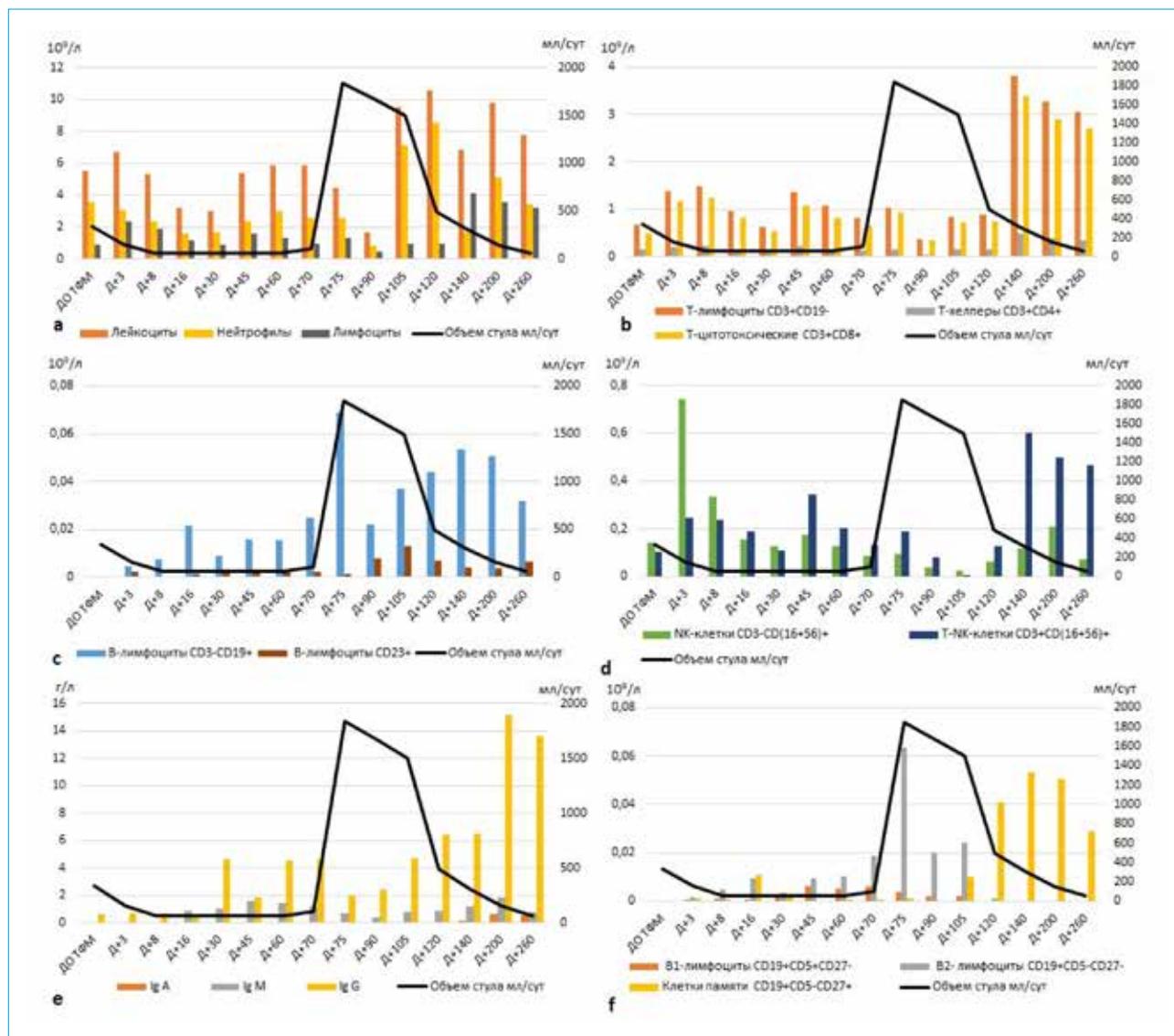
В течение первых 3 суток после проведения ТФМ отмечался рост абсолютного числа лимфоцитов за счет Т-цитотоксических лимфоцитов, Т-НК-клеток и естественных киллеров. Популяции Т-хелперов, В-лимфоцитов были стабильны. С 8-го дня абсолютное число Т-лимфоцитов несколько снизилось, наметился рост В-лимфоцитов.

С Д+70 по Д+120 после ТФМ, на фоне отмены такролимуса, одновременно с развитием острой

РТПХ кишечника отмечается длительный спад Т-лимфоцитов, связанный, вероятно, с эскалацией иммуносупрессивной терапии. Одновременно достигают своего максимума значения В-лимфоцитов. Отмечается тенденция к снижению В1-лимфоцитов и приросту активированных В-клеток памяти (D+90 по D+120 ТФМ). Начиная с D+120 ТФМ, по мере постепенного разрешения проявлений острой РТПХ ЖКТ, наблюдали значительный прирост Т-цитотоксических лимфоцитов, Т-киллеров и Т-хелперов, который сохранялся до D+140 ТФМ с последующим постепенным

снижением к концу наблюдения (рис. 5b–d, f). Показатели гуморального иммунитета также восстанавливаются на фоне успешного лечения острой РТПХ ЖКТ (рис. 5e).

Динамика Т-цитотоксических лимфоцитов, НК-клеток и естественных киллеров совпадает с изменениями значений общей бактериальной массы, индексом Шеннона и уровнем вторичных желчных кислот. Кроме того, обнаружено совпадение в динамике первичных желчных кислот и В-лимфоцитов, значения которых нарастали во время развития острой РТПХ ЖКТ.



**Рисунок 5.** Динамика показателей периферической крови, клеточного и гуморального иммунитета: а — показатели периферической крови, б — Т-лимфоциты, с — В-лимфоциты, d — натуральные киллеры, e — сывороточные иммуноглобулины, f — наивные лимфоциты и натуральные киллеры; по оси абсцисс — сроки после ТФМ, по оси ординат — абсолютные значения (левая ось), объем стула, мл/сут (правая ось)

**Figure 5.** Time-dependent changes of peripheral blood counts, immune cell subpopulations, and humoral immunity: a — peripheral blood cell counts, b — T cell counts, c — B cell counts; d — natural killers; e — serum immunoglobulins; f — naive lymphocytes and natural killers; abscissa — terms after FMT, ordinate — absolute values (left axis), stool volume, mL/day (right axis)

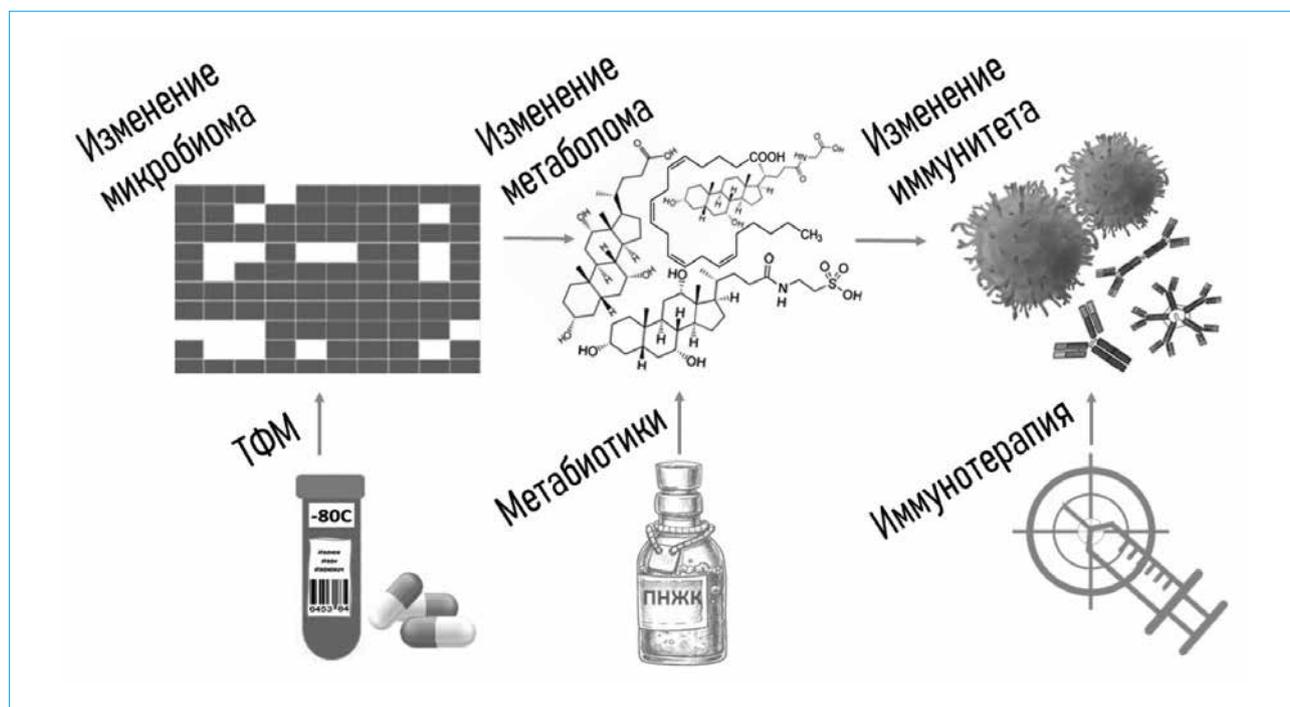
## Обсуждение

Вариации в составе микробиома могут приводить к изменению бактериального генетического материала в организме человека (метагенома), что, в свою очередь, сказывается на изменениях метаболома. В последние годы все больше исследований используют так называемый метаболомный подход при изучении патогенеза различных заболеваний [16, 17]. Ключевой концепцией метаболомики является тот факт, что изменения, происходящие в транскриптом, геноме или протеоме отражаются на концентрации метаболитов в биологических жидкостях и тканях, т.е. приводят к изменениям в метаболоме [18]. Комменсальные микроорганизмы являются продуцентами короткоцепочечных жирных кислот, которые необходимы для поддержания эпителиального барьера, регулирования клеток врожденного иммунитета и антиген-специфичного адаптивного ответа, опосредованного Т- и В-лимфоцитами [15]. В частности, бутират подавляет индуцированное липополисахаридами производство провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-12, ФНО- $\alpha$ , МСР-1), регулирует дифференцировку Т-клеток [16]. Пропионат может ингибировать передачу сигналов NF- $\kappa$ B, также снижая уровень провоспалительных цитокинов [20]. В посттрансплантационном периоде у пациентов, развивших РТПХ, наблюдается скудность видового состава ФМ и преобладание условно-патогенной флоры (*Enterobacteriaceae*, *Streptococcaceae*) [21, 22]. Проведение ТФМ в представленном клиническом случае сопровождалось увеличением общей бактериальной массы, вытеснением *Enterobacteriaceae*,

*Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* и появлением пропионат-продуцирующих бактерий — *Bacteroides*, ростом относительного количества бутират-продуцирующих — *Faecalibacterium*, *Blautia*, *Roseburia*. Наряду с изменениями в составе кишечной микробиоты отмечали активацию Т-цитотоксических лимфоцитов, дифференцировку наивных В-лимфоцитов в В-клетки памяти.

Ранняя отмена иммуносупрессивной терапии привела к развитию РТПХ кишечника, которая сопровождалась потерей кишечного разнообразия и ростом условно-патогенной флоры. По мере разрешения РТПХ состав микробиоты вновь обогатился. Однако примечательно, что восстановление микробиоценоза произошло не к исходной точке, но к донорскому составу. По мере восстановления численности и разнообразия микробиоты одновременно отмечалась дифференцировка Т- и В-лимфоцитов в Т-цитотоксические лимфоциты, Т-хелперы и В-клетки памяти соответственно.

Помимо продукции короткоцепочечных жирных кислот, ФМ участвует и в метаболизме желчных кислот, модифицируя первичные желчные кислоты, синтезируемые в печени, во вторичные. Желчные кислоты посредством активации специфических рецепторов (наиболее значимые среди них — фарнезоид X FXR и рецепторы, связанные с белком TGR-5) регулируют обмен липидов, глюкозы, синтез желчных кислот в печени [23]. Активация кишечных FXR индуцирует транскрипцию нескольких генов, кодирующих белки, участвующие в защите слизистой оболочки кишечника через плотные контакты.



**Рисунок 6.** Связь между микробиомом, метаболомом и изменениями в иммунной системе

**Figure 6.** Interrelations between microbiome, metabolome, and changes of immune system

Снижение концентрации желчных кислот приводит к синдрому избыточного бактериального роста и повышению бактериальной транслокации в системный кровоток [23, 24].

В данном исследовании наглядно представлена корреляция уровня желчных кислот с общей бактериальной массой. Уровни первичных желчных кислот (гликохолевой и таурохолевой) повышались при обеднении ФМ, что соответствовало периодам до ТФМ и периоду развития острой РТПХ. Обратная картина отмечена в отношении вторичных и третичных желчных кислот (урсодезоксихолевой, деоксихолевой и литохолевой). При повышении продукции вторичных желчных кислот была отмечена динамика Т-клеток (нарастание Т-цитотоксических лимфоцитов, Т-хелперов).

Таким образом, на основании современных научных представлений становится ясным, что микробиом играет важную роль в поддержании основного пула органических кислот, а значит и гомеостаза иммунной системы человека. На молекулярный профиль метаболома, как и на иммунную систему организма, возможно прямое воздействие как за счет применения медицинских препаратов (метабиотики и иммунотерапия), так и за счет изменения микробиома (рис. 6).

Эта теория лежит в основе создания специальных пробиотиков [24–26]. Однако практика долгосрочного изменения микробиома имеет значительное преимущество перед краткосрочным воздействием

заместительной метаболической или иммунной терапии, так как изменения в этом случае носят транзиторный характер. Кроме того, мы полагаем, что это путь к персонифицированной медицине будущего. Возможно, метод добавления или удаления определенных классов микроорганизмов, даст возможность влиять на отдельные звенья иммунной системы.

## Выводы

Представленное клиническое наблюдение демонстрирует эффективность трансплантации фекальной микробиоты в решении проблем антибиотикорезистентности, деколонизации патогенных микроорганизмов, повышающих риск развития системных инфекций в посттрансплантационном периоде, а совместно с иммуносупрессивной терапией способствует также разрешению явлений реакции «трансплантат против хозяина». Изменения в структуре кишечного микробиома приводят к изменению уровня метаболитов (короткоцепочечных жирных кислот и желчных кислот) в плазме крови.

Кишечная микробиота при помощи продуктов своего метаболизма способна влиять на иммунные реакции в организме, способствуя активации и дифференцировке лимфоцитов, что может служить частью терапии, направленной на раннюю реконструкцию иммунной системы и на профилактику реакции «трансплантат против хозяина» в посттрансплантационном периоде.

## Литература / References

1. Sterling C., Webster J. Harnessing the immune system after allogeneic stem cell transplant in acute myeloid leukemia. *Am J Hematol.* 2020;95(5):529–47. DOI: 10.1002/ajh.25750
2. van Lier Y.F., Davids M., Haverkate N.J.E., de Groot P.F., Donker M.L., Meijer E., et al. Donor fecal microbiota transplantation ameliorates intestinal graft-versus-host disease in allogeneic hematopoietic cell transplant recipients. *Sci Transl Med.* 2020;12(556):eaa8926. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaz8926
3. Kakihana K., Fujioka Y., Suda W., Najima Y., Kuwata G., Sasajima S., et al. Fecal microbiota transplantation for patients with steroid-resistant acute graft-versus-host disease of the gut. *Blood.* 2016;128(16):2083–8. DOI: 10.1182/blood-2016-05-717652
4. Aziz M.D., Shah J., Kapoor U., Dimopoulos C., Anand S., Augustine A., et al. Disease risk and GVHD biomarkers can stratify patients for risk of relapse and nonrelapse mortality post hematopoietic cell transplant. *Leukemia.* 2020;34(7):1898–906. DOI: 10.1038/s41375-020-0726-z
5. Penack O., Marchetti M., Ruutu T., Aljurf M., Bacigalupo A., Bonifazi., et al. Prophylaxis and management of graft versus host disease after stem-cell transplantation for haematological malignancies: updated consensus recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Lancet Haematol.* 2020;7(2):e157–67. DOI: 10.1016/S2352-3026(19)30256-X
6. Mao D., Jiang Q., Sun Y., Mao Y., Guo L., Zhang Y., et al. Treatment of intestinal graft-versus-host disease with unrelated donor fecal microbiota transplantation capsules: A case report. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(38):e22129. DOI: 10.1097/MD.00000000000022129
7. Zama D., Bossù G., Leardini D., Muratore E., Biagi E., Prete A., et al. Insights into the role of intestinal microbiota in hematopoietic stem-cell transplantation. *Ther Adv Hematol.* 2020;11:2040620719896961. DOI: 10.1177/2040620719896961
8. Schwabkey Z.I., Jenq R.R. Microbiome anomalies in allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Annu Rev Med.* 2020;71:137–48. DOI: 10.1146/annurev-med-052918-122440
9. DuPont H.L., Jiang Z.D., DuPont A.W., Utay N.S. Abnormal intestinal microbiome in medical disorders and potential reversibility by fecal microbiota transplantation. *Dig Dis Sci.* 2020;65(3):741–56. DOI: 10.1007/s10620-020-06102-y
10. Голощанов О.В., Кучер М.А., Суворова М.А., Клементьева Р.В., Щербakov А.А., Швецov А.Н. и др. Первый опыт терапии полирезистентных инфекционных осложнений, ассоциированных с *Clostridium difficile* и *Klebsiella pneumoniae*, методом трансплантации фекальной микробиоты у пациентов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Инфекционные болезни.* 2017;15(3):65–74. [Goloshchapov O.V., Kucher M.A., Suvorova M.A., Klement'eva R.V., Scherbakov A.A., Shvetsov A.N., et al. A first experience of therapy of multi-resistant infectious complications associated with *Clostridium difficile* and *Klebsiella pneumoniae*, using a method of fecal microbiota transplantation in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Infectious diseases.* 2017;15(3):65–74. (In Russ.)]. DOI: 10.20953/1729-9225-2017-3-65-74
11. Bilinski J., Grzesiowski P., Sorensen N., Madry K., Myszynski J., Robak K., et al. Fecal microbiota transplantation in patients with blood disorders inhibits gut colonization with antibiotic-resistant bacteria: Results of a prospective, single-center study. *Clin Infect Dis.* 2017;65(3):364–70. DOI: 10.1093/cid/cix252

12. *Battipaglia G., Malard F., Rubio M.T., Ruggeri A., Mamez A.C., Brissot E., et al.* Fecal microbiota transplantation before or after allogeneic hematopoietic transplantation in patients with hematologic malignancies carrying multidrug-resistance bacteria. *Haematologica*. 2019;104(8):1682–8. DOI: 10.3324/haematol.2018.198549
13. *Shogbesan O., Poudel D.R., Victor S., Jehangir A., Fadahunsi O., Shogbesan G., et al.* Systematic review of the efficacy and safety of fecal microbiota transplant for *Clostridium difficile* infection in immunocompromised patients. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2018;2018:1394379. DOI: 10.1155/2018/1394379
14. *Голощанов О.В., Чухловин А.Б., Бакин Е.А., Станевич О.В., Клементьева Р.В., Щербаков А.А. и др.* Трансплантация фекальной микробиоты при реакции «трансплантат против хозяина» у детей и взрослых: методы, клинические эффекты, безопасность. *Терапевтический архив*. 2020;92(7):43–54. [*Goloshchapor O.V., Chukhlovin A.B., Bakin E.A., Stanevich O.V., Klementeva R.V., Shcherbakov A.A., et al.* Fecal microbiota transplantation for graft-versus-host disease in children and adults: Methods, clinical effects, safety. *Terapevticheskii arkhiv*. 2020;92(7):43–54. (In Russ.)]. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000773
15. *Kim C.H.* Immune regulation by microbiome metabolites. *Immunology*. 2018;154(2):220–9. DOI: 10.1111/imm.12930
16. *Cacciatore S., Loda M.* Innovation in metabolomics to improve personalized healthcare. *Ann N Y Acad Sci*. 2015;1346(1):57–62. DOI: 10.1111/nyas.12775
17. *Madsen R., Lundstedt T., Trygg J.* Chemometrics in metabolomics – a review in human disease diagnosis. *Anal Chim Acta*. 2010;659(1–2):23–33. DOI: 10.1016/j.aca.2009.11.042
18. *Stringer K.A., McKay R.T., Karnovsky A., Quémerais B., Lacy P.* Metabolomics and its application to acute lung diseases. *Front Immunol*. 2016;7:44. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00044
19. *Котрова А.Д., Шишкин А.Н., Воропаева Л.С., Лавренова Н.С., Слепых Л.А., Лукашенко М.В. и др.* Гендерная оценка микробиома кишечника у больных с ожирением. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2021;194(10):91–9. [*Kotrova A.D., Shishkin A.N., Voropaeva L.S., Lavrenova N.S., Slepых L.A., Lukashenko M.V., et al.* Gender assessment of the gut microbiome in obese patients. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2021;194(10):91–9. (In Russ.)]. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-194-10-91-99
20. *Phillips R.* Rheumatoid arthritis: Microbiome reflects status of RA and response to therapy. *Nat Rev Rheumatol*. 2015;11(9):502. DOI: 10.1038/nrrheum.2015.109
21. *Taur Y., Jenq R.R., Perales M.A., Littmann E.R., Morjaria S., Ling L., et al.* The effects of intestinal tract bacterial diversity on mortality following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2014;124(7):1174–82. DOI: 10.1182/blood-2014-02-554725
22. *Holler E., Butzhammer P., Schmid K., Hundsrucker C., Koestler J., Peter K., et al.* Metagenomic analysis of the stool microbiome in patients receiving allogeneic stem cell transplantation: loss of diversity is associated with use of systemic antibiotics and more pronounced in gastrointestinal graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20(5):640–5. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.01.030
23. *Stanimirov B., Stankov K., Mikov M.* Bile acid signaling through farnesoid X and TGR5 receptors in hepatobiliary and intestinal diseases. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2015;14(1):18–33. DOI: 10.1016/s1499-3872(14)60307-6
24. *Martinez-Augustin O., Sanchez de Medina F.* Intestinal bile acid physiology and pathophysiology. *World J Gastroenterol*. 2008;14(37):5630–40. DOI: 10.3748/wjg.14.5630
25. *Aw W., Fukuda S.* An integrated outlook on the metagenome and metabolome of intestinal diseases. *Diseases*. 2015;3(4):341–59. DOI: 10.3390/diseases3040341
26. *O'Connell T.M.* The application of metabolomics to probiotic and prebiotic interventions in human clinical studies. *Metabolites*. 2020;10(3):120. DOI: 10.3390/metabo10030120

### Сведения об авторах

**Голощанов Олег Валерьевич\*** — кандидат медицинских наук, заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии № 3, НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, ассистент кафедры анестезиологии и реаниматологии, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.  
Контактная информация: golocht@yandex.ru;  
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0736-1269>

**Бейнарович Анастасия Викторовна** — врач-гематолог отделения трансплантации костного мозга для взрослых, НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.  
Контактная информация: beynarovichn@gmail.com;  
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2952-5132>

**Чухловин Алексей Борисович** — доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией трансплантологии, НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет

### Information about the authors

**Oleg V. Goloshchapor\*** — Cand. Sci. (Med.), Head of the Intensive Care Unit No. 3, R. Gorbacheva Memorial Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation; Teaching Assistant at the Department of Anesthesiology and Intensive Care, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University.  
Contact information: golocht@yandex.ru  
197022, Saint Petersburg, L'va Tolstogo str., 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0736-1269>

**Anastasia V. Beynarovich** — Clinical Hematologist, Department of Adult Bone Marrow Transplantation, R. Gorbacheva Memorial Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University.  
Contact information: beynarovichn@gmail.com;  
197022, Saint Petersburg, L'va Tolstogo str., 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2952-5132>

**Alexey B. Chukhlovin** — Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Transplantology Laboratory, R. Gorbacheva Memorial Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation; Teaching Assistant at the Department

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Контактная информация: alexei.chukh@mail.ru;  
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9703-4378>

**Клементьева Руслана Викторовна** — врач анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии № 3, НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Контактная информация: klementeva85@mail.ru;  
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5493-4106>

**Щербаков Александр Александрович** — врач — анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии № 3, НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Контактная информация: xihmr@gmail.com;  
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4522-4465>

**Бакин Евгений Александрович** — кандидат технических наук, старший научный сотрудник отдела онкологии, гематологии и трансплантологии для подростков и взрослых, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Контактная информация: eugene.bakin@gmail.com;  
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5694-4348>

**Голубовская Ирина Константиновна** — кандидат медицинских наук, врач-гематолог поликлинического отделения с дневным стационаром для взрослых, НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Контактная информация: dr.irinagolubovskaya@gmail.com;  
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0469-7338>

**Венцловайте Наталья Дмитриевна** — младший научный сотрудник научно-исследовательского клинического отдела вирусных гепатитов и заболеваний печени у детей, ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства».

Контактная информация: ventslovayte.nd@mail.com;  
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 9.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9793-8358>

**Юдинцева Олеся Сергеевна** — врач-гематолог, НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Контактная информация: olesyayudintceva@gmail.com;  
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9501-9860>

of Anesthesiology and Intensive Care, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University.

Contact information: alexei.chukh@mail.ru;  
197022, Saint Petersburg, L'va Tolstogo str., 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9703-4378>

**Ruslana V. Klementeva** — Anesthesiologist-Resuscitator of the Resuscitation and Intensive Care Unit No. 3, R. Gorbacheva Memorial Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University.

Contact information: klementeva85@mail.ru;  
197022, Saint Petersburg, L'va Tolstogo str., 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5493-4106>

**Alexander A. Shcherbakov** — Anesthesiologist-Resuscitator of the Resuscitation and Intensive Care Unit No. 3, R. Gorbacheva Memorial Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University.

Contact information: xihmr@gmail.com;  
197022, Saint Petersburg, L'va Tolstogo str., 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4522-4465>

**Evgeny A. Bakin** — Cand. Sci. (Techn.), Senior Researcher, Department of Oncology, Hematology and Transplantation for Adolescents and Adults, R. Gorbacheva Memorial Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation; Pavlov First Saint Petersburg State Medical University.

Contact information: eugene.bakin@gmail.com;  
197022, Saint Petersburg, L'va Tolstogo str., 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5694-4348>

**Irina K. Golubovskaya** — Cand. Sci. (Med.), Hematologist of the Outpatient Department with Day Hospital for Adults, R. Gorbacheva Memorial Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University.

Contact information: dr.irinagolubovskaya@gmail.com;  
197022, Saint Petersburg, L'va Tolstogo str., 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0469-7338>

**Natalia D. Ventslovayte** — Junior Researcher, Research Clinical Department of Viral Hepatitis and Liver Diseases in Children, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency.

Contact information: ventslovayte.nd@mail.com;  
197022, Saint Petersburg, Professora Popova str., 9.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9793-8358>

**Olesya S. Yudinseva** — Clinical Hematologist, R. Gorbacheva Memorial Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University.

Contact information: olesyayudinseva@gmail.com;  
197022, Saint Petersburg, L'va Tolstogo str., 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9501-9860>

**Горчакова Маргарита Валерьевна** — биолог лаборатории клинической иммунологии и молекулярной диагностики, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Контактная информация: rita.gorchakova@gmail.com; 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4780-2778>

**Карев Вадим Евгеньевич** — заведующий научно-исследовательским клиническим отделом тканевых и патоморфологических методов исследования, ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства». Контактная информация: vadimkarev@yandex.ru; 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 9. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7972-1286>

**Кучер Максим Анатольевич** — доктор медицинских наук, руководитель отдела клинического питания, НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, доцент кафедры гематологии, трансфузиологии и трансплантологии с курсом детской онкологии факультета последиplomного образования, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Контактная информация: doctorkucher@yandex.ru; 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6114-3214>

**Суворова Мария Александровна** — кандидат биологических наук, генеральный директор Научно-исследовательской лаборатории, ООО «Эксплана». Контактная информация: maria\_suvorova@mail.ru; 197022, г. Санкт-Петербург, Каменноостровский пр., 42б. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6292-0385>

**Светкина Екатерина Владимировна** — врач клинической лабораторной диагностики отдела лабораторной диагностики, ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» Министерства Российской Федерации по делам гражданской обороны, чрезвычайным ситуациям и ликвидации последствий стихийных бедствий. Контактная информация: svetkina.evl@gmail.ru; 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 4/2. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9540-5980>

**Родионов Геннадий Георгиевич** — доктор медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник, заведующий научно-исследовательской лабораторией токсикологии и лекарственного мониторинга научно-исследовательского отдела биоиндикации, «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» Министерства Российской Федерации по делам гражданской обороны, чрезвычайным ситуациям и ликвидации последствий стихийных бедствий. Контактная информация: rodgengeor@yandex.ru; 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 4/2. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6237-7848>

**Гостев Владимир Валерьевич** — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии, ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства»; доцент кафедры медицинской микробиологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Margarita V. Gorchakova** — Biologist of the Laboratory of Clinical Immunology and Molecular Diagnostics, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University. Contact information: rita.gorchakova@gmail.com; 197022, Saint Petersburg, L'va Tolstogo str., 6–8. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4780-2778>

**Vadim E. Karev** — Head of the Research Clinical Department of Tissue and Pathomorphological Research Methods, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency. Contact information: vadimkarev@yandex.ru; 197022, Saint Petersburg, Professora Popova str., 9. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7972-1286>

**Maxim A. Kucher** — Dr. Sci. (Med.), Head of Clinical Nutrition Department, R. Gorbacheva Memorial Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, Associate Professor of the Department of Hematology, Transfusiology and Transplantation with a course in Pediatric Oncology, Faculty of Postgraduate Education, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University. Contact information: doctorkucher@yandex.ru; 197022, Saint Petersburg, L'va Tolstogo str., 6–8. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6114-3214>

**Mariia A. Suvorova** — Cand. Sci. (Biol.), Director General of the Explana Research Laboratory. Contact information: maria\_suvorova@mail.ru; 197022, Saint Petersburg, Kamennooostrovsky Ave, 42B. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6292-0385>

**Ekaterina V. Svetkina** — Clinical Laboratory Diagnostics Doctor of the Laboratory Diagnostics Department, A.M. Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine» of the Ministry of Russian Federation for Civil Defense, Emergencies and Elimination of Consequences of Natural Disasters, A.M. Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine. Contact information: svetkina.evl@gmail.ru; 194044, Saint Petersburg, Akademika Lebedeva str., 4/2. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9540-5980>

**Gennadij G. Rodionov** — Dr. Sci. (Med.), Docent, Leading Researcher, Head of the Research Laboratory of Toxicology and Drug Monitoring of the Research Department of Bioindication, The Ministry of Russian Federation for Civil Defense, Emergencies and Elimination of Consequences of Natural Disasters. Contact information: rodgengeor@yandex.ru; 194044, Saint Petersburg, Akademika Lebedeva str., 4/2. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6237-7848>

**Vladimir V. Gostev** — Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Research Department of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency; Associate Professor at the Department of Medical Microbiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov.

Контактная информация: [guestvv11@gmail.com](mailto:guestvv11@gmail.com);  
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 9.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3480-8089>

**Сидоренко Сергей Владимирович** — доктор медицинских наук, профессор, заведующий научно-исследовательским отделом медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии, ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства»; профессор кафедры медицинской микробиологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.  
Контактная информация: [sidorserg@gmail.com](mailto:sidorserg@gmail.com);  
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 9.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3550-7875>

**Моисеев Иван Сергеевич** — доктор медицинских наук, заместитель директора по науке НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.  
Контактная информация: [moisiv@mail.ru](mailto:moisiv@mail.ru);  
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4332-0114>

**Кулагин Александр Дмитриевич** — доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.  
Контактная информация: [kulagingem@rambler.ru](mailto:kulagingem@rambler.ru);  
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9589-4136>

Contact information: [guestvv11@gmail.com](mailto:guestvv11@gmail.com);  
197022, Saint Petersburg, Professora Popova str., 9.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3480-8089>

**Sergey V. Sidorenko** — Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Research Department of Medical Microbiology and Molecular Epidemiology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency; Professor of the Department of Medical Microbiology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov.  
Contact information: [sidorserg@gmail.com](mailto:sidorserg@gmail.com);  
197022, Saint Petersburg, Professora Popova str., 9.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3550-7875>

**Ivan S. Moiseev** — Dr. Sci. (Med.), Deputy Director for Research, R. Gorbacheva Memorial Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University.  
Contact information: [moisiv@mail.ru](mailto:moisiv@mail.ru);  
197022, Saint Petersburg, L'va Tolstogo str., 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4332-0114>

**Alexander D. Kulagin** — Dr. Sci. (Med.), Professor, Director, R. Gorbacheva Memorial Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University.  
Contact information: [kulagingem@rambler.ru](mailto:kulagingem@rambler.ru);  
197022, Saint Petersburg, L'va Tolstogo str., 6–8.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9589-4136>

Поступила: 19.04.2024 Принята: 02.07.2024 Опубликовано: 31.10.2024  
Submitted: 19.04.2024 Accepted: 02.07.2024 Published: 31.10.2024