

## Сравнительная оценка кишечной микробиоты при аутоиммунных и неаутоиммунных заболеваниях печени у детей

А.В. Никитин<sup>1,2</sup>, Г.В. Волынец<sup>1,2</sup>, А.С. Потапов<sup>3</sup>, В.В. Дудурич<sup>4</sup>, Л.Г. Данилов<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии и детской хирургии им. академика Ю.Е. Вельтищева» (Институт Вельтищева) ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>4</sup>Медико-генетический центр «CERBALAB», Санкт-Петербург, Россия;

<sup>5</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

## Comparative assessment of intestinal microbiota in autoimmune and non-autoimmune liver diseases in children

A.V. Nikitin<sup>1,2</sup>, G.V. Volynets<sup>1,2</sup>, A.S. Potapov<sup>3</sup>, V.V. Dudurich<sup>4</sup>, L.G. Danilov<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>Veltischev Research and Clinical Institute for Pediatrics and Pediatric Surgery of the Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia;

<sup>4</sup>Medical Genetic Center CERBALAB, St. Petersburg, Russia;

<sup>5</sup>Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

Влияние кишечной микробиоты на развитие различных заболеваний вызывает огромный интерес исследователей. Исследования показали, что у пациентов с хроническими заболеваниями печени доминирующими таксонами кишечной микробиоты были *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Blautia massiliensis*, а у здоровых детей — *Neisseria flavescens*. Сравнительный анализ данных о таксономическом разнообразии кишечной микробиоты при аутоиммунных и неаутоиммунных заболеваниях печени у детей отсутствует.

Цель исследования. Изучение различий в таксономическом разнообразии фекальной микробиоты у пациентов с аутоиммунными и неаутоиммунными заболеваниями печени, а также оценка потенциальных биомаркеров ампликонов гена *16S* рРНК при этих заболеваниях путем сравнения таксономического состава.

Материалы и методы. Проведен метагеномный анализ кишечной микробиоты 24 детей с хроническими заболеваниями печени (средний возраст 10,3±4,7 года) с выделением региона гена *16S* рРНК. В группу вошли 18 детей с аутоиммунными заболеваниями печени и 6 детей с неаутоиммунными заболеваниями печени.

Результаты. Выявлено 684 вида микроорганизмов в исследуемых образцах кала пациентов. Анализ показал, что в образцах кала детей с аутоиммунными заболеваниями печени доминирующих таксонов не выявлено, а у пациентов с неаутоиммунными заболеваниями печени доминирующим таксонами были *Veillonella dispar*, *Veillonella parvula*, *Cloacibacillus porcorum*, *Prevotella histicola* и *Bacteroides eggerthii*.

Заключение. Выявлены различия в составе кишечной микробиоты у детей с аутоиммунными и неаутоиммунными заболеваниями печени.

**Ключевые слова:** дети, кишечная микробиота, аутоиммунные болезни печени, неаутоиммунные болезни печени.

**Для цитирования:** Никитин А.В., Волынец Г.В., Потапов А.С., Дудурич В.В., Данилов Л.Г. Сравнительная оценка кишечной микробиоты при аутоиммунных и неаутоиммунных заболеваниях печени у детей. Рос вестн перинатол и педиатр 2024; 69:(1): 58–65. DOI: 10.21508/1027-4065-2024-69-1-58-65

The influence of the gut microbiota on the development of various diseases is of great interest to researchers. The conducted studies showed that in patients with chronic liver diseases, the dominant taxa of the gut microbiota were *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Blautia massiliensis*, and in healthy children — *Neisseria flavescens*. There is no comparative analysis of data on the taxonomic diversity of the intestinal microbiota in autoimmune and non-autoimmune liver diseases in children.

**Purpose.** To investigate differences in the taxonomic diversity of fecal microbiota in patients with autoimmune and non-autoimmune liver diseases, as well as to evaluate potential biomarkers of *16S* rRNA gene amplicons in these diseases by comparing the taxonomic composition. **Material and methods.** A metagenomic analysis of the intestinal microbiota of 24 children with chronic liver diseases (mean age 10,3±4,7 years) was carried out with the isolation of the *16S* rRNA gene region. The group included 18 children with autoimmune liver diseases and 6 children with non-autoimmune liver diseases.

**Results.** The conducted study revealed 684 types of microorganisms in the studied samples of patients' feces. The analysis of the conducted studies showed that no dominant taxa were found in the fecal samples of children with autoimmune liver diseases, while *Veillonella dispar*, *Veillonella parvula*, *Cloacibacillus porcorum*, *Prevotella histicola* and *Bacteroides eggerthii* were the dominant taxa in patients with non-autoimmune liver diseases.

**Conclusion.** Studies have shown differences in the composition of the gut microbiota in children with autoimmune and non-autoimmune liver diseases.

**Key words:** children, gut microbiota, autoimmune liver diseases, non-autoimmune liver diseases.

**For citation:** Nikitin A.V., Volynets G.V., Potapov A.S., Dudurich V.V., Danilov L.G. Comparative assessment of intestinal microbiota in autoimmune and non-autoimmune liver diseases in children. Ros Vestn Perinatol i Peditr 2024; 69:(1): 58–65 (in Russ.). DOI: 10.21508/1027-4065-2024-69-1-58-65

**И**зучение роли кишечной микробиоты в здоровье человека находится на пике популярности. Давно признаны такие биохимические и физиологические функции кишечных бактерий, как метаболизм желчных кислот и адсорбция жирорастворимых витаминов. Однако предполагается, что огромное количество микроорганизмов, населяющих кишечник и по количеству в 10 раз превышающих количество клеток нашего организма, должно выполнять дополнительные функции. В состав кишечного микробиома входит множество сообществ микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности. Структура сообщества микробиоты на таксономическом уровне резко различается у разных людей и популяций, хотя метагеномная оценка комплементов микробных генов показывает, что закодированные биохимические функции разнообразного и динамичного сообщества кишечной микробиоты обычно стабильны на исходном уровне [1, 2]. Однако стабильность структуры и функции этого сообщества могут быть нарушены внешними воздействиями. Структура и численность сообщества на уровне видов варьируют в зависимости от изменений в рационе [3, 4]. Кроме того, глубоко и устойчиво изменить общую структуру сообщества и разнообразие микробиоты может использование антибиотиков, а также воздействие ксенобиотиков [5, 6]. В результате члены этого сообщества могут исчезнуть из микробиоты, что приведет к потере их видового (и биохимического) разнообразия [7].

Исследования выявили тесную взаимосвязь кишечного микробиома с развитием таких заболеваний органов пищеварения, как воспалительные заболевания кишечника, болезни печени, онкологические заболевания желудочно-кишечного тракта [8].

© Коллектив авторов, 2024

Адрес для корреспонденции: Вольнец Галина Васильевна — д.м.н., гл. науч. сотр., рук. отдела гастроэнтерологии Научно-исследовательского клинического института педиатрии и детской хирургии им. академика Ю.Е. Вельтищева, ORCID: 0000–0002–5413–9599  
e-mail: volynec\_g@mail.ru

Никитин Артем Вячеславович — к.м.н., вед. науч. сотр. отдела гастроэнтерологии Научно-исследовательского клинического института педиатрии и детской хирургии им. академика Ю.Е. Вельтищева; асс. кафедры гастроэнтерологии факультета дополнительного профессионального образования Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова, ORCID: 0000–0001–8837–9243  
125412 Москва, ул. Талдомская, д. 2

Потапов Александр Сергеевич — д.м.н., проф., гл. науч. сотр., зав. гастроэнтерологическим отделением с гепатологической группой Национального медицинского исследовательского центра здоровья детей, ORCID: 0000–0003–4905–2373  
119296 Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1

Дудурич Василиса Валерьевна — рук. отдела «Микробиом» лаборатории «СЕРБАЛАБ», ORCID: 0000–0002–6271–5218

Данилов Лаврентий Глебович — биоинформатик лаборатории «СЕРБАЛАБ», мл. науч. сотр. кафедры генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного университета, ORCID: 0000–0002–4479–3095  
199106 Санкт-Петербург, Большой проспект Васильевского острова, 90, корп. 2

Предполагается, что этиопатогенез болезни Крона и язвенного колита — хронических и рецидивирующих форм воспалительных заболеваний кишечника, — является многофакторным процессом, связанным со сложным взаимодействием генетических факторов, факторов окружающей среды, иммунной дисрегуляцией слизистой оболочки и инфекционными агентами [9–12].

Накапливаются данные о том, что кишечная микробиота, содержащая гораздо больше генов, чем наш человеческий геном, стала ключевым фактором окружающей среды, участвующим по оси кишечник–печень в развитии заболеваний печени [13–17]. Предварительные доказательства участия кишечной микробиоты в патогенезе аутоиммунного гепатита показаны в модели на мышах [18, 19].

Все больше внимания уделяется печени как центральному «игроку» во взаимодействии хозяина и кишечной микробиоты. Этот орган не находится в физическом контакте с люминальной микробиотой, как в случае с кишечным эпителием. Однако печень имеет четкую функциональную связь с микробиотой кишечника. Поскольку значительная часть венозного кровотока кишечника впадает в портальное кровообращение, печень является первым и основным системным органом, взаимодействующим не только с питательными веществами и макромолекулами пищи, но и с множеством метаболитических продуктов кишечной микробиоты, которые включают продукты самого бактериального метаболизма, а также продукты биотрансформации поступающих с пищей (или фармакологических) веществ [20]. Печень находится на границе между системным кровообращением и потоком молекул ксенобиотиков и микробно-ассоциированных молекулярных комплексов, поступающих в кровотоки в результате абсорбции в кишечнике. Метаболиты, генерируемые микробами, могут варьировать в зависимости от состава микробиоты. Они шунтируются вдоль воротной вены и вызывают активацию множественных сигнальных путей. Чрезмерное их воздействие может привести к воспалению.

Печень также служит местом образования желчи и играет очевидную роль в энтерогепатической циркуляции. Один из первых описанных физиологических процессов, на которые влияет кишечная микробиота, — внутрипросветный биопротектинг желчных кислот. Желчные кислоты (например, холевая кислота и хенодезоксихолевая кислота), вырабатываемые в печени, конъюгируются с глюкуроновой кислотой. После выброса в просвет двенадцатиперстной кишки желчные кислоты проходят по всей длине тонкой кишки, кишечные бактерии метаболизируют и деконъюгируют желчные кислоты, которые затем реабсорбируются в основном в дистальном отделе подвздошной кишки и транспортируются обратно в печень (энтерогепатическая циркуляция) [21, 22].

Желчные кислоты контролируют сообщество кишечной микробиоты и влияют на него за счет внутренней микробной модулирующей активности и через набор специализированных рецепторов, включая рецептор-1 желчных кислот, связанный с белком G (TGR5), и фарнезоидный X-рецептор выполняют сигнальные функции [23, 24]. Нарушение химического и микробного взаимодействия в энтерогепатической циркуляции может привести к образованию генотоксичных и/или провоспалительных промежуточных метаболитов. Таким образом, кишечная микробиота и продукты ее жизнедеятельности влияют на функцию печени и метаболизм желчных кислот.

Наконец, в то время как кишечный эпителиальный барьер обеспечивает ключевую функцию в секвестрации микробиоты в просвете кишечника, печень представляет собой системный «защитный фильтр» благодаря фагоцитарной функции выстилающих синусоиды клеток Купфера, которые играют роль в устранении комменсальных бактерий, попадающих в портальную циркуляцию [25–27]. Повышенная подверженность печени комменсальным микробам и их продуктам — особенность патогенеза многих ее заболеваний. Из-за изменений барьерной функции слизистой оболочки кишечника на печень могут воздействовать микробно-ассоциированные молекулярные комплексы, которые также могут приводить к усилению передачи сигналов врожденного иммунитета через распознающие паттерны, приводящие к целому ряду воспалительных реакций [27].

В целом понятно, что концепция, согласно которой печень рассматривается как биореактор, распространяется на ее взаимодействие с микробиотой. Однако, несмотря на огромный интерес к исследованиям, в проблеме влияния кишечной микробиоты и ее дисбаланса на развитие заболеваний печени нерешенных вопросов остается значительно больше, чем полученных ответов. Это обуславливает необходимость дальнейших исследований в этой области, особенно у детей.

**Цель исследования:** изучение различий в таксономическом разнообразии фекальной микробиоты у пациентов с аутоиммунными и неаутоиммунными заболеваниями печени, а также оценка потенциальных биомаркеров ампликонов гена *16S* рРНК при этих заболеваниях путем сравнения таксономического состава.

#### Характеристика детей и методы исследования

Проведен метагеномный анализ кишечной микробиоты 24 детей с хроническими заболеваниями печени (средний возраст  $10,3 \pm 4,7$  года) с выделением региона гена *16S* рРНК. В группу вошли 18 детей с аутоиммунными заболеваниями печени. Группу сравнения составили 6 детей с неаутоиммунными заболеваниями печени. Исследование сплошное: материал собирали

одновременно у всех детей с заболеваниями печени, находившихся на обследовании на момент проведения сбора материала.

Протоколы исследования одобрены независимыми локальными этическими комитетами и учеными советами ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» и ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница ДЗМ», в которых наблюдались пациенты. Представителями пациентов, а также самими пациентами в возрасте старше 14 лет было подписано информированное согласие на обработку персональных данных.

Метагеномное исследование образцов кала проводили в генетической лаборатории Медико-генетического центра CERBALAB (Санкт-Петербург).

**Биоинформационный анализ секвенирования *16S* рРНК.** Данные секвенирования *16S* рРНК проанализированы с использованием биоинформационного конвейера, реализованного на языках программирования R v.3.6 (R Core Team, 2014) и Python. На первом этапе конвейера праймерные последовательности обрезали в начале парных считываний, при этом пары считываний, не содержащие праймерных последовательностей, отбрасывали. Затем обрезали 25 пар оснований с конца каждого прочтения как некачественные основания и обрабатывали полученные данные с помощью пайплайна DADA2 для идентификации точных вариантов последовательности [28]. После определения точных вариантов последовательности прямые и обратные чтения объединяли путем конкатенации и полученные последовательности использовали для наивной байесовской таксономической классификации с применением базы данных SILVA v138 в качестве эталона [29, 30]. Определение вида выполняли с помощью алгоритма точного соответствия в DADA2 с использованием последовательностей SILVA v138, предварительно обработанных соответствующим образом с помощью пользовательских скриптов.

**Статистическая обработка.** Сравнение численности различных таксонов в разных когортах осуществляли с помощью критерия *U* Манна–Уитни (для парных сравнений). Коррекцию множественных тестов проводили с помощью метода Бенджамина–Хохберга в программной среде R. Для расчета индекса разнообразия Шеннона матрица, содержащая общее количество ASV на уровне вида на образец, была предоставлена в качестве входных данных в пакет *vegan* на языке программирования R. Для идентификации специальных таксонов для каждой группы был проведен анализ sPLS-DA с помощью пакета *mulio* на языке программирования R.

#### Результаты

Проведенное исследование выявило 684 вида микроорганизмов в исследуемых образцах фекалий пациентов.

Анализ исследований показал, что образцы кала детей с аутоиммунными заболеваниями печени и пациентов с неаутоиммунными заболеваниями печени различаются по бактериальному разнообразию (рис. 1). Доминирующими таксонами у детей неаутоиммунными заболеваниями печени были *Veillonella dispar*, *Veillonella parvula*, *Cloacibacillus porcorum*, *Prevotella histicola* и *Bacteroides eggerthii*, а у пациентов с аутоиммунными заболеваниями печени доминирующих таксонов не выявлено (рис. 2). При этом статистически значимо различалось процентное соотношение доминирующих видов кишечной микробиоты у детей с неаутоиммунными и аутоиммунными заболеваниями печени: *V. dispar*, *V. parvula*, *C. porcorum*, *P. histicola* и *B. eggerthii* в образцах кала пациентов с неаутоиммунными заболеваниями печени значительно выше, чем в образцах кала у детей с аутоиммунными заболеваниями (рис. 3).

### Обсуждение

Появляется все больше доказательств того, что изменения в кишечном микробиоме коррелируют почти со всеми известными заболеваниями печени или иммунологическими заболеваниями [13, 17, 31, 32]. Несмотря на значительное разнообразие кишечной микробиоты у здоровых людей, исследования показывают ее дисбаланс при воспалительных заболеваниях кишечника со значительным снижением количества таких микробов, как *Prevotella copri* или бактерия *Faecalibacterium prauznitzii*,

продуцирующими бутират, тогда как у здоровых людей отмечается высокое содержание таких бактерий, как *Ruminococceae* [2, 33]. При этом печень как орган, функция которого непосредственно связана с функциями кишечника вследствие того, что она находится на границе между системным кровообращением и потоком молекул ксенобиотиков и микробно-ассоциированных молекулярных комплексов, поступающих в результате абсорбции в кишечнике, еще служит продуцентом желчных кислот, метаболизм которых тесно ассоциирован с деятельностью кишечной микробиоты.

Известно, что иммунные/аутоиммунные воспалительные заболевания билиарной системы связаны с изменениями микробиоты. Первичный билиарный холангит и первичный склерозирующий холангит относятся к хроническими прогрессирующими воспалительными заболеваниями с поражением как крупных, так и мелких желчных протоков, которые приводят к циррозу и печеночной недостаточности. Хорошо известная ассоциация первичного склерозирующего холангита с язвенным колитом и снижением функции эпителиального барьера кишечника подчеркивает косвенную связь первичного склерозирующего холангита с кишечной микробиотой. Многочисленные таксономические анализы образцов кала и слизистой оболочки пациентов выявили дисбаланс кишечной микробиоты с обычно применимыми оговорками относительно коррелятивного характера этих исследований [34].

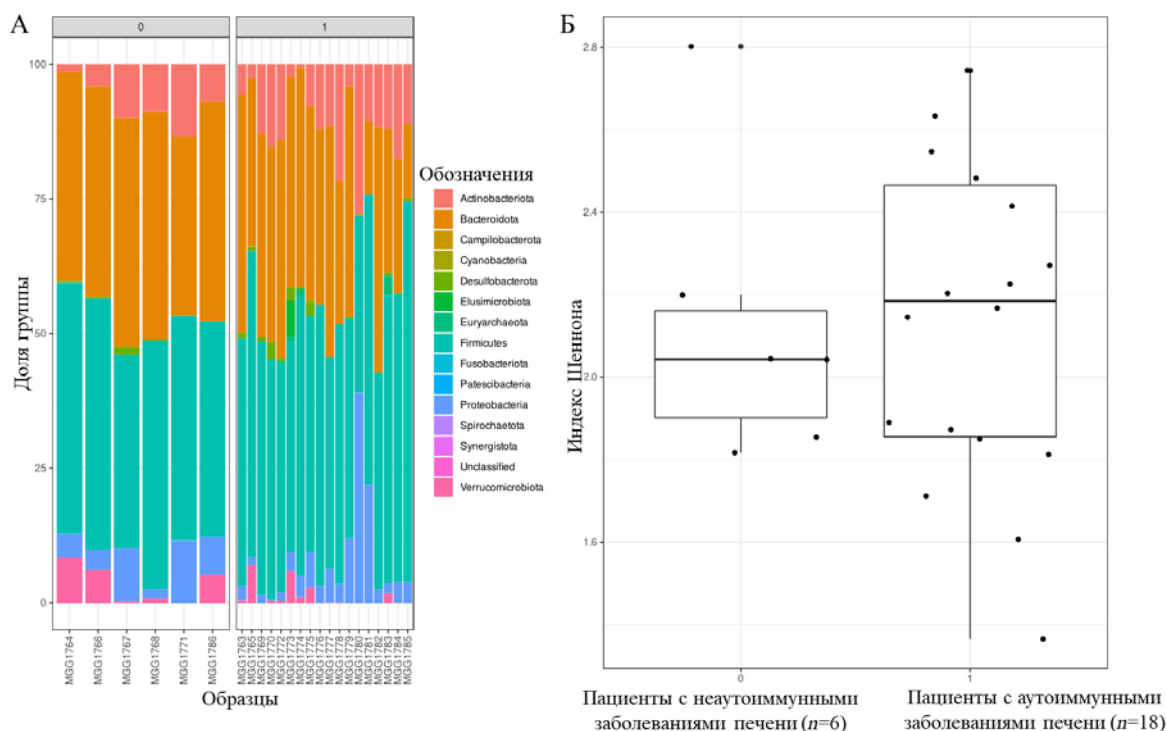


Рисунок 1. Различия по бактериальному разнообразию кишечной микробиоты у детей с аутоиммунными и неаутоиммунными заболеваниями печени.

Figure 1. Differences in bacterial diversity of the gut microbiota in children with autoimmune and non-autoimmune liver diseases.

Однако эти исследования проводились у взрослых. Таких исследований у детей в доступной литературе мы не обнаружили. Механически перенос микробиоты человека, страдающего первичным склерозирующим холангитом, стерильным мышам вызывал

снижение барьерной функции эпителия кишечника и индукцию печеночных Th17-ответов [35]. Кроме того, в этих моделях описаны изменения проницаемости кишечника и опосредованное инфламмасомой NLRP3 воспаление печени [36]. Инфламмасома

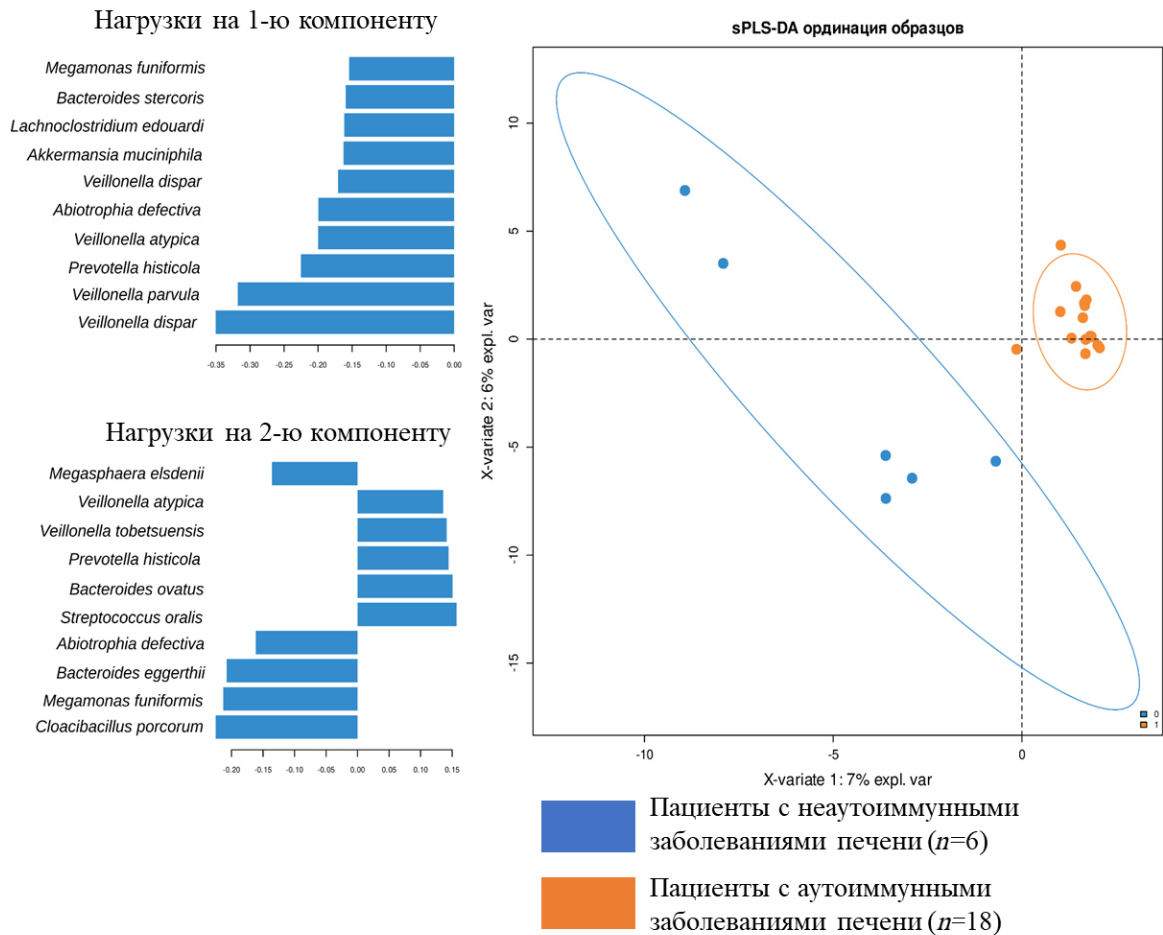


Рисунок 2. Таксономический состав кишечной микробиоты у детей с аутоиммунными и неаутоиммунными заболеваниями печени.

Figure 2. Taxonomic composition of the gut microbiota in children with autoimmune and non-autoimmune liver diseases.

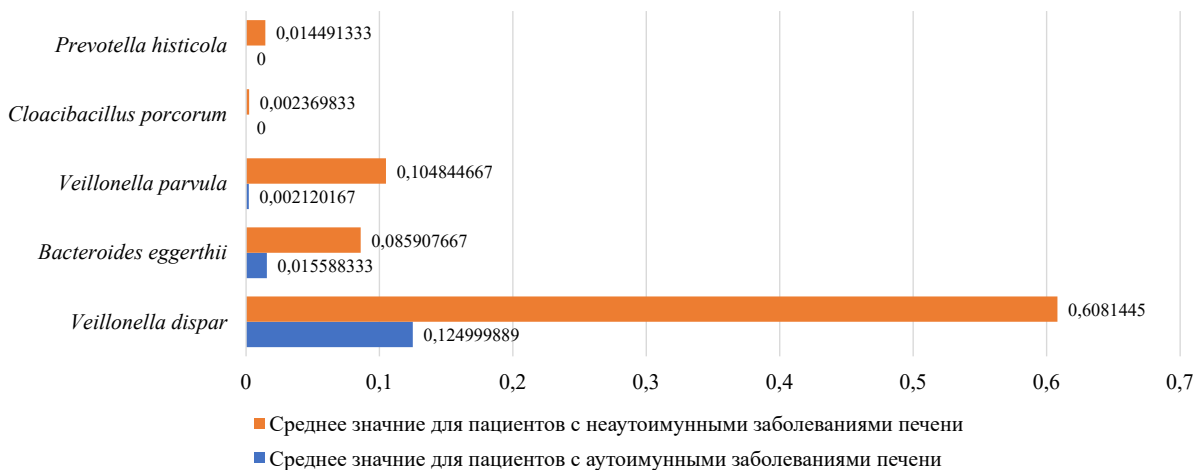


Рисунок 3. Процентное соотношение видов бактерий кишечной микробиоты у детей с аутоиммунными и неаутоиммунными заболеваниями печени.

Figure 3. Percentage of bacterial species of the gut microbiota in children with autoimmune and non-autoimmune liver diseases.

NLRP3 представляет собой внутриклеточный белковый комплекс, ответственный за запуск воспалительных процессов, регулируя созревание и секрецию провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и IL-18; она представляет собой основной медиатор в оси кишечник–печень. Показано, что воспаление кишечника развивается из-за активации инфламмосомы NLRP3. Кроме того, высокие уровни вторичных желчных кислот способствуют образованию активных форм кислорода и азота и связаны с нарушением целостности кишечного эпителия наряду с воспалением [37].

Представленные нами данные различий структуры сообщества фекальной микробиоты у детей с аутоиммунными и неаутоиммунными заболеваниями печени, диагностированные с помощью секвенирования гена *16S* рРНК, показывают, что дисбаланс микробиоты у пациентов с аутоиммунными заболеваниями печени характеризуется более бедным бактериальным разнообразием и отсутствием доминирующих таксонов, в то время как у детей с неаутоиммунными заболеваниями печени в кишечной микробиоте определялись такие доминирующие таксоны, как *Veillonella dispar*, *Veillonella parvula*, которые ферментируют уксусную, молочную и пировиноградную кислоты. Обычно *V. dispar* считается непатогенной бактерией, но предполагается возможная роль ее в воспалении и колоректальном раке [38, 39]. Исследования также показывают, что *Veillonella* продуцирует липополисахариды [40]. Сообщалось, что они участвуют в нескольких тяжелых воспалительных состояниях, включая рецидивирующую болезнь Крона, остеомиелит и эндокардит [41–43]. Показано, что при аутоиммунном гепатите у взрослых по мере прогрессирования заболевания от легкого до тяжелого воспаления число *V. dispar* значительно увеличивается [44]. Эти результаты дают убедительные доказательства потенциала неинвазивного анализа кала для помощи в диагностике и стратификации пациентов с аутоиммунным гепатитом. По нашим данным, у детей и *V. parvula*, и *V. dispar* значительно преобладали при неаутоиммунных заболеваниях печени.

Доминирующим таксоном при неаутоиммунных заболеваниях печени в нашем исследовании также оказалась *Prevotella histicola* — сахаролитик, который производит уксусную кислоту и янтарную кислоту в качестве основных конечных продуктов ферментации, а также незначительное количество изовалериановой кислоты и молочной кислоты [45]. Она также продуцирует такие витамины, как биотин и фолат, и участвует в переваривании сложных углеводов и производстве ацетата. В моделях на животных показано, что *P. histicola* — одна из терапевтических бактерий, которую используют при лечении таких аутоиммунных заболеваний, как ревматоидный артрит, рассеянный склероз, аутоиммунная энцефалопатия [46–48].

Доминирующим таксоном при неаутоиммунных заболеваниях печени у детей также были *Bacteroides*

*eggerthii* — условно-патогенные микроорганизмы, которые, однако, могут вызывать гнойно-воспалительные заболевания различной локализации. Установлено, что этот микроорганизм продуцирует гепариназу I, которая может быть субстратом для получения гепарина [49]. *Bacteroidetes* выделяют ферменты, эффективно разрушающие сложные углеводы [50, 51].

Доминировал также *Cloacibacillus porcorum*, относящийся к роду *Clostridium*, который продуцирует ацетат, пропионат, формиат и бутират, участвует в синтезе нуклеотидов для ДНК и РНК; однако этот микроорганизм известен как потенциальный патоген для человека, в модели на животных способный разрушать муциновый слой в кишечнике и вызывать энтеропатию [52, 53].

## Заключение

Мы описали структуру сообщества фекальной микробиоты у детей с аутоиммунными заболеваниями печени в сравнении с неаутоиммунными заболеваниями, полученной с помощью секвенирования гена *16S* рРНК. Наши данные показывают, что у детей дисбаланс кишечной микробиоты при аутоиммунных заболеваниях печени характеризуется более бедным бактериальным разнообразием, отсутствием доминирующих таксонов, в отличие от фекальной микробиоты детей с неаутоиммунными заболеваниями печени.

Для обобщения этих результатов потребуются многоцентровые исследования. Это исследование предоставляет доказательства корреляции, а не причинно-следственной связи. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы оценить, играют ли ассоциированные с заболеванием бактерии роль в иммунной дисфункции и воспалении печени, а также их роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний. Тем не менее полученные данные исследования микробиоты кишечника детей с заболеваниями печени дают новое представление о патогенезе заболеваний, а также повышают возможность использования неинвазивных биомаркеров в их стратификации.

Хотя метагеномные исследования еще не получили широкого распространения, они использовались для диагностики инфекций у детей, выявления генов резистентности в клинических образцах и характеристики вспышек заболеваний. При этом высокая стоимость и длительность выполнения работ ограничивают его применение в клинических лабораториях, но новые платформы и повышенный комфорт при использовании этих методов продолжают продвигать диагностическую метагеномику в клиническую педиатрию. В этой области еще предстоит провести много исследований. В ближайшем будущем педиатры будут все чаще использовать метагеномные методы при обследовании детей и выборе метода их лечения.

## ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. He Y., Wu W., Zheng H.M., Li P., McDonald D., Sheng H.F. et al. Regional variation limits applications of healthy gut microbiome reference ranges and disease models. *Nat Med* 2018; 24(10): 1532–1535. DOI: 10.1038/s41591-018-0164-x
2. Huttenhower C., Gevers D., Knight R., Abubucker S., Badger J.H., Chinwalla A.T. et al. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012; 486(7402): 207–214. DOI: 10.1038/nature11234
3. David L.A., Maurice C.F., Carmody R.N., Gootenberg D.B., Button J.E., Wolfe B.E. et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 2014; 505(7484): 559–563. DOI: 10.1038/nature12820
4. Sonnenburg E.D., Smits S.A., Tikhonov M., Higginbottom S.K., Wingreen N.S., Sonnenburg J.L. Diet-induced extinctions in the gut microbiota compound over generations. *Nature* 2016; 529(7585): 212–215. DOI: 10.1038/nature16504
5. Modi S.R., Collins J.J., Relman D.A. Antibiotics and the gut microbiota. *Clin Invest* 2014; 124(10): 4212–4218. DOI: 10.1172/JCI172333
6. Maurice C.F., Haiser H.J., Turnbaugh P.J. Xenobiotics shape the physiology and gene expression of the active human gut microbiome. *Cell* 2013; 152(1–2): 39–50. DOI: 10.1016/j.cell.2012.10.052
7. Sonnenburg J.L., Backhed F. Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature* 2016; 535(7610): 56–64. DOI: 10.1038/nature18846
8. Jones R.M., Neish A.S. Gut Microbiota in Intestinal and Liver Disease. *Annu Rev Pathol* 2021; 16: 251–275. DOI: 10.1146/annurev-pathol-030320-095722
9. Xu X.R., Liu C.Q., Feng B.S., Liu Z.J. Dysregulation of mucosal immune response in pathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20(12): 3255–3264. DOI: 10.3748/wjg.v20.i12.3255
10. Carrière J., Darfeuille-Michaud A., Nguyen H.T. Infectious etiopathogenesis of Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20(34): 12102–12117. DOI: 10.3748/wjg.v20.i34.12102
11. Abraham C., Cho J.H. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2009; 361(21): 2066–2078. DOI: 10.1056/NEJMra0804647
12. Kaser A., Zeissig S., Blumberg R.S. Inflammatory bowel disease. *Annu Rev Immunol* 2010; 28: 573–621. DOI: 10.1146/annurev-immunol-030409-101225
13. Adolph T.E., Grandner C., Moschen A.R., Tilg H. Liver-Microbiome Axis in Health and Disease. *Trends Immunol* 2018; 39(9): 712–723. DOI: 10.1016/j.it.2018.05.002
14. Kummel M., Holm K., Anmarkrud J.A., Nygård S., Vesterhus M., Hoivik M.L. et al. The gut microbial profile in patients with primary sclerosing cholangitis is distinct from patients with ulcerative colitis without biliary disease and healthy controls. *Gut* 2017; 66(4): 611–619. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310500
15. Sabino J., Vieira-Silva S., Machiels K., Joossens M., Falony G., Ballet V. et al. Primary sclerosing cholangitis is characterised by intestinal dysbiosis independent from IBD. *Gut* 2016; 65(10): 1681–1689. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-311004
16. Tang R., Wei Y., Li Y., Chen W., Chen H., Wang Q. et al. Gut microbial profile is altered in primary biliary cholangitis and partially restored after UDCA therapy. *Gut* 2018; 67(3): 534–541. DOI: 10.1136/gutjnl-2016-313332
17. Tripathi A., Debelius J., Brenner D.A., Karin M., Loomba R., Schnabl B. et al. The gut-liver axis and the intersection with the microbiome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2018; 15(7): 397–411. DOI: 10.1038/s41575-018-0011-z
18. Manfredo Vieira S., Hiltensperger M., Kumar V., Zegarra-Ruiz D., Dehner C., Khan N. et al. Translocation of a gut pathobiont drives autoimmunity in mice and humans. *Science* 2018; 359(6380): 1156–1161. DOI: 10.1126/science.aar7201
19. Yuksel M., Wang Y., Tai N., Peng J., Guo J., Beland K. et al. A novel «humanized mouse» model for autoimmune hepatitis and the association of gut microbiota with liver inflammation. *Hepatology* 2015; 62(5): 1536–1550. DOI: 10.1002/hep.27998
20. Klaassen C.D., Cui J.Y. Review: mechanisms of how the intestinal microbiota alters the effects of drugs and bile acids. *Drug Metab Dispos* 2015; 43(10): 1505–1521. DOI: 10.1124/dmd.115.065698
21. Dawson P.A., Karpen S.J. Intestinal transport and metabolism of bile acids. *J Lipid Res* 2015; 56(6): 1085–1099. DOI: 10.1194/jlr.R054114
22. Sayin S.I., Wahlström A., Felin J., Jäntti S., Marschall H.U., Bamberg K. et al. Gut microbiota regulates bile acid metabolism by reducing the levels of tauro-beta-muricholic acid, a naturally occurring FXR antagonist. *Cell Metab* 2013; 17(2): 225–235. DOI: 10.1016/j.cmet.2013.01.003
23. Jia W., Xie G., Jia W. Bile acid-microbiota crosstalk in gastrointestinal inflammation and carcinogenesis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2018; 15(2): 111–128. DOI: 10.1038/nrgastro.2017.119
24. Wahlström A., Sayin S.I., Marschall H.U., Bäckhed F. Intestinal crosstalk between bile acids and microbiota and its impact on host metabolism. *Cell Metab* 2016; 24(1): 41–50. DOI: 10.1016/j.cmet.2016.05.005
25. Spadoni I., Zagato E., Bertocchi A., Paolinelli R., Hot E., Di Sabatino A. et al. A gut-vascular barrier controls the systemic dissemination of bacteria. *Science* 2015; 350(6262): 830–834. DOI: 10.1126/science.aad0135
26. Balmer M.L., Slack E., de Gottardi A., Lawson M.A., Hapfelmeier S., Miele L. et al. The liver may act as a firewall mediating mutualism between the host and its gut commensal microbiota. *Sci Transl Med* 2014; 6(237): 237ra66. DOI: 10.1126/scitranslmed.3008618
27. Chen F., Stappenbeck T.S. Microbiome control of innate reactivity. *Curr Opin Immunol* 2019; 56: 107–113. DOI: 10.1016/j.coi.2018.12.003
28. Callahan B.J., McMurdie P.J., Rosen M.J., Han A.W., Johnson A.J., Holmes S.P. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods* 2016; 13(7): 581–583. DOI: 10.1038/nmeth.3869
29. Wang E.T., Moyzis R.K. Genetic evidence for ongoing balanced selection at human DNA repair genes ERCC8, FANCC, and RAD51C. *Mutat Res* 2007; 616(1–2): 165–174. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2006.11.030
30. Quast C., Pruesse E., Yilmaz P., Gerken J., Schweer T., Yarza P. et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res* 2013; 41(Database issue): D590–D596. DOI: 10.1093/nar/gks1219
31. Blander J.M., Longman R.S., Iliev I.D., Sonnenberg G.F., Artis D. Regulation of inflammation by microbiota interactions with the host. *Nat Immunol* 2017; 18(8): 851–860. DOI: 10.1038/ni.3780
32. Clemente J.C., Manasson J., Scher J.U. The role of the gut microbiome in systemic inflammatory disease. *BMJ* 2018; 360: j5145. DOI: 10.1136/bmj.j5145
33. Gevers D., Kugathasan S., Denson L.A., Vázquez-Baeza Y., Van Treuren W., Ren B. et al. The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host Microbe* 2014; 15(3): 382–392. DOI: 10.1016/j.chom.2014.02.005
34. Kummel M., Hov J.R. The gut microbial influence on cholestatic liver disease. *Liver Int* 2019; 39(7): 1186–1196. DOI: 10.1111/liv.14153
35. Nakamoto N., Sasaki N., Aoki R., Miyamoto K., Suda W., Teratani T. et al. Gut pathobionts underlie intestinal barrier dysfunction and liver T helper 17 cell immune response in prima-

- ry sclerosing cholangitis. *Nat Microbiol* 2019; 4(3): 492–503. DOI: 10.1038/s41564-018-0333-1
36. Liao L., Schneider K.M., Galvez E.J.C., Frissen M., Marshall H.U., Su H. et al. Intestinal dysbiosis augments liver disease progression via NLRP3 in a murine model of primary sclerosing cholangitis. *Gut* 2019; 68(8): 1477–1492. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-316670
37. Zhao S., Gong Z., Zhou J., Tian C., Gao Y., Xu C. et al. Deoxycholic Acid Triggers NLRP3 Inflammasome Activation and Aggravates DSS-Induced Colitis in Mice. *Front Immunol* 2016; 7: 536. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00536
38. Deng X., Li Z., Li G., Li B., Jin X., Lyu G. Comparison of Microbiota in Patients Treated by Surgery or Chemotherapy by 16S rRNA Sequencing Reveals Potential Biomarkers for Colorectal Cancer Therapy. *Front Microbiol* 2018; 9: 1607. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01607
39. Kasai C., Sugimoto K., Moritani I., Tanaka J., Oya Y., Inoue H. et al. Comparison of human gut microbiota in control subjects and patients with colorectal carcinoma in adenoma: Terminal restriction fragment length polymorphism and next-generation sequencing analyses. *Oncol Rep* 2016; 35(1): 325–33. DOI: 10.3892/or.2015.4398
40. Matera G., Muto V., Vinci M., Zicca E., Abdollahi-Roodsaz S., van de Veerdonk F.L. et al. Receptor recognition of and immune intracellular pathways for *Veillonella parvula* lipopolysaccharide. *Clin Vaccine Immunol* 2009; 16(12): 1804–1809. DOI: 10.1128/CVI.00310-09
41. De Cruz P., Kang S., Wagner J., Buckley M., Sim WH., Priedaux L. et al. Association between specific mucosa-associated microbiota in Crohn's disease at the time of resection and subsequent disease recurrence: a pilot study. *J Gastroenterol Hepatol* 2015; 30(2): 268–278. DOI: 10.1111/jgh.12694
42. Bongaerts G.P., Schreurs B.W., Lunel F.V., Lemmens J.A., Pruszczyński M., Merckx M.A. Was isolation of *Veillonella* from spinal osteomyelitis possible due to poor tissue perfusion? *Med Hypotheses* 2004; 63(4): 659–661. DOI: 10.1016/j.mehy.2004.02.052
43. Rovero C., Etienne A., Foucault C., Berger P., Brouqui P. *Veillonella montpellierensis* endocarditis. *Emerg Infect Dis* 2005; 11(7): 1112–1114. DOI: 10.3201/eid1107.041361
44. Wei Y., Li Y., Yan L., Sun C., Miao Q., Wang Q. et al. Alterations of gut microbiome in autoimmune hepatitis. *Gut* 2020; 69(3): 569–577. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-317836
45. Downes J., Hooper S.J., Wilson M.J., Wade W.G. *Prevotella histicola* sp. nov., isolated from the human oral cavity. *Int J Syst Evol Microbiol* 2008; 58(Pt 8): 1788–1791. DOI: 10.1099/ijs.0.65656-0
46. Balakrishnan B., Luckey D., Bodhke R., Chen J., Marietta E., Jeraldo P. et al. *Prevotella histicola* Protects From Arthritis by Expansion of Allobaculum and Augmenting Butyrate Production in Humanized Mice. *Front Immunol* 2021; 12: 609644. DOI: 10.3389/fimmu.2021.609644
47. Mangalam A.K., Murray J. Microbial monotherapy with *Prevotella histicola* for patients with multiple sclerosis. *Expert Rev Neurother* 2019; 19(1): 45–53. DOI: 10.1080/14737175.2019.1555473
48. Shahi S.K., Jensen S.N., Murra A.C., Tang N., Guo H., Gibson-Corley K.N. et al. Human Commensal *Prevotella histicola* Ameliorates Disease as Effectively as Interferon-Beta in the Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Front Immunol* 2020; 11: 578648. DOI: 10.3389/fimmu.2020.578648
49. Liu C.Y., Su W.B., Guo L.B., Zhang Y.W. Cloning, expression, and characterization of a novel heparinase I from *Bacteroides eggerthii*. *Prep Biochem Biotechnol* 2020; 50(5): 477–485. DOI: 10.1080/10826068.2019.1709977
50. Kmežik C., Krška D., Mazurkewich S., Larsbrink J. Characterization of a novel multidomain CE15–GH8 enzyme encoded by a polysaccharide utilization locus in the human gut bacterium *Bacteroides eggerthii*. *Sci Rep* 2021; 11(1): 17662. DOI: 10.1038/s41598-021-96659-z
51. Petersen A.B., Christensen I.A., Ronne M.E., Stender E.G.P., Teze D., Svensson B. et al.  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  resonance assignment of the enzyme KdGF from *Bacteroides eggerthii*. *Biomol NMR Assign* 2022; 16(2): 343–347. DOI: 10.1007/s12104-022-10102-6
52. Domingo M.C., Yansouni C., Gaudreau C., Lamothe F., Lévesque S., Tremblay C. et al. *Cloacibacillus* sp., a Potential Human Pathogen Associated with Bacteremia in Quebec and New Brunswick. *Clin Microbiol* 2015; 53(10): 3380–3. DOI: 10.1128/JCM.01137-15
53. Puón-Peláez X.D., McEwan N.R., Gómez-Soto J.G., Álvarez-Martínez R.C., Olvera-Ramírez A.M. Metataxonomic and Histopathological Study of Rabbit Epizootic Enteropathy in Mexico. *Animals (Basel)* 2020; 10(6): 936. DOI: 10.3390/ani10060936

Поступила: 23.05.23

Received on: 2023.05.23

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке «Биокодекс Микробиота фонд», Национальный грант 2021, Россия

The study was carried out with partial financial support from the Biocodex Microbiota Foundation, National Grant 2021, Russia

Конфликт интересов:

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

Conflict of interest:

The authors of this article confirmed the lack of conflict of interest, which should be reported.