



<https://doi.org/10.34883/PI.2025.11.1.010>



Усс М.А.¹✉, Миланович Н.Ф.¹, Губанова Т.Н.¹, Усс А.Л.¹, Ковалев А.А.², Стома И.О.²

¹ Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, Минск, Беларусь

² Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

Микробиом кишечника как новый предиктор развития острой реакции «трансплантат против хозяина» у пациентов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования – Усс М.А., Стома И.О., Миланович Н.Ф.; сбор и обработка данных – Усс М.А., Губанова Т.Н.; пробоподготовка образцов – Губанова Т.Н.; анализ и интерпретация данных – Усс М.А., Ковалев А.А.; предоставление материалов исследования – Усс М.А., Стома И.О.; подготовка рукописи – Усс М.А.; редактирование – Стома И.О.; окончательное одобрение рукописи – все авторы.

Подана: 23.09.2024

Принята: 12.12.2024

Контакты: mikhail.uss@mail.ru

Резюме

Реакция «трансплантат против хозяина» является одной из ведущих причин смертности и инвалидизации у пациентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. С учетом важной роли микробиома кишечника в формировании и созревании иммунной системы человека идентификация и филогенетическая характеристика микроорганизмов кожи, слизистых и, в первую очередь, кишечника может в будущем помочь в разработке прогностической модели риска развития острой реакции «трансплантат против хозяина» на основе микробиом-ассоциированных факторов риска. В настоящем исследовании нами был изучен состав микробиома кишечника 34 пациентов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Нами были выделены ассоциации между таксономическим составом микробиома кишечника пациентов на различных сроках после трансплантации и частотой развития острой реакции «трансплантат против хозяина» с поражением кожи, нижних отделов ЖКТ, а также стероидрефрактерной острой РТПХ.

Ключевые слова: трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, микробиом кишечника, иммуносупрессивная терапия, реакция «трансплантат против хозяина»

Uss M.¹✉, Milanovich N.¹, Gubanova T.¹, Uss A.¹, Kovalev A.², Stoma I.²

¹Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Belarus

²Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

Gut Microbiota as a New Predictor of Acute Graft-Versus-Host in Patients after Allogeneic Haemoethic Stem Cell Transplantation

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: the concept and design of the study – Uss M., Stoma I., Milanovich N.; data collection and processing – Uss M., Gubanova T.; sample preparation – Gubanova T.; data analysis and interpretation – Uss M., Kovalev A.; provision of materials research – Uss M., Stoma I.; preparation of the manuscript – Uss M.; editing – Stoma I.; final approval of the manuscript – all authors.

Submitted: 23.09.2024

Accepted: 12.12.2024

Contacts: mikhail.uss@mail.ru

Abstract

Graft-versus-host disease is one of the leading causes of mortality and disability in patients after hematopoietic stem cell transplantation. Given the important role of the gut microbiota in the formation and maturation of the human immune system, identification and phylogenetic characterization of microorganisms of the skin, mucous membranes, and, first of all, the intestine, may in the future help in developing a prognostic model for the risk of developing acute graft-versus-host disease based on microbiome-associated risk factors. In this study, we examined the composition of the gut microbiota of 34 patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. We identified associations between the taxonomic composition of the gut microbiota of patients at different times after transplantation and the incidence of skin, gut acute graft-versus-host disease, as well as steroid-refractory acute GVHD.

Keywords: hematopoietic stem cell transplantation, gut microbiota, immunosuppressive therapy, graft-versus-host disease

■ ВВЕДЕНИЕ

Реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) – одно из наиболее частых осложнений, возникающих после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), развивающееся более чем у 50% пациентов после алло-ТГСК [3] с летальностью от 10 до 40% [1, 2]. По литературным данным, РТПХ может возникнуть также и у пациентов после ауто-ТГСК с частотой от 5% до 20% с поражением тех же органов-мишеней, как и при реакции «трансплантат против хозяина» после аллогенной трансплантации [3, 4].

Выделяют острую и хроническую формы РТПХ. Традиционно под острой формой понимают реакцию «трансплантат против хозяина», развившуюся до 100-го дня после ТГСК, под хронической – после 100-го дня [5] Однако клинические признаки острой РТПХ могут наблюдаться и после 100-го дня (поздняя острая РТПХ), в том числе и в сочетании с признаками хронической РТПХ (overlap-синдром) [6, 7].



Основные органы-мишени острой РТПХ – это кожа, с частотой поражения 92% среди всех случаев оРТПХ, печень и верхние или нижние отделы желудочно-кишечного тракта.

Смертность при острой РТПХ III или IV степени остается крайне высокой, ретроспективно оцененная пятилетняя выживаемость составляет 25% и 5% соответственно [8]. В связи с неудовлетворительными результатами лечения тяжелых форм РТПХ и необходимостью улучшения профилактики реакции «трансплантат против хозяина», ведется поиск различных биологических маркеров и предикторов, которые могут позволить модифицировать режим профилактики либо начать терапию своевременно.

Объединение плазменных биомаркеров, таких как REG3alpha, TNFR1, ST2 и др., в панель позволило выявить группу с частотой смертности, не связанной с рецидивом, до 46% [9–12]. Raczyni S. et al. изучили содержание в плазме ИЛ-2, ФНО-1, ИЛ-8 и фактор роста гепатоцитов, которые могут быть применены при постановке диагноза РТПХ [13]. Метод проточной цитометрии также изучался в качестве диагностического метода при РТПХ, было обнаружено, что экспрессия CD30+ маркера на CD8+ клетках повышается при активной РТПХ [14].

Как известно, кишечный микробиом играет важную роль в созревании иммунной системы человека и локального кишечного иммунитета, в частности в дифференцировке Т-лимфоцитов, а именно аллоактивация Т-лимфоцитов и является ключевым механизмом развития РТПХ.

В 70-х годах было показано, что у стерильных мышей кишечная форма острой реакции «трансплантат против хозяина» развивается значительно реже, это стало стартом изучения РТПХ в контексте микробиоты кишечника [15, 16].

По данным Taur et al., потеря бактериального разнообразия после трансплантации значительно повышает риск развития у пациента РТПХ и ведет к росту РТПХ-ассоциированной смертности [17].

Элиминация порядка Lactobacillales из кишечной микробиоты мышей до проведения трансплантации ведет к повышению риска развития РТПХ. Тогда как обратное заселение кишечника микробами рода Lactobacillus приводит к снижению частоты развития реакции трансплантат против хозяина [18]. В то же время, по данным Jenq et al., у пациентов с РТПХ была замечена повышенная плотность Lactobacillales и снижение Clostridiales [19].

Снижение плотности рода Blautia, относящегося к классу Clostridia, ассоциировано с достоверным повышением частоты острой формы РТПХ желудочно-кишечного тракта и увеличением смертности от РТПХ. Это можно объяснить продукцией бактериями короткоцепочечных жирных кислот – ацетата, пропионата и бутирата, которые являются основным источником энергии для эпителиальных клеток кишечника и смягчают течение воспалительного процесса в стенке кишечника. В экспериментальной модели на мышах было продемонстрировано, что добавление короткоцепочечных жирных кислот снижает повреждение кишечника и риск развития РТПХ [20, 21].

Негативную роль в развитии РТПХ могут играть энтерококки, которые обнаружены почти у всех видов и составляют <0,1% микробиоты кишечника у здоровых людей. По данным Holler et al., доля энтерококков в составе микробиоты более 21% в дни от 0 до 21-го после алло-ТГСК ассоциирована со значительным снижением

общей выживаемости и ростом кишечной РТПХ-ассоциированной смертности, в момент развития острой кишечной РТПХ доля энтерококков достигала 74% [18]. Механизмами взаимосвязи плотности энтерококков и РТПХ могут быть: опосредованное снижение плотности *Clostridium* при доминировании рода *Enterococcus*, также синтез фермента металлопротеазы, который посредством влияния на внеклеточный домен белка Е-кадгерина увеличивает проницаемость слизистого барьера кишечника для проникновения бактериальных пептидов, активирующих Т-клетки [22, 23]. Ubeda et al. показали, что колонизация кишечника реципиентов ГСК бактериями рода *Barnesiella* защищала состав микробиоты кишечника от доминирования бактерий рода *Enterococcus* [24].

Данные о негативном влиянии грамотрицательных бактерий, таких как *Escherichia coli* и *Shigella*, на частоту развития и тяжесть РТПХ были получены в исследованиях на мышах [25].

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Коллекция образцов стула проводилась у пациентов после аллогенной пересадки костного мозга либо периферических стволовых клеток крови. Протокол исследования был утвержден этической комиссией ГУ «МНПЦ ХТиГ» (протокол № 10, 2019). Исследование было проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией, а также критериями STROBE для обсервационных исследований. В исследование было включено 68 образцов стула от 34 пациентов на различных сроках: до трансплантации (n=28), в период нейтропении (n=21) и после ТГСК (n=29). Медиана возраста составила 37 лет. Среди пациентов 47% (n=16) составили мужчины и 53% (n=18) женщины. Острая РТПХ возникла у 50% (n=17) пациентов. Частота острой РТПХ 1–2-й и 3–4-й степени составила 50% (n=8). В 14 случаях была диагностирована РТПХ с поражением кожи, в 5 случаях – печени и в 9 случаях – ЖКТ. Общая характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в табл. 1.

Клиническую стадию острой РТПХ определяли по критериям IBMTR [26]. Лечение острой РТПХ осуществлялось согласно протоколу «Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (взрослое население)». Оценку эффективности терапии острой и хронической РТПХ проводили согласно «Протоколам трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток» под редакцией В.Г. Савченко [27]. Оценку частоты и тяжести острой РТПХ проводили 34 пациентам после алло-ТГСК, 2 пациента умерли до восстановления показателей периферической крови и приживления трансплантата.

Оценка бактериального состава и разнообразия проводилась методом секвенирования V3-V4 участков гена 16S рРНК на платформе Miseq (Illumina, USA).

Статистическая обработка данных проводилась в среде программирования R (версия 4.2.1) с применением библиотеки tidyverse (version 1.3.1) и пакетов phyloseq (version 1.41.0), rstatix (version 0.7.0), microbiome (version 1.19.0), HMP (version 2.0.1), DESeq2 (version 1.37.4), ANCOMBC (version 1.99.1), datawizard (version 0.4.1), vegan (version 2.6-2) [28, 29]. В качестве описательных статистик, характеризующих центральные тенденции и разброс значений количественных показателей, выбраны медиана (Me) и 1-й и 3-й квартили (Q1; Q3).



Таблица 1
Общая характеристика пациентов, включенных в исследование
Table 1
General characteristics of patients included in the study

Характеристика	Показатель, % (n)	
	oРТПХ 50% (n=17)	Без oРТПХ 50% (n=17)
Возраст, Ме	37	30
Женский пол	53% (n=9)	53% (n=9)
Основное заболевание		
Острый лейкоз		
ОМЛ	41% (n=7)	35% (n=6)
ОЛЛ	47% (n=8)	12% (n=2)
Бифенотипический лейкоз	6% (n=1)	12% (n=2)
Лимфома		
Неходжкинская лимфома	–	6% (n=1)
Хронический миелолейкоз	–	12% (n=2)
Апластическая анемия	6% (n=1)	18% (n=3)
Миелодиспластический синдром	–	6% (n=1)
Вид трансплантации		
Аллогенная		
Родственная	35% (n=6)	29% (n=5)
Неродственная:		
MUD	65% (n=11)	71% (n=12)
MMUD	45% (n=5)	58% (n=5)
	55% (n=6)	42% (n=5)
Статус до ТГСК		
Ремиссия 1	69% (n=11)	50% (n=7)
Ремиссия >1	31% (n=5)	36% (n=5)
R/R	–	14% (n=2)
Режим кондиционирования		
Миелоаблятивный	24% (n=4)	24% (n=4)
Сниженной интенсивности	76% (n=13)	76% (n=13)
Кол-во линий терапии до ТГСК		
0	–	6% (n=1)
1	35% (n=6)	47% (n=8)
>1	76% (n=12)	60% (n=8)

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Относительная представленность типа Spirochaetes, класса Spirochaetia, порядков Acidaminococcales, Limnochordales и Leptospirales, семейств Limnochordaceae, Acholeplasmataceae, Leptospiraceae, а также рода Limnochorda была ассоциирована с развитием кожной формы острой РТПХ при анализе многомерными методами DESeq2 и ANCOMBC (табл. 2, рис. 1). На уровне с семействами Lachnospiraceae и Ruminococcaceae представитель порядка Acidaminococcales, семейства Acidaminococcaceae принимает активное участие в синтезе бутирата [30].

При оценке представленности таксонов бактерий в образцах стула пациентов «после приживления» нами было обнаружено значимое влияние семейства Streptococcaceae ($\log_2\text{FoldChange}=7.3419$, $p=0.0004$, $\text{padj}=0.0420$) и ряда других таксонов на уровне родов бактерий на частоту развития кожной формы острой реакции

Таблица 2

Результаты многомерных моделей DESeq2 и ANCOMBC при оценке влияния некоторых таксонов бактерий в образцах стула до приживления на частоту развития кожной формы острой РТПХ у пациентов после алло-ТГСК

Table 2

Results of multivariate DESeq2 and ANCOMBC models in assessing the impact of bacterial taxa in pre-engraftment stool samples on the incidence of skin acute GVHD in patients after allo-HSCT

DESeq2			
Taxa	log2FoldChange	p	p adj
Phylum Spirochaetes	2.9023	0.0017	0.0134
Class Spirochaetia	2.4172	0.0043	0.0417
Order Acidaminococcales	-2.7228	0.0029	0.0846
Order Limnochordales	5.4789	0.0015	0.0648
Order Leptospirales	5.4789	0.0015	0.0648
Family Limnochordaceae	5.9956	0.0011	0.0311
Family Acholeplasmataceae	4.1592	0.0006	0.0311
Family Leptospiraceae	2.0111	0.0120	0.1432
Genus Limnochorda	6.1126	0.0015	0.0341
ANCOMBC			
Taxa	Beta_LFC	p	p adj
Phylum Spirochaetes	2.6465	0.0006	0.0101
Class Spirochaetia	1.9264	0.0017	0.0284
Order Acidaminococcales	-4.2582	0.0026	0.0462
Order Limnochordales	2.9088	0.0020	0.0460
Order Leptospirales	2.2119	0.0009	0.0460
Family Limnochordaceae	2.9479	0.0010	0.0403
Family Acholeplasmataceae	2.1014	0.0008	0.0403
Family Leptospiraceae	2.0512	0.0010	0.0403
Genus Limnochorda	2.5142	0.0016	0.0891

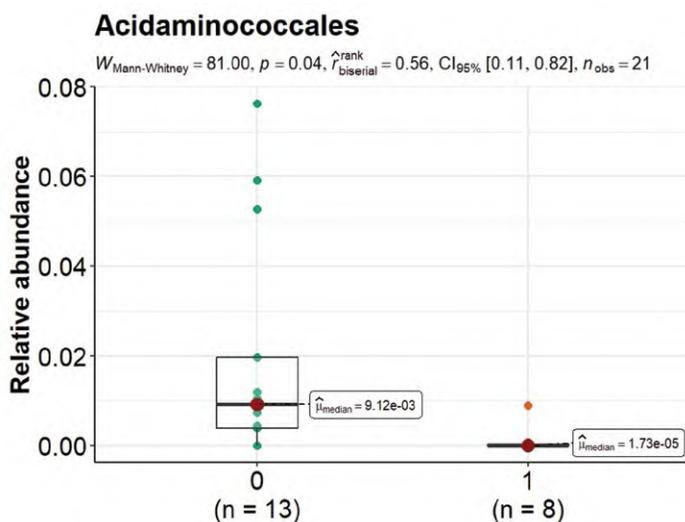


Рис. 1. График сравнения относительной представленности порядка Acidaminococcales в микробиоме кишечника до приживления в зависимости от развития кожной формы острой РТПХ
Fig. 1. Graph comparing the relative abundance of the Acidaminococcales in the gut microbiota before engraftment depending on the skin acute GVHD



«трансплантат против хозяина» при применении метода DESeq2. Род *Butyricimonas* оказался единственным таксоном на данном сроке забора, значимое влияние которого на частоту развития кожной формы оРТПХ подтверждалось также и методом ANCOMBC (Beta_LFC=2.6653, $p=0.0120$, $padj=0.1292$).

Значимых различий в составе микробиома кишечника и представленности отдельных таксонов в образцах стула пациентов с развившейся впоследствии кишечной формой РТПХ и без нее на сроках «до трансплантации» и «до приживления» нами получено не было. На сроке забора образцов стула «после приживления» большая представленность типа *Bacteroidetes* была ассоциирована с развитием у пациентов впоследствии острой РТПХ с поражением кишечника ($p=0,0157$). Медиана представленности типа *Bacteroidetes* в образцах стула пациентов без РТПХ составила 41,27% [0,13; 61,24], у пациентов с РТПХ 67,18% [66,16; 71,38].

Большая представленность представителей типа *Bacteroidetes*: класса *Bacteroidia* ($p=0,0157$) с медианой представленности 41,24% [0,07; 61,23] у пациентов без РТПХ и 67,18% [66,15; 71,38] с данным осложнением, порядка *Bacteroidales* ($p=0,0157$) с медианой представленности без РТПХ 41,25% [0,07; 61,23], с РТПХ 67,18% [66,15; 71,39], семейства *Prevotellaceae* ($p=0,0438$) с медианой представленности без РТПХ 8,12% [0,03; 31,31] и 21,22% [19,80; 61,32] с реакцией «трансплантат против хозяина» – также была ассоциирована с развитием острой РТПХ с поражением нижних отделов ЖКТ (табл. 3, рис. 2). Семейство *Prevotellaceae* у пациентов с развившейся впоследствии кишечной формой острой РТПХ было наиболее представленным таксоном среди всех на данном филогенетическом уровне.

Среди родов бактерий на сроке коллекции образцов стула «после приживления» статистически значимое влияние на частоту развития кишечной формы острой РТПХ оказывали как представители типа *Bacteroidetes*: *Barnesiella* ($p=0,0101$) и *Parabacteroides* ($p=0,349$), так и род *Faecalibaculum*, относящийся к *Firmicutes*.

Таблица 3
Результаты многомерных моделей DESeq2 и ANCOMBC при оценке влияния некоторых таксонов бактерий в образцах стула после приживления на частоту развития кишечной формы острой РТПХ у пациентов после алло-ТГСК

Table 3
Results of multivariate DESeq2 and ANCOMBC models in assessing the impact of bacterial taxa in post-engraftment stool samples on the incidence of intestinal acute GVHD in patients after allo-HSCT

DESeq2			
Taxa	log2FoldChange	p	p adj
Family Prevotellaceae	3.6688	0.0013	0.0161
Genus Barnesiella	6.5244	0.0000	0.0003
Genus Parabacteroides	4.1109	0.0002	0.0042
Genus Faecalibaculum	9.8480	0.0001	0.0036
ANCOMBC			
Taxa	Beta_LFC	p	p adj
Class Bacteroidia	3.4021	0.0007	0.0144
Order Bacteroidales	3.8569	0.0001	0.0047
Family Prevotellaceae	3.9578	0.0009	0.0243
LinDA			
Taxa	log2FoldChange	p	p adj
Genus Faecalibaculum	3.8969	0.0000	0.0049

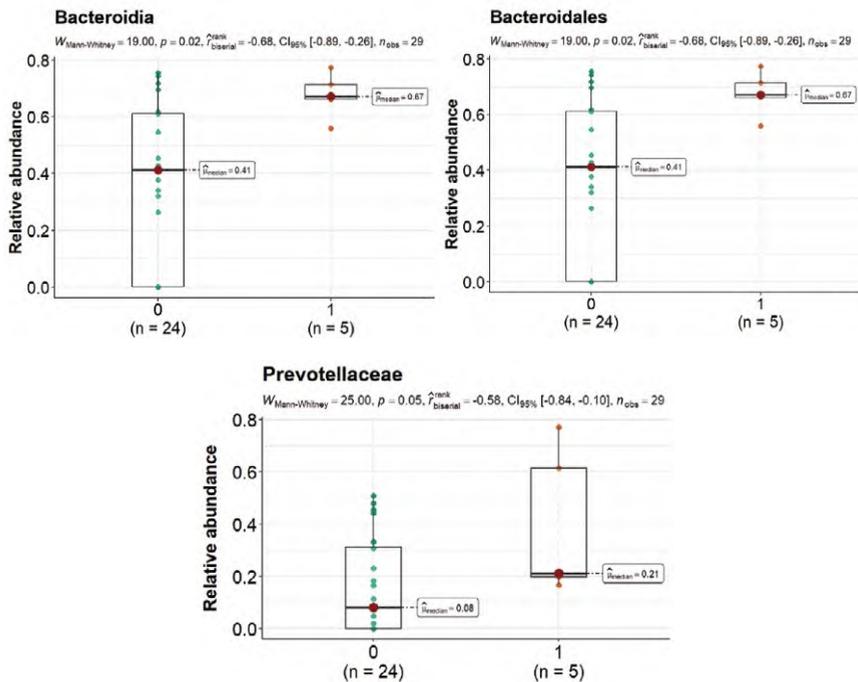


Рис. 2. График сравнения относительной представленности класса Bacteroidia, порядка Bacteroidales и семейства Prevotellaceae в микробиоме кишечника после приживления в зависимости от развития кишечной формы острой РТПХ
Fig. 2. Graph comparing the relative abundance of the class Bacteroidia, the order Bacteroidales, and the family Prevotellaceae in the gut microbiota after engraftment depending on the gut acute GVHD

Острая РТПХ 1–2-й степени была диагностирована у 43% пациентов (n=6), 3–4-й степени у 57% (n=8), имеющих образец стула на сроке «до приживления» у 60% (n=6) и 40% (n=4), имеющих образец стула на сроке «после приживления» у 47% (n=7) и 53% (n=8) соответственно.

На сроке коллекции «до приживления» у пациентов с большей представленностью класса Erysipelotrichia (p=0,381), семейства Erysipelotrichaceae (p=0,019) и вида Erysipelatoclostridium (p=0,0095), с меньшей относительной представленностью семейства Bacteroidaceae (p=0,019), вида Bacteroides (p=0,0381) и меньшим альфа-биоразнообразием микробиома кишечника (Shannon, p=0,0721) острая РТПХ 3–4-й степени регистрировалась достоверно чаще (рис. 3, 4, табл. 4).

Ответ на первую линию терапии глюкокортикостероидами в дозе 1–2 мг/кг был получен у 47% (n=8) пациентов, стероидрефрактерная/зависимая форма оРТПХ была выставлена у 53% (n=9) пациентов с острой реакцией «трансплантат против хозяина».

На сроке «после приживления» 47% (n=7) образцов стула пациентов соответствовало положительному ответу на терапию глюкокортикостероидами, 53% (n=8) – стероидрефрактерной/зависимой острой реакции «трансплантат против хозяина». Медиана срока коллекции образцов стула пациентов после приживления

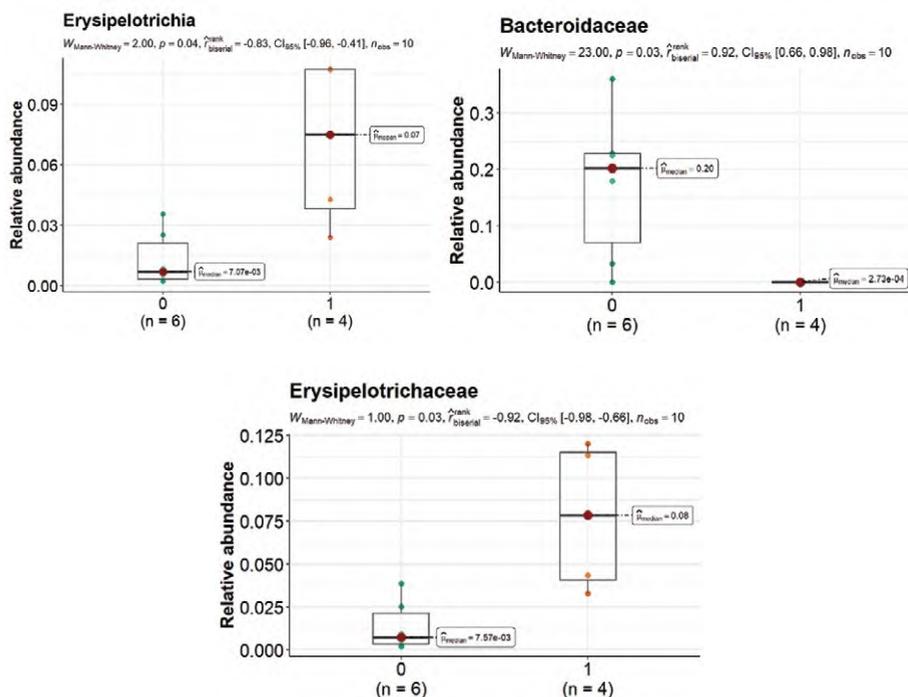


Рис. 3. График сравнения относительной представленности класса Erysipelotrichia, семейства Bacteroidaceae и Erysipelotrichaceae в микробиоме кишечника до приживления в зависимости от тяжести острой РТПХ

Fig. 3. Graph comparing the relative abundance of the class Erysipelotrichia, the family Bacteroidaceae and Erysipelotrichaceae in the gut microbiota before engraftment depending on the severity of acute GVHD

Таблица 4

Результаты многомерных моделей DESeq2 и ANCOMBC при оценке влияния некоторых таксонов бактерий в образцах стула после приживления на тяжесть течения острой РТПХ у пациентов после алло-ТГСК

Table 4

Results of multivariate DESeq2 and ANCOMBC models in assessing the impact of bacterial taxa in post-engraftment stool samples on the severity of acute GVHD in patients after allo-HSCT

DESeq2			
Taxa	log2FoldChange	p	p adj
Class Erysipelotrichia	2.4594	0.0054	0.0727
Family Bacteroidaceae	-6.9817	0.0000	0.0000
Family Erysipelotrichaceae	3.3725	0.0002	0.0098
Genus Bacteroides	-6.0272	0.0000	0.0003
Genus Erysipelatoclostridium	4.7290	0.0000	0.0004
ANCOMBC			
Taxa	Beta_LFC	p	p adj
Family Erysipelotrichaceae	4.0638	0.0002	0.0047
Genus Erysipelatoclostridium	3.0944	0.0002	0.0308

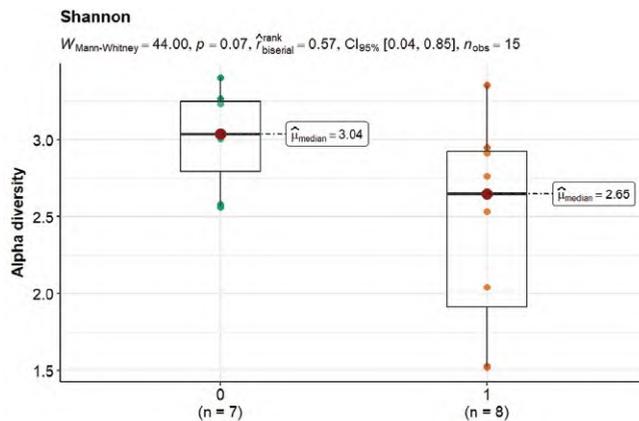


Рис. 4. График сравнения альфа-биоразнообразия микробиома кишечника до приживления в зависимости от тяжести острой РТПХ
Fig. 4. Graph comparing biodiversity of the gut microbiota before engraftment depending on the severity of acute GVHD

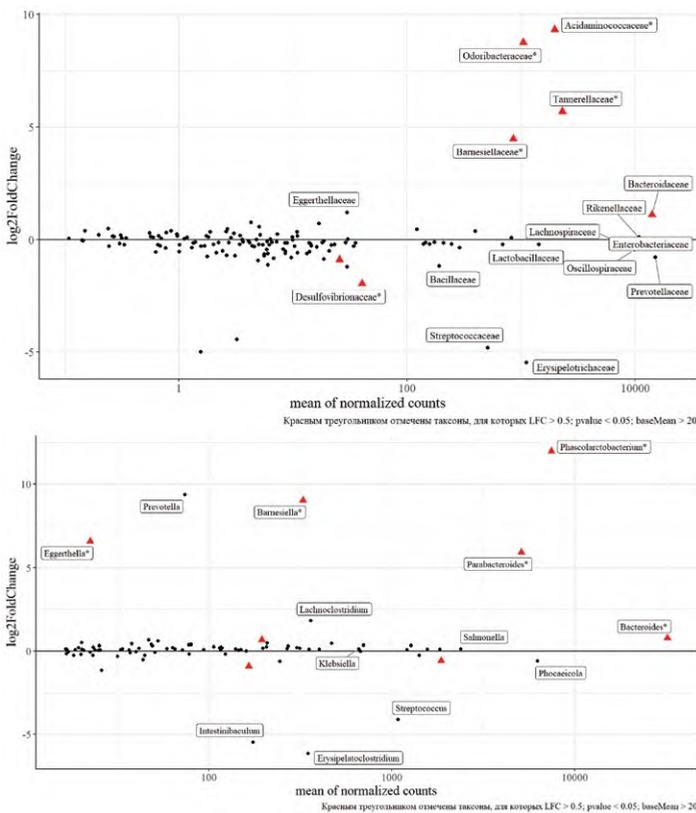


Рис. 5. Графики дифференциальной представленности семейств и родов бактерий в микробиоме кишечника до приживления в зависимости от развития стероидрефрактерной/зависимой формы острой РТПХ согласно нескорректированному р-значению
Fig. 5. Plot of relative abundance of bacterial families and genus in the gut microbiota before engraftment depending on the development of steroid-refractory/dependent acute GVHD



Таблица 5

Результаты многомерных моделей DESeq2 и ANCOMBC при оценке влияния некоторых таксонов бактерий в образцах стула после приживления на частоту развития стероидрефрактерной/зависимой формы острой РТПХ у пациентов после алло-ТГСК

Table 5

Results of multivariate DESeq2 and ANCOMBC models in assessing the impact of bacterial taxa in post-engraftment stool samples on the incidence of steroid-refractory/dependent acute GVHD in patients after allo-HSCT

DESeq2			
Taxa	log2FoldChange	p	p adj
Family Odoribacteraceae	8.7458	0.0000	0.0001
Family Tannerellaceae	5.6919	0.0000	0.0011
Family Barnesiellaceae	4.4843	0.0015	0.0506
Family Acidaminococcaceae	9.3180	0.0000	0.0000
Order Barnesiella	5.9193	0.0001	0.0017
Order Phascolarctobacterium	11.9945	0.0000	0.0000
ANCOMBC			
Taxa	Beta_LFC	p	p adj
Family Odoribacteraceae	3.1959	0.0267	0.0916
Family Tannerellaceae	3.7682	0.0076	0.0483
Family Barnesiellaceae	4.4033	0.0051	0.0483
Family Acidaminococcaceae	4.3708	0.0170	0.0811
Order Barnesiella	5.0348	0.0009	0.0925
Order Phascolarctobacterium	6.3832	0.0005	0.0925

составила 25 дней после ТГСК. Большая представленность бактерий из семейств Odoribacteraceae, Tannerellaceae, Barnesiellaceae, Acidaminococcaceae, а также родов Barnesiella и Phascolarctobacterium была ассоциирована с менее частым ответом на терапию первой линии РТПХ (рис. 5, табл. 5). Медиана представленности указанных бактериальных таксонов в микробиоме кишечника пациентов не превышала 0,01%.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведения метагеномного секвенирования 16S рРНК образцов стула пациентов после аллогенной ТГСК в период нейтропении была обнаружена ассоциация между относительной представленностью типа Spirochaetes, класса Spirochaetia, порядков Acidaminococcales, Limnochordales и Leptospirales, семейств Limnochordaceae, Acholeplasmataceae, Leptospiraceae, а также рода Limnochorda и развитием кожной формы острой РТПХ в последующем. С развитием кожной формы острой РТПХ была ассоциирована именно большая плотность указанных таксонов, кроме порядка Acidaminococcales, который был менее представлен в микробиоме кишечника пациентов с развившейся впоследствии кожной формой РТПХ.

Изменения в составе микробиома кишечника после приживления трансплантата были ассоциированы с частотой развития острой РТПХ с поражением нижних отделов ЖКТ. У пациентов с большей представленностью типа Bacteroidetes и его представителей: класса Bacteroidia порядка Bacteroidales, семейства Prevotellaceae и родов Barnesiella и Parabacteroides – острая РТПХ с поражением кишечника регистрировалась чаще.

Острая РТПХ 3–4-й степени тяжести регистрировалась достоверно чаще при большей относительной плотности класса *Erysipelotrichia*, семейства *Erysipelotrichaceae*, вида *Erysipelatoclostridium*, а также при меньшей относительной плотности семейства *Bacteroidaceae*, вида *Bacteroides* и меньшем альфа-биоразнообразии микробиома на сроке «до приживления».

Более высокая представленность бактерий семейств *Odoribacteraceae*, *Tannerellaceae*, *Barnesiellaceae*, *Acidaminococcaceae*, родов *Barnesiella* и *Phascolarctobacterium* была ассоциирована с рефрактерностью к системной терапии глюкокортикостероидами в дозе 1–2 мг/кг.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Saliba R.M., Couriel D.R., Giralt S., et al. Prognostic value of response after upfront therapy for acute GVHD. *Bone Marrow Transplant.* 2012;47(1):125–31.
2. Zeiser R., et al. Ruxolitinib in corticosteroid-refractory graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation: a multicenter survey. *Leukemia.* 2015;29(10):2062–8.
3. Goddard D.S., Ruben B.S., Mathes E.D., et al. A case of severe cutaneous, GI and liver GVHD in a patient with multiple myeloma, status-post-second auto-SCT. *Bone Marrow Transplant.* 2010;45(2).
4. Hillard M., Lazarus, et al. Spontaneous autologous graft-versus-host disease in plasma cell myeloma autograft recipients: flow cytometric analysis of hematopoietic progenitor cell grafts. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011;17(7).
5. Ferrara J.L., Levine J.E., Reddy P., Holler E. Graft-versus-host disease. *Lancet.* 2009;373(9674):1550–1561. doi: 10.1016/S0140-6736(09)602373
6. Flowers M.E., Inamoto Y., Carpenter P.A., et al. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. *Blood.* 2011;117(11):3214–3219.
7. Couriel D., Caldera H., Champlin R., Komanduri K. Acute graft-versus-host disease: pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Cancer.* 2004;101(9):1936–1946.
8. Cahn J.Y., Klein J.P., Lee S.J., et al. Prospective evaluation of 2 acute graft-versus-host (GVHD) grading systems: a joint Société Française de Greffe de Moëlle et Thérapie Cellulaire (SFGM-TC), Dana Farber Cancer Institute (DFCI), and International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) prospective study. *Blood.* 2005;106(4):1495.
9. Vander Lugt M.T., Braun T.M., Hanash S., et al. ST2 as a marker for risk of therapy-resistant graft-versus-host disease and death. *N Engl J Med.* 2013;369(6):529–39.
10. Ferrara J.L., Harris A.C., Greenson J.K., et al. Regenerating islet-derived 3-alpha is a biomarker of gastrointestinal graft-versus-host disease. *Blood.* 2011;118(25):6702–8.
11. Choi S.W., Stiff P., Cooke K., et al. TNF-inhibition with etanercept for graft-versus-host disease prevention in high-risk HCT: lower TNFR1 levels correlate with better outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2012;18(10):1525.
12. Levine J.E., Braun T.M., Harris A.C., et al. A prognostic score for acute graft-versus-host disease based on biomarkers: a multicentre study. *Lancet Haematol.* 2015;2(1):e21.
13. Paczesny S., Krijanovski O.I., Braun T.M., et al. A biomarker panel for acute graft-versus-host disease. *Blood.* 2009;113(2):273.
14. Chen Y.B., McDonough S., Hasserjian R., et al. Expression of CD30 in patients with acute graft-versus-host disease. *Blood.* 2012;120(3):691–6.
15. Van Bekkum D.W., Roodenburg J., Heidt P.J., van der Waaij D. Mitigation of secondary disease of allogeneic mouse radiation chimeras by modification of the intestinal microflora. *J Natl Cancer Inst.* 1974;52(2).
16. Jones J.M., Wilson R., Bealmeur P.M. Mortality and gross pathology of secondary disease in germfree mouse radiation chimeras. *Radiat Res.* 1971;45(3):577–88.
17. Taur Y., et al. The effects of intestinal tract bacterial diversity on mortality following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 2014;124:1174–1182.
18. Holler E., Butzhammer P., Schmid 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. *Biology of Blood a. Marrow Transplantation.* 2014;20(5):640–645.
19. Jenq R.R., Ubeda C., Taur Y., et al. Regulation of intestinal inflammation by microbiota following allogeneic bone marrow transplantation. *J Exp Med.* 2012;209:903–911.
20. Jenq R.R., et al. Intestinal *Blautia* is Associated with Reduced Death from Graft-Versus-Host Disease *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2015;21:1373–1383.
21. Mathewson N.D., Jenq R., Mathew A.V., et al. Gut microbiome-derived metabolites modulate intestinal epithelial cell damage and mitigate graft-versus-host disease. *Nat Immunol.* 2016;17(5):505–513. doi: 10.1038/ni.3400
22. Steck N., et al. Enterococcus faecalis metalloprotease compromises epithelial barrier and contributes to intestinal inflammation. *Gastroenterology.* 2011;141:959–971.
23. Stein-Thoeringer C.K., et al. Lactose drives Enterococcus expansion to promote graft-versus-host disease. *Science.* 2019;366(6469):1143–1149.
24. Ubeda C., Buccì V., Caballero S., et al. Intestinal microbiota containing *Barnesiella* species cures vancomycin-resistant Enterococcus faecium colonization. *Infect Immun.* 2013;81:965–73.
25. Eriguchi Y., et al. Graft-versus-host disease disrupts intestinal microbial ecology by inhibiting Paneth cell production of alpha-defensins. *Blood.* 2021;120:223–231.
26. Rowlings P.A., Przepiorka D., Klein J.P., et al. IBMTR Severity Index for grading acute graft-versus-host disease: retrospective comparison with Glucksberg grade. *Br J Haematol.* 1997;97(4):855.
27. Savchenko V. *Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Protocols.* Moscow: Praktika. 220. 320 p. (in Russian)
28. RStudio Team (2020) *RStudio: Integrated Development for R.* RStudio, PBC. Boston, MA. Available at: <http://www.rstudio.com/>
29. R Core Team (2022) *R: A language and environment for statistical computing.* R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available at: <https://www.R-project.org/>
30. Duncan S.H., Barcenilla A., Stewart C.S., et al. Acetate utilization and butyryl coenzyme A (CoA): Acetate-CoA transferase in butyrate-producing bacteria from the human large intestine. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002;68:5186–519.