



## Кишечная микробиота у детей при аутоиммунных и неаутоиммунных заболеваниях печени

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

<sup>1</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, (ул. Островитянова, д. 1а, Москва, 117997, Россия)

<sup>2</sup> Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, (Ломоносовский проспект, 2, стр.1, г. Москва, 119296, Россия)

<sup>3</sup> Медико-генетический центр «СЕРБАЛАН», (Большой пр. В. О., 90, к. 2, Санкт-Петербург, Россия)

<sup>4</sup> Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения города Москвы», (4-й Добрынинский переулок, дом 1/9 Москва, 119049, Россия)

<sup>5</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», (Университетская наб., д. 7–9, Санкт-Петербург, 199034, Россия)

**Для цитирования:** Волынец Г.В., Никитин А.В., Скворцова Т.А., Потапов А.С., Дудурич В.В., Данилов Л.Г., Кокиашвили В.С. Кишечная микробиота у детей при аутоиммунных и неаутоиммунных заболеваниях печени. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2023;215(7): 25–33. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-215-7-25-33

### ✉ Для переписки:

**Волынец**

**Галина Васильевна**

volynec\_g@mail.ru

**Волынец Галина Васильевна**, д.м.н., главный научный сотрудник, руководитель отдела гастроэнтерологии ОСП Научно-исследовательского клинического института педиатрии и детской хирургии им. академика Ю.Е. Вельтищева

**Никитин Артём Вячеславович**, к.м.н., ведущий научный сотрудник отдела гастроэнтерологии ОСП Научно-

исследовательского клинического института педиатрии и детской хирургии им. академика Ю.Е. Вельтищева; ассистент кафедры гастроэнтерологии

**Скворцова Тамара Андреевна**, к.м.н., ведущий научный сотрудник отдела гастроэнтерологии ОСП Научно-

исследовательского клинического института педиатрии и детской хирургии им. академика Ю.Е. Вельтищева; доцент кафедры 2 гастроэнтерологии; заведующая отделением гастроэнтерологии; главный внештатный детский специалист-гастроэнтеролог Департамента здравоохранения города Москвы

**Потапов Александр Сергеевич**, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник, заведующий гастроэнтерологическим отделением с гепатологической группой; профессор кафедры педиатрии и детской ревматологии

**Дудурич Василиса Валерьевна**, руководитель отдела «Микробиом» лаборатории

**Данилов Лаврентий Глебович**, Биоинформатик лаборатории; Младший научный сотрудник кафедры Генетики и Биотехнологии

**Кокиашвили Виолетта Спартаковна**, к.м.н., врач гастроэнтеролог консультативного отделения, руководитель ординаторов орг-метод отдела ОСП Научно-исследовательского клинического института педиатрии и детской хирургии им. академика Ю.Е. Вельтищева

## Резюме

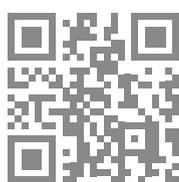
**Актуальность.** Влияние кишечной микробиоты на развитие различных заболеваний вызывает огромный интерес исследователей. Проведённые исследования показали, что у пациентов с хроническими заболеваниями печени доминирующими таксонами кишечной микробиоты были *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium 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.** Исследовать различия в таксономическом разнообразии фекальной микробиоты у пациентов с аутоиммунными и неаутоиммунными заболеваниями печени, а также оценке потенциальных биомаркеров ампликонов гена 16S рРНК при этих заболеваниях путем сравнения таксономического состава.

**Объём и методы исследования.** Проведён метагеномный анализ кишечной микробиоты 24 детей с хроническими заболеваниями печени (средний возраст 10,3±4,7 лет) с выделением региона V3-V4 гена 16S рРНК. В группу вошли 18 детей с аутоиммунными заболеваниями печени и 6 детей с неаутоиммунными заболеваниями печени.

**Результаты исследования.** Проведённое исследование выявило 684 вида микроорганизмов в исследуемых образцах фекалий пациентов. Анализ проведённых исследований показал, что в образцах фекалий детей с аутоиммунными заболеваниями печени доминирующих таксонов не выявлено, а у пациентов с неаутоиммунными заболеваниями

EDN: GTHVZM



печени доминирующим таксонами были *Veillonella dispar*, *Veillonella parvula*, *Cloacibacillus porcorum*, *Prevotella histicola* и *Bacteroides eggerthii*.

**Заключение.** Проведённые исследования показали различия в составе кишечной микробиоты у детей с аутоиммунными и неаутоиммунными заболеваниями печени.

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

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке Биокодекса Микробиота Фонд, Национальный грант 2021, Россия**



<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-215-7-25-33>

## Gut microbiota in autoimmune and non-autoimmune liver diseases in children

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

<sup>1</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, (1, Ostrovitianov str. Moscow, 117997, Russia)

<sup>2</sup> National Medical Research Center for Children's Health, (2, building 1, Lomonosovsky Prospekt, Moscow, 119296, Russia)

<sup>3</sup> Medical Genetic Center "CERBALAB", (90, building 2, Bolshoi Ave. V.O., St. Petersburg, Russia)

<sup>4</sup> Morozov Children's City Clinical Hospital of the Moscow City Healthcare Department, (1/9, 4<sup>th</sup> Dobryninsky Lane, Moscow, 119049, Russia)

<sup>5</sup> St Petersburg University (7–9, Universitetskaya Embankment, St Petersburg, 199034, Russia)

**For citation:** Volynets G. V., Nikitin A. V., Skvortsova T. A., Potapov A. S., Dudurich V. V., Danilov L. G., Kokiashvili V. S. Gut microbiota in autoimmune and non-autoimmune liver diseases in children. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2023;215(7): 25–33. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-215-7-25-33

✉ **Corresponding author:**

**Galina V. Volynets**  
volynec\_g@mail.ru

**Galina V. Volynets**, MD, PhD, Dr. Sci, chief researcher of the Department of Gastroenterology of Research Clinical Institute of Pediatrics and Pediatric Surgery named after Academician Yuri Veltischev; *ORCID: 0000-0002-5413-9599*

**Nikitin Artyom Vyacheslavovich**, Candidate of Medical Sciences, Leading Researcher of the Department of Gastroenterology of the General Hospital of Research Clinical Institute of Pediatrics and Pediatric Surgery named after Academician Yuri Veltischev; Assistant at the Department of Gastroenterology; *ORCID: 0000-0001-8837-9243*

**Skvortsova Tamara Andreevna**, Candidate of Medical Sciences, Leading Researcher of the Department of Gastroenterology of the General Hospital of Research Clinical Institute of Pediatrics and Pediatric Surgery named after Academician Yuri Veltischev; Associate Professor, Department 2 of Gastroenterology; Head of the Department of Gastroenterology; Chief freelance pediatric gastroenterologist of the Moscow Department of Health; *ORCID: 0000-0002-6525-8665*

**Potapov Alexander Sergeevich**, MD, professor, chief researcher, head of the gastroenterology department with the hepatology group; Professor of the Department of Pediatrics and Pediatric Rheumatology; *ORCID: 0000-0003-4905-2373*

**Dudurich Vasilisa Valerievna**, head of the Microbiome department of the laboratory; *ORCID: 0000-0002-6271-5218*

**Danilov Lavrentiy Glebovich**, Bioinformatics Laboratory; Junior Researcher, Department of Genetics and Biotechnology; *ORCID: 0000-0002-4479-3095*

**Kokiashvili Violetta Spartakovna**, candidate of medical sciences, gastroenterologist of the advisory department, head of residents of the organizational method of the department of acute care of Research Clinical Institute of Pediatrics and Pediatric Surgery named after Academician Yuri Veltischev

### Summary

**Relevance.** 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 of the study.** 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.

**Scope and methods of research.** 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 identification of the V3-V4 region of the 16S rRNA gene. The group included 18 children with autoimmune liver diseases and 6 children with non-autoimmune liver diseases.

**Research results.** The conducted study revealed 684 types of microorganisms in the studied samples of patients' faeces. The analysis of the conducted studies showed that no dominant taxa were found in the faecal 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.

**Keywords:** gut microbiota, children, autoimmune liver diseases, autoimmune liver diseases

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

## Актуальность

Изучение 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 превышающие количество клеток нашего организма, должен выполнять дополнительные функции. В состав кишечного микробиома входит множество сообществ микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности. Структура сообщества микробиоты на таксономическом уровне сильно различается у разных людей и популяций [1], хотя метагеномная оценка комплементов микробных генов показывает, что закодированные биохимические функции разнообразного и динамичного сообщества кишечной микробиоты обычно стабильны на исходном уровне [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 питания [3,4]. Кроме того, глубоко и устойчиво изменить общую структуру сообщества и разнообразие микробиоты может использование антибиотиков [5], а также воздействие ксенобиотиков [6]. И члены этого сообщества могут исчезнуть из микробиоты, что приведет к потере их видового (и биохимического) разнообразия [7].

Проведённые исследования показывают тесную взаимосвязь кишечного микробиома с развитием таких заболеваний органов пищеварения, как воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), болезни печени, онкологические заболевания желудочно-кишечного тракта [8]. Предполагается, что этиопатогенез болезни Крона (БК) и язвенного колита (ЯК), которые являются хроническими и рецидивирующими формами ВЗК, является многофакторным процессом, связанным со сложным взаимодействием генетических факторов, факторов окружающей среды, иммунной дисрегуляцией слизистой оболочки [9,10] и инфекционными агентами [11,12].

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 (АИГ) были 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 метаболических 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 паттернов, поступающих в кровоток 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 является местом образования желчи и играет очевидную роль в энтерогепатической циркуляции. Одним из первых описанных физиологических процессов, на которые влияет кишечная микробиота, является внутрипросветный биопроцессинг желчных кислот. Желчные кислоты (например, холевая кислота и хенодезоксихолевая кислота), вырабатываемые в печени,

ферментативно 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, в свою очередь, контролируют и влияют на сообщество кишечной микробиоты за счет внутренней микробной модулирующей активности и через набор специализированных рецепторов, включая рецептор 1 желчных кислот, связанный с G-белком (TGR5), и фарнезоидный X-рецептор обладают мощными сигнальными функциями [23,24]. Нарушение химического и микробного взаимодействия в энтерогепатической циркуляции может привести к образованию генотоксических и/или провоспалительных промежуточных метаболитов.

Таким образом, кишечная микробиота и продукты её 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 [25], печень представляет собой системный «защитный фильтр» благодаря фагоцитарной функции

выстилающих синусоиды клеток Купфера, которые играют роль в устранении комменсальных бактерий, попадающих в портальную циркуляцию [26,27]. Повышенная экспозиция печени комменсальным микробам и их продуктам является особенностью патогенеза многих её заболеваний. Из-за изменений барьерной функции слизистой оболочки кишечника на печень могут воздействовать микробно-ассоциированные молекулярные паттерны, которые также могут приводить к усилению передачи сигналов врожденного иммунитета через распознающие паттерны, приводящие к целому ряду воспалительных реакций [27].

В целом понятно, что заслуженная концепция печени как биореактора распространяется на ее взаимодействие с микробиотой. Однако, не смотря на огромный интерес к исследованиям, в проблеме влияния кишечной микробиоты и её дисбаланса на развитие заболеваний печени, нерешённых вопросов остаётся значительно больше, чем полученных ответов. Это обуславливает необходимость дальнейших исследований в этой области, особенно у детей.

**Цель.** Исследовать различия в таксономическом разнообразии фекальной микробиоты у пациентов с аутоиммунными и неаутоиммунными заболеваниями печени, а также оценить потенциальные биомаркеры ампликонов гена 16S рРНК при этих заболеваниях путем сравнения таксономического состава.

## Объём и методы исследования

Проведён метагеномный анализ кишечной микробиоты 24 детей с хроническими заболеваниями печени (средний возраст 10,3±4,7 лет) с выделением региона V3-V4 гена 16S рРНК. В группу вошли 18 детей с аутоиммунными заболеваниями печени. Группу сравнения составили 6 детей с неаутоиммунными заболеваниями печени. Исследование сплошное – материал собирался одновременно у всех детей с заболеваниями печени, находившихся на обследовании на момент проведения сбора материала.

Протоколы исследования были одобрены независимыми локальными этическими комитетами

и учеными советами ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» и ГБУЗ Морозовская детская городская клиническая больница ДЗМ, в которых проводилось наблюдение пациентов. Представителями пациентов, а также самими пациентами в возрасте старше 14 лет было подписано информированное согласие на обработку персональных данных.

Метагеномное исследование образцов фекалий проводилось в генетической лаборатории Медико-генетического центра CERBALAB (г. Санкт-Петербург).

## Биоинформационный анализ секвенирования 16S рРНК

Данные секвенирования 16S рРНК были 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 обрезались в начале парных считываний, при этом пары считываний, не содержащие праймерных последовательностей, отбрасывались. Далее мы 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 объединялись путем конкатенации, и полученные последовательности использовались для наивной байесовской таксономической классификации [29] с использованием базы данных SILVA v138 в качестве эталона [30]. Определение вида проводилось 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 проводилось с помощью U-теста Манна-Уитни (для парных сравнений). Коррекция множественных тестов проводилась с помощью

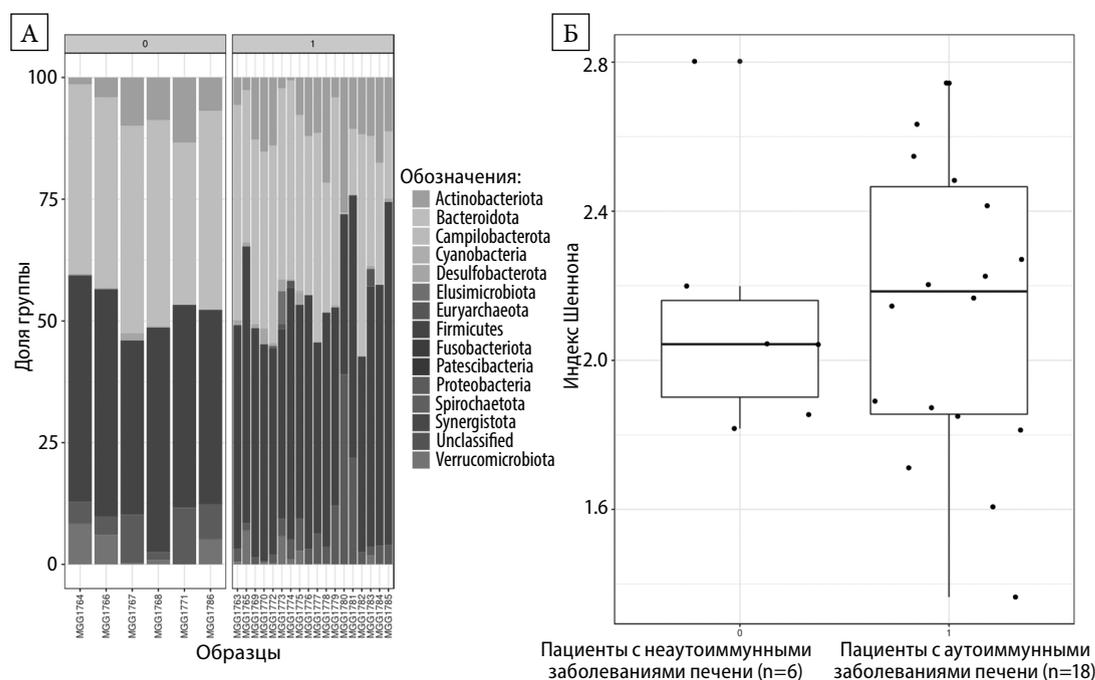
метода Бенджамин-Хохберга в R. Для расчета индекса разнообразия Шеннона матрица, содержащая общее количество ASV на уровне вида на образец, была предоставлена в качестве входных данных

**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.

**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.

в пакет “vegan” на языке программирования R. Для идентификации специальных таксонов для каждой

группы был проведен sPLS-DA анализ с помощью пакета «multiomix» на языке программирования R

## Результаты исследования

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

Анализ проведённых исследований показал, что образцы фекалий детей с аутоиммунными заболеваниями печени и пациентов с неаутоиммунными заболеваниями печени различаются по бактериальному разнообразию (рисунок 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

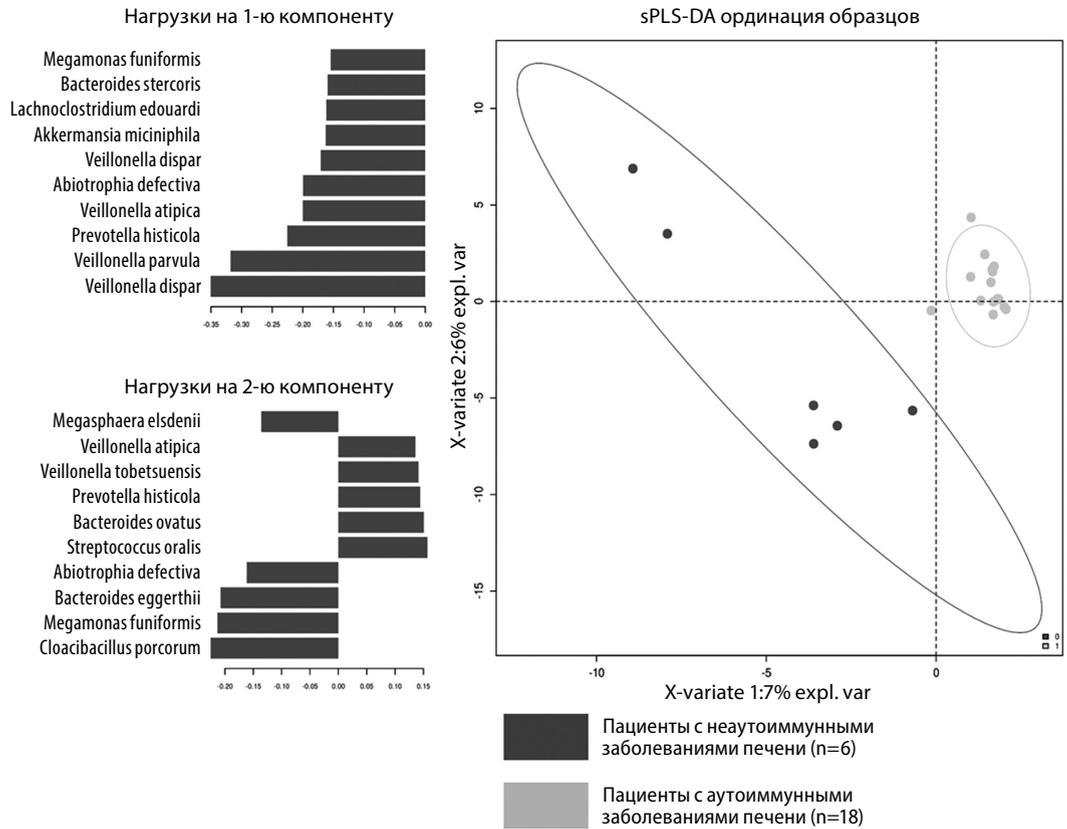
заболеваниями печени доминирующими таксонов не выявлено (рисунок 2). При этом значительно различалось процентное соотношение доминирующих видов кишечной микробиоты у детей с неаутоиммунными и аутоиммунными заболеваниями печени: *Veillonella dispar*, *Veillonella parvula*, *Cloacibacillus porcorum*, *Prevotella histicola* и *Bacteroides eggerthii* в образцах фекалий пациентов с неаутоиммунными заболеваниями печени значительно выше, чем в образцах фекалий детей с аутоиммунными заболеваниями (рисунок 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].

**Рисунок 3.** Процентное соотношение видов бактерий кишечной микрофлоры 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.



Несмотря на значительное разнообразие кишечной микрофлоры у здоровых людей [2], исследования показывают её дисбаланс при ВЗК со значительным снижением количества таких микробов, как *Prevotella copri* или бактерия *Faecalibacterium prauznitzii*, продуцирующими бутират, тогда как у здоровых людей отмечается высокая численность таких бактерий, как *Ruminococcae* [33]. А 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 паттернов, поступающих в результате абсорбции в кишечнике, ещё является и продуцентом желчных кислот, метаболизм которых тесно ассоциирован с деятельностью кишечной микрофлоры.

Известно, что иммунные/аутоиммунные воспалительные заболевания билиарной системы связаны с изменениями микрофлоры. Первичный билиарный холангит (ПБХ) и первичный склерозирующий холангит (ПСХ) являются хроническими прогрессирующими воспалительными заболеваниями с поражением как крупных, так и мелких желчных протоков, которые, в конечном итоге, приводят к циррозу и печеночной недостаточности. Хорошо известная ассоциация ПСХ с ЯК и снижением функции эпителиального барьера кишечника подчеркивает косвенную связь ПСХ с кишечной микрофлорой. Многочисленные таксономические анализы образцов фекалий и слизистых оболочек пациентов выявили дисбаланс кишечной микрофлоры [34] с обычно применимыми оговорками относительно коррелятивного характера этих

исследований. Однако, эти исследования проводились у взрослых. В недавнем исследовании показаны данные, характеризующие особенности кишечной микрофлоры у детей с хроническими заболеваниями печени в сравнении с показателями условно здоровых детей [35].

Механически перенос микрофлоры человека, страдающего ПСХ, стерильным мышам вызывал снижение барьерной функции эпителия кишечника и индукцию печеночных Th17-ответов [36]. Кроме того, в этих моделях были описаны изменения проницаемости кишечника и опосредованное инфламмасомой вида NLRP3 воспаление печени [37]. Инфламмасома NLRP3 представляет собой внутриклеточный белковый комплекс, ответственный за запуск воспалительных процессов, регулируя созревание и секрецию провоспалительных цитокинов IL-1β и IL-18, и является основным медиатором в оси «кишечник-печень». Было показано, что развитие воспаления кишечника происходит из-за активации инфламматомы 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 [38].

Представленные нами данные различий структуры сообщества фекальной микрофлоры у детей с аутоиммунными и неаутоиммунными заболеваниями печени, диагностированные с помощью секвенирования гена 16S рРНК, показывают, что дисбаланс микрофлоры у пациентов с аутоиммунными заболеваниями печени характеризуется 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 кислоту. Обычно *Veillonella dispar* считается непатогенной бактерией, но предполагается возможная роль в воспалении и колоректальном раке [39,40]. Исследования также показывают, что *Veillonella* продуцирует липополисахариды [41]. Сообщалось, что они участвуют в нескольких тяжелых воспалительных состояниях, включая рецидивирующую болезнь Крона [42], остеомиелит [43] и эндокардит [44]. Показано, что при аутоиммунном гепатите у взрослых по мере прогрессирования заболевания от легкого до тяжелого воспаления обилие *V. dispar* значительно увеличивается [45]. Эти результаты дают убедительные доказательства потенциала неинвазивного анализа кала для помощи в диагностике и стратификации людей с аутоиммунным гепатитом. По нашим данным у детей и *Veillonella parvula*, и *Veillonella dispar* значительно преобладали при неаутоиммунных заболеваниях печени.

Доминирующим таксоном при неаутоиммунных заболеваниях печени в нашем исследовании выявлена *Prevotella histicola*, которая является сахаролитиком и производит уксусную кислоту и янтарную кислоту в качестве основных конечных продуктов ферментации, а также незначительное

количество изовалериановой кислоты и молочной кислоты [46]. Она также продуцирует такие витамины, как биотин и фолат, и участвует в переваривании сложных углеводов и производстве ацетата. В моделях на животных показано, что *Prevotella histicola* является одной из терапевтических бактерий, которую используют при лечении таких аутоиммунных заболеваний, как ревматоидный артрит [47], рассеянный склероз [48], аутоиммунная энцефалопатия [49].

Доминирующим таксоном при неаутоиммунных заболеваниях печени у детей также были *Bacteroides eggerthii*, которые являются условно-патогенными микроорганизмами, но могут вызывать гнойно-воспалительные заболевания различной локализации. Установлено, что этот микроорганизм продуцирует гепариназу I, которая может быть субстратом для получения гепарина [50]. *Bacteroidetes* выделяют ферменты, эффективно разрушающие сложные углеводы [51,52].

Кроме того, доминировали *Cloacibacillus porcorum*, относящийся к роду *Clostridium*, которые продуцируют ацетат, пропионат, формиат и бутират и участвуют в синтезе нуклеотидов для ДНК и РНК; однако этот микроорганизм известен, как потенциальный патоген для человека [53], в модели на животных способный разрушать муциновый слой в кишечнике и вызвать энтеропатию [54].

## 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 низким 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 связи, 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, наши данные сообщают

о исследовании микробиоты кишечника детей с заболеваниями печени и 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 уже использовались для диагностики инфекций у детей, выявления генов резистентности в клинических образцах и характеристики вспышек заболеваний. При этом на сегодняшний день стоимость и время 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 ещё предстоит провести много исследований. В ближайшем будущем педиатры будут все чаще использовать метагеномные методы при обследовании и выборе лечения детей.

## 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 JH., Chinwalla AT. et al. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012; 486(7402): 207–14. doi: 10.1038/nature11234.
3. David L.A., Maurice C.F., Carmody R.N. et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature.* 2014; 505(7484): 559–63. 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): 212–5. doi: 10.1038/nature16504.

5. Modi S.R., Collins J.J., Relman D.A. Antibiotics and the gut microbiota. *Clin Invest.* 2014; 124(10): 4212–8. doi: 10.1172/JCI72333.
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): 3255–64. doi: 10.3748/wjg.v20.i12.3255.
10. Carrière J., Darfeuille-Michaud A., Nguyen HT. Infectious etiopathogenesis of Crohn's disease. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(34): 12102–17. doi: 10.3748/wjg.v20.i34.12102.
11. Abraham C., Cho J.H. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med.* 2009; 361(21): 2066–78. 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., Grander 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. Kummén M., Holm K., Anmarkrud J.A., Nygård S., Vesterhus M., Høivik 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): 1681–9. 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., Lombaro 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): 1536–50. 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): 1505–21. 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): 1085–99. 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): 225–35. 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): 830–4. 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): 165–74. 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-naive microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host Microbe.* 2014; 15(3): 382–392. doi: 10.1016/j.chom.2014.02.005
34. Kummén 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. Volynets G.V., Nikitin A.V., Skvortsova T.A., Potapov A.S., Dudurich V.V., Danilov L.G. Gut microbiota in chronic liver disease in children. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics.* 2023; 68(2): 69–73. (in Russ.) doi: 10.21508/1027-4065-2023-68-2-69-73. Вольнец Г.В., Никитин А.В., Скворцова Т.А., Потапов А.С., Дудурич В.В., Данилов Л.Г. Кишечная микробиота при хронических заболеваниях печени у детей. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2023; 68(2): 69–73. doi: 10.21508/1027-4065-2023-68-2-69-73.
36. 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 re-

- sponse in primary sclerosing cholangitis. *Nat Microbiol.* 2019; 4(3): 492–503. doi: 10.1038/s41564-018-0333-1.
37. Liao L., Schneider K. M., Galvez E. J. C., Frissen M., Marschall 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.
  38. 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.
  39. Deng X., Li Z., Li G., Li B., Jin X., Lyu G. Comparison of Microbiota in Patients Treated by Surgery or Chemotherapy by 16SrRNA Sequencing Reveals Potential Biomarkers for Colorectal Cancer Therapy. *Front Microbiol.* 2018; 9: 1607. doi: 10.3389/fmicb.2018.01607.
  40. 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.
  41. 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): 1804–9. doi: 10.1128/CVI.00310-09.
  42. De Cruz P., Kang S., Wagner J., Buckley M., Sim WH., Prideaux 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): 268–78. doi: 10.1111/jgh.12694.
  43. Bongaerts G.P., Schreurs B. W., Lunel F. V., Lemmens J. A., Pruszczyński M., Merks M. A. Was isolation of *Veillonella* from spinal osteomyelitis possible due to poor tissue perfusion? *Med Hypotheses.* 2004; 63(4): 659–61. doi: 10.1016/j.mehy.2004.02.052.
  44. Rovey C., Etienne A., Foucault C., Berger P., Brouqui P. *Veillonella montpellierensis* endocarditis. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11(7): 1112–4. doi: 10.3201/eid1107.041361.
  45. 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.
  46. 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): 1788–91. doi: 10.1099/ijss.0.65656-0.
  47. 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.
  48. 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.
  49. 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.
  50. 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.
  51. Kmezik C., Krska 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.
  52. Petersen A. B., Christensen I. A., Rønne M. E., Stender E. G. P., Teze D., Svensson B. et al. <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>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.
  53. 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.
  54. 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.