

© 2024 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 02.04.2024
Принята к печати 08.05.2024



EDN: BWUHEN

DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-2-98-106

Опыт использования технологии трансплантации фекальной микробиоты для лечения кишечного синдрома различной этиологии после аллогенной трансплантации гемопозитических стволовых клеток у детей

Г.З. Серегин¹, Ю.А. Беспятых², А.В. Господарик², М.Ю. Кириллов³, Л.В. Огнева³, С.В. Жилина¹,
Е.А. Бурцев¹, А.Е. Буря¹, И.О. Власова¹, М.Р. Журавель¹, Е.А. Журавель¹, В.В. Константинова¹,
Б.М. Курманов¹, А.В. Лифшиц¹, М.В. Натрусова¹, А.Е. Донников⁴, М.А. Масчан^{1,5}, Г.О. Бронин¹

¹ГБУЗ г. Москвы «Морозовская детская городская клиническая больница Департамента
здравоохранения г. Москвы», Москва

²ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины
им. акад. Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства», Москва

³ООО «ДНК-Технология ТС», Москва

⁴ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии
и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва

⁵ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии,
онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Контактная информация:

Серегин Георгий Зурабович,
врач-детский онколог отделения
трансплантации костного мозга
и гемопозитических стволовых клеток
ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ»
Адрес: 119049, Москва,
4-й Добрынинский переулок, 1/9
E-mail: jorggg@mail.ru

Трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) – многообещающий метод терапии различных заболеваний с вовлечением желудочно-кишечного тракта. Целью нашего исследования явилось изучение результатов применения метода ТФМ в лечении различных желудочно-кишечных осложнений (стероид-резистентной и стероид-зависимой реакции «трансплантат против хозяина» (СР/СЗ РТПХ) и инфекционного энтероколита) у детей от 1,5 до 18 лет после аллогенной трансплантации гемопозитических стволовых клеток. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Морозовской детской городской клинической больницы ДЗМ (№176 от 24.05.2022). Родители всех пациентов подписали информированное согласие на участие в исследовании и публикацию его результатов. В группу пациентов со СР/СЗ РТПХ были включены 14 детей, а в группу больных с резистентными кишечными инфекциями – 11. В общей сложности было проведено 38 процедур ТФМ, при этом 11 пациентам выполнялись повторные процедуры в связи с отсутствием достижения эффекта после первой ТФМ. Клинический эффект в виде купирования кишечного синдрома с последующей отменой глюкокортикостероидов был зафиксирован у 11 из 14 пациентов со СР/СЗ РТПХ, купирование кишечного синдрома достигнуто у 10 из 11 пациентов с кишечными инфекциями. Клинический эффект коррелировал с изменением структуры микробиома: для двух групп пациентов медиана доли нормальной микробиоты до ТФМ составила 6%, после ТФМ – 92% ($p = 0,043$). Медиана таксономического разнообразия для двух групп пациентов до ТФМ составила 3 таксона, после ТФМ – 10 таксонов ($p = 0,0016$).

Ключевые слова: трансплантация фекальной микробиоты, желудочно-кишечные осложнения, реакция «трансплантат против хозяина», аллогенная трансплантация гемопозитических стволовых клеток

Серегин Г.З. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии 2024; 23 (2): 98–106.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-2-98-106

Fecal microbiota transplantation for the treatment of intestinal diseases after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children

G.Z. Seregin¹, Yu.A. Bespyatykh², A.V. Gospodarik², M.Yu. Kirillov³, L.V. Ogneva³, S.V. Zhilina¹, E.A. Burtsev¹,
A.E. Burya¹, I.O. Vlasova¹, M.R. Zhuravel¹, E.A. Zhuravel¹, V.V. Konstantinova¹, B.M. Kurmanov¹, A.V. Lifshits¹,
M.V. Natrusova¹, A.E. Donnikov⁴, M.A. Maschan^{1,5}, G.O. Bronin¹

¹Morozov Children's Clinical Hospital of the Department of Health of Moscow, Moscow

²Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow

³LLC DNA-Technology TS, Moscow

⁴National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov of Ministry of Health of Russian Federation

⁵Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

© 2024 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 02.04.2024

Accepted 08.05.2024

Fecal microbiota transplantation (FMT) is a promising therapy for a variety of diseases involving the gastrointestinal (GI) tract. The purpose of our study is to evaluate the effectiveness of FMT for the treatment of different GI complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (steroid-refractory and steroid-dependent graft versus host disease (SR/SD GVHD) and infectious enterocolitis) in children from 1.5 to 18 years old. The study was approved by the Local Ethics Committee of the Morozov Children's Clinical Hospital of the Department of Health of Moscow (No. 176 dated 24.05.2022). The patients' parents gave their informed consent to the participation of their children in the study and the publication of the study results. SR/SD GVHD group included 14 patients and GI infections group – 11 patients. In total, 38 FMTs were performed. Eleven children underwent repeated FMTs due to the lack of effect after the first FMT. The resolution of diarrhea followed by the withdrawal of corticosteroids was recorded in 11 out of 14 patients with SR/SD GVHD. Ten out of 11 patients with GI infections also achieved relief of diarrhea. The clinical effect correlated with changes in the microbiome structure: for both groups of patients, the median proportion of normal microbiota before FMT was 6%, after FMT – 92% ($p = 0.043$). The median number of different taxa for both groups of patients before and after FMT were 3 and 10 taxa, respectively ($p = 0.0016$).

Key words: fecal microbiota transplantation, gastrointestinal complications, graft-versus-host disease, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

Seregin G.Z., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology 2024; 23 (2): 98–106.
DOI: 10.24287/1726-1708-2024-23-2-98-106

Correspondence:

Georgy Z. Seregin,
a pediatric oncologist at the Department
of Bone Marrow and Hematopoietic Stem Cell
Transplantation of the Morozov
Children's City Hospital
Address: 1/9 4th Dobryninsky lane,
Moscow 119049, Russia
E-mail: jorggg@mail.ru

Трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) представляет собой процесс переноса микробиологического сообщества от здорового донора в кишечный тракт реципиента в целях профилактики и терапии ряда заболеваний. На основании большого количества рандомизированных исследований доказана высокая эффективность применения метода при рефрактерных и рецидивирующих формах кишечных инфекций, вызванных *Clostridium difficile* [1–3]. С 2013 г. процедура ТФМ официально одобрена Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов США (Food & Drug Administration, FDA) для терапии *Clostridium difficile*-ассоциированного энтероколита [4].

При проведении аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) в настоящее время сохраняется актуальной проблема лечения тяжелых инфекционных осложнений, вызванных полирезистентными госпитальными микроорганизмами, у полиморбидных больных, получающих многокомпонентную иммуносупрессивную терапию. Большинство случаев трансплантационно-ассоциированной летальности особенно в раннем посттрансплантационном периоде обусловлено инфекционными заболеваниями, в том числе бактериальной этиологии [5–8]. Недавно несколько исследований доказали, что применение ТФМ у реципиентов алло-ТГСК безопасно и эффективно для лечения инфекционных процессов, вызванных мультирезистентными бактериями [9, 10]. В большинстве случаев у реципиентов микробиоты удается достичь эффективного изменения состава кишечного микробного «пейзажа» с преобладанием чувствительных к антибиотикам штаммов, что потенциально позволяет избежать тяжелых септических осложнений, ассоциированных с преобладанием полирезистентных бактерий у иммунологически компрометированных пациентов [9–11].

В последнее время публикуется все большее количество результатов исследований, подтверждающих эффективное применение ТФМ у реципиентов алло-ТГСК с тяжелой желудочно-кишечной формой

реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), являющейся наряду с инфекционными осложнениями также одной из основных причин посттрансплантационной летальности [12, 13]. Острая РТПХ характеризуется агрессивным воздействием донорских аллореактивных Т-лимфоцитов на органы и ткани реципиента, главным образом кожу, печень и желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) [14]. Общепринятой первой линией терапии данного осложнения остается применение глюкокортикостероидов (ГКС), однако их назначение позволяет достичь излечения менее чем половины пациентов [15]. За последние годы в мировой клинической практике разработано и введено множество лекарственных агентов, направленных на терапию данного осложнения, однако до сих пор отсутствует консенсус о наиболее оптимальной терапии второй линии [15, 16].

Среди многочисленных определяющих факторов, участвующих в развитии РТПХ, одним из ключевых является микробиом человека [17]. Появление крупномасштабных исследований, в том числе геномного секвенирования, работ в области транскриптомики, протеомики, метаболомики многократно углубило понимание взаимосвязи между кишечной микробиотой и иммунитетом [18]. Микробиота считается полноценной частью иммунной системы человека благодаря выработке множества регуляторных молекул, обеспечивая «тонкую» регуляцию иммунного ответа [17, 18].

Алло-ТГСК и сопутствующие ей процедуры (в том числе химиотерапия кондиционирования, применение противомикробных препаратов, вынужденные ограничения в диете и др.) представляют собой совокупность крайне неблагоприятных факторов, воздействующих на кишечный микробиом и снижающих его разнообразие [19]. Сниженное разнообразие микробиома к моменту приживления трансплантата и восстановления уровня нейтрофилов достоверно ассоциировано с уменьшением общей выживаемости и увеличением летальности [20]. Более того, определенные характеристики микробного «пейзажа» ассоциированы с клиническими результатами алло-ТГСК. Сниженное количество бактерий, отно-

сящихся к порядку *Clostridiales* (например, рода *Blautia*), и сдвиг в сторону грамотрицательных энтеробактерий (*Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* spp.) и грамположительных бактерий (*Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* spp.) коррелирует с повышенной вероятностью развития РТПХ [21]. Современные представления о патогенезе острой РТПХ приближают понимание благоприятных терапевтических эффектов, привносимых процедурой ТФМ [22] (рисунок 1).

В связи с этим объясним растущий интерес к ТФМ при алло-ТГСК как к потенциальной превентивной и терапевтической процедуре главным образом в отношении РТПХ и инфекций [23]. На сегодняшний день разработано и доступно к применению множество протоколов ТФМ, различающихся в выборе и скрининге доноров, подготовке реципиентов и пути доставки (инфузии) донорской микробиоты [24]. Высказывались опасения по поводу безопасности использования ТФМ у иммунологически скомпрометированных пациентов с нарушенной проницаемостью кишечника [25]. Z. DeFilipp и соавт. описали 1 случай бактериемии, вызванной полирезистентной *Escherichia coli*, переданной через фекальный трансплантат и приведшей к смерти пациента [26].

На сегодняшний день завершено несколько исследований, направленных на применение ТФМ в качестве терапевтической стратегии для стероид-рефрактерной и стероид-зависимой форм желудочно-кишечной РТПХ (СР/СЗ РТПХ). СР/СЗ РТПХ

определяется как прогрессия симптомов желудочно-кишечной РТПХ в течение 5 дней терапии ГКС или отсутствие положительной динамики симптомов РТПХ в течение 7–14 дней от начала терапии ГКС, или отрицательная динамика после деэскалации дозы ГКС [27]. По результатам этих исследований и описанных клинических случаев полного и частичного ответа в виде купирования признаков СР/СЗ РТПХ достигли до 74% пациентов после проведения процедуры ТФМ [28].

ТФМ является одним из возможных путей преодоления рефрактерности к системным ГКС в лечении острой кишечной РТПХ, потенциально дополняя другие методы терапии: низкомолекулярные таргетные препараты и моноклональные антитела (руксолитиниб, ибрутиниб, ведолизумаб, этанерцепт и др.), экстракорпоральный фотоферез, применение мезенхимальных стволовых клеток [29].

Целью нашего исследования явилось изучение результатов лечения различных желудочно-кишечных осложнений (СР/СЗ РТПХ и инфекционного энтероколита) методом ТФМ у детей от 1,5 до 18 лет после алло-ТГСК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами был разработан клинический протокол по применению ТФМ у реципиентов алло-ТГСК в целях терапии СР/СЗ РТПХ, а также для лечения инфекционных процессов, вовлекающих ЖКТ и рефрак-

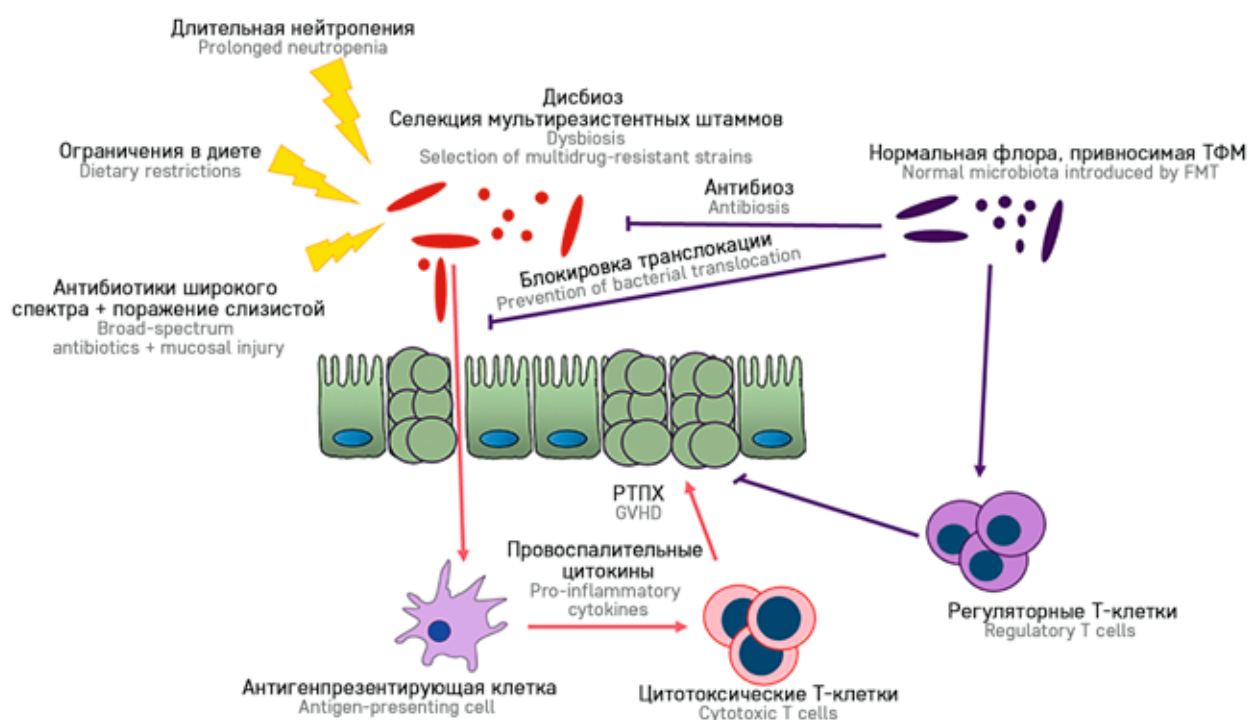
Рисунок 1

Влияние трансплантации микробиома здорового донора на патогенез РТПХ

Figure 1

The influence of microbiome transplantation from a healthy donor on the pathogenesis of graft-versus-host disease (GVHD)

FMT – fecal microbiota transplantation



терных к конвенциональным методам лечения. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Морозовской детской городской клинической больницы ДЗМ (№176 от 24.05.2022). Родители всех пациентов подписали информированное согласие на участие в исследовании и публикацию его результатов.

Отбор доноров биоматериала для трансплантации проводился тщательным образом в соответствии с разработанными критериями и перечнем исследований [30]. Селектированный биоматериал изготавливался в виде жидкой фракции, вводимой реципиенту через назогастральный зонд или *per rectum* в установленной дозе (2,2 мл/кг) или в форме капсул (средняя доза на реципиента составляет приблизительно 0,41 г/кг), согласно запатентованной методике [31].

Предварительная подготовка реципиентов включала полную отмену антибактериальной терапии за 48 ч до ТФМ, адекватную антиэметическую и гастропротекторную терапию и назначение низких доз системных ГКС для профилактики иммунологических реакций. В целях трофики донорской микробиоты применялись метабиотики – инулин, а в случае получения пациентом зондового питания – смеси с высоким содержанием глутамина. Необходимым условием проведения ТФМ являлся уровень гранулоцитов в общем анализе крови не менее 500 клеток в 1 мкл.

Оценка структуры микробиома в образцах стула реципиента до и после ТФМ проводилась 2 методами: методом посевов на селективные питательные среды (в ходе проведения исследования оказался крайне низкокчувствительным и малоинформативным) и методом полимеразной цепной реакции (ПЦР): применялась панель «Энтерофлор-дети» (производство ООО «ДНК-технология ТС», Россия), основанная на данных полногеномного секвенирования микробиома широкой выборки детей и позволяющая относительно быстро оценить состав микробиома реципиентов ТФМ [32]. Оценивались доля нормальной микробиоты (соотношение комменсальных, условно-патогенных и патогенных бактерий), выраженная в процентах, и таксономическое разнообразие микробиома, выраженное в количестве таксонов.

Все пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от показаний к ТФМ:

1. Группа 1 («СР/СЗ РТПХ») включала реципиентов трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) с течением острой РТПХ с вовлечением ЖКТ, соответствующих следующим критериям:

- отсутствие клинического эффекта в течение 7 дней от начала терапии ГКС в стандартной дозе (метилпреднизолон в дозе 2 мг/кг/сут);

- отсутствие стабилизации заболевания (отрицательная динамика) в течение 5 дней от начала терапии ГКС в стандартной дозе;

- отрицательная динамика РТПХ при попытках деэскалации дозы ГКС.

2. Группа 2 («Кишечные инфекции») включала пациентов после алло-ТГСК с кишечными инфекциями, вызванными полирезистентными штаммами бактерий, вирусами и грибами.

Всем пациентам со времени начала кондиционирования проводился еженедельный скрининг образцов стула, оценивались результаты посевов образцов на селективные питательные среды, качественным ПЦР-методом определялось наличие вирусов (*Astrovirus*, *Norovirus*, *Rotavirus*, *Adenovirus*), а поиск клостридиальных токсинов А и В проводили методом иммуноферментного анализа. Принятие решения о проведении ТФМ базировалось на признании рефрактерности к терапии ГКС в стандартной дозе в соответствии с вышеуказанными критериями для пациентов группы «СР/СЗ РТПХ», а также в случае резистентности инфекционного процесса к конвенциональным методам противомикробной терапии у пациентов группы «Кишечные инфекции». На данном этапе собирался образец стула на исследование микробиома ПЦР-методом. После проведения процедуры ТФМ осуществлялся контрольный мониторинг состава микробиома.

Дизайн исследования для группы «Кишечные инфекции» существенно не отличался от такового в группе «СР/СЗ РТПХ», однако решение о проведении ТФМ регламентировалось отсутствием эффективности конвенциональных методов противомикробной терапии.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

За все время исследования с июля 2022 г. по январь 2024 г. было проведено 38 процедур ТФМ 23 пациентам (таблица 1). Два пациента из 23 были включены в 2 разные клинические группы в разное время (получали процедуры ТФМ как в связи со СР/СЗ РТПХ, так и с клостридиальной инфекцией).

В 5 случаях методом доставки биоматериала являлось введение жидкой фракции через назогастральный, а в 1 – через назоюнальный зонды, в 11 – путем приема пероральных капсул, в 21 – путем введения жидкой фракции *per rectum*. Последние 2 метода избирались чаще в связи с потенциально лучшей переносимостью, меньшим риском ассоциированных осложнений.

Группа «СР/СЗ РТПХ» была представлена 14 пациентами в возрасте от 1,5 до 18 лет с острым миелоидным лейкозом ($n = 5$), острым лимфобластным лейкозом ($n = 6$), дефицитом пируваткиназы ($n = 1$), первичным иммунодефицитом ($n = 1$),

анемией Фанкони ($n = 1$). В 13 случаях была проведена алло-ТГСК с периферическими стволовыми клетками (ПСК) в качестве источника трансплантата: 12 больным от гаплоидентичного родственного донора, 1 – от полностью совместимого сиблинга. Одному пациенту была проведена гаплоидентичная ТГСК (гапло-ТГСК) с костным мозгом в качестве источника трансплантата. Режимы базовой профилактики РТПХ, а также распределение пациентов по типам трансплантации представлены в таблице 2.

Лечение РТПХ помимо применения системных ГКС включало такролимус ($n = 8$), ведолизумаб ($n = 9$), будесонид ($n = 13$), адалимумаб ($n = 3$), мезенхимальные стволовые клетки ($n = 4$), экстракорпоральный фотоферез ($n = 2$). Для купирования синдрома цитокиновых реакций для 1 пациента был использован тоцилизумаб. В процессе проведения ТФМ пациенты продолжали получать комбинированную иммуносупрессивную терапию: в среднем предпринималась попытка терапии РТПХ 4 препаратами, включая ингибитор кальциневрина, руксолитиниб, ведолизумаб, будесонид. Стоит отметить, что ТФМ применялась исключительно при неэффективности других методов лечения, направленных на преодоление рефрактерности РТПХ к ГКС или зависимости течения РТПХ от ГКС. Четверем пациентам проводились повторные процедуры ТФМ в связи с отсутствием клинического эффекта после первой процедуры.

Клинический эффект в виде нивелирования диареи, абдоминального болевого синдрома, гипоальбуминемии, потери электролитов был достигнут у 11 из 14 пациентов. Сроки достижения эффекта варьировали от 5 до 21 дня (медиана – 8 дней). Клинического ответа не удалось достичь у 3 детей. У пациентки с кишечной и печеночной формами РТПХ IV степени был достигнут транзитный эффект, однако через неделю отмечались реактивация геморрагического колита и прогрессия печеночной недостаточности, которая привела к летальному исходу, при этом осложнений, непосредственно ассоциированных с ТФМ, зафиксировано не было. У пациента с СР/СЗ РТПХ с поражением кишечника IV степени эффекта от ТФМ также достигнуто не было, в течение недели развился септический процесс, который потребовал возобновления антибактериальной терапии. После возвращения в терапию системных антибиотиков и купирования инфекционного процесса от повторных процедур ТФМ было решено воздержаться. В третьем случае неэффективной ТФМ проявления СР/СЗ РТПХ были купированы на фоне системной иммуносупрессии и экстракорпорального фотофереза.

Достижение лабораторного эффекта в виде качественного изменения структуры микробиома

Таблица 1
Распределение пациентов по группам и количество ТФМ

Tables 1
The distribution of patients by groups and the number of FMTs

Группа пациентов Patient group	Показание к ТФМ Indication for FMT	Число пациентов The number of patients	Количество ТФМ The number of FMTs
1	СР/СЗ РТПХ SR/SD GVHD	14	20
2	Кишечные инфекции: Intestinal infections:	6	8
	<i>Clostridium difficile</i>	1	2
	<i>Clostridium difficile</i> + <i>Norovirus</i>	1	2
	<i>Clostridium difficile</i> + <i>Norovirus</i> + <i>Salmonella</i>	1	2
	<i>Clostridium difficile</i> + <i>Astrovirus</i> <i>Norovirus</i>	2	4

Note. SR/SD GVHD – steroid-refractory/steroid-dependent graft-versus-host disease.

Таблица 2
Характеристика проведенных трансплантаций в группе «СР/СЗ РТПХ»

Tables 2
Characteristics of transplantations performed in the “SR/SD GVHD” group

Тип трансплантации Type of transplantation	Профилактика РТПХ GVHD prophylaxis	Число пациентов The number of patients
Гапло-ТГСК, источник трансплантата – ПСК Haplo-HSCT, graft source – PBSCs	ПТЦФ, такролимус, ММФ PTCy, tacrolimus, MMF	10
	ПТЦФ, циклоспорин, ММФ PTCy, cyclosporine, MMF	1
	ПТЦФ, руксолитиниб, ММФ PTCy, ruxolitinib, MMF	1
Гапло-ТГСК, источник трансплантата – костный мозг Haplo-HSCT, graft source – bone marrow	ПТЦФ, циклоспорин, ММФ, абатацепт PTCy, cyclosporine, MMF, abatacept	1
Трансплантация от совместимого сиблинга, источник трансплантата – ПСК Transplantation from a matched sibling, graft source – PBSCs	ПТЦФ, циклоспорин, ММФ PTCy, cyclosporine, MMF	1

Примечание. ПТЦФ – посттрансплантационный циклофосфамид; ММФ – микофенолат мофетил.

Note. Haplo-HSCT – haploidentical hematopoietic stem cell transplantation; PTCy – post-transplant cyclophosphamide; MMF – mycophenolate mofetil, PBSCs – peripheral blood stem cells.

было подтверждено у 10 пациентов ПЦР-методом, в 4 случаях изменения состава микробиома подтвердить не удалось (в 2 – ПЦР-методом, в 2 – путем посева кала). По данным ПЦР-метода доля нормальной микробиоты до ТФМ составила от 0 до 100% (медиана 6,1%), а после ТФМ – от 0 до 99,4% (медиана 86,5%). Таксономическое разнообразие состава микробиома до ТФМ составило от 0 до 14 таксонов (медиана 3 таксона), а после ТФМ – от 2 до 15 таксонов (медиана 10 таксонов).

В группу «Кишечные инфекции» вошли 11 пациентов в возрасте от 3 до 14 лет, из них с острым миелоидным лейкозом было 3, с острым лимфобластным лейкозом – 3, с бета-талассемией – 2,

с остеопетрозом – 1, с синдромом Ниймеген – 1, с апластической анемией – 1. Гапло-ТГСК проводилась 9 пациентам, алло-ТГСК от 10/10 совместимого неродственного донора – 2 пациентам. Источником трансплантата у всех пациентов явились ПСК. У всех пациентов этой группы были верифицированы различные кишечные инфекции в посттрансплантационном периоде (таблица 1).

Общее количество ТФМ в группе 2 составило 18 процедур, при этом 7 пациентам проводилась повторная ТФМ. Клинический эффект в виде купирования кишечного синдрома был достигнут у 10 из 11 пациентов, сроки достижения клинического эффекта варьировали от 3 до 20 дней (медиана 7 дней). Достижение лабораторного эффекта зарегистрировано у 5 пациентов (у 4 – ПЦР-методом, у 1 – методом посева кала), отсутствие лабораторного эффекта – у 6 (у 5 – методом посева кала, у 1 – ПЦР-методом). Доля нормальной микробиоты до ТФМ варьировала от 0 до 98,9% (медиана 5,5%), после ТФМ – от 0,8 до 99,8% (медиана 97,1%). Таксономическое разнообразие до ТФМ составило от 1 до 9 таксонов (медиана 3 таксона), а после ТФМ – от 4 до 15 таксонов (медиана 14 таксонов). У 1 пациента спустя 1 мес после достижения лабораторного эффекта в виде исчезновения токсинов *Clostridium difficile* в образцах стула возобновилась диарея, предположительно в связи с РТПХ, пациент впоследствии умер от прогрессии острого лимфобластного лейкоза.

У 5 из 6 пациентов с колитом, вызванным *Clostridium difficile*, эрадикация возбудителя была достигнута после первой ТФМ. Это было подтверждено повторными отрицательными результатами при исследовании токсинов А и В методом иммуноферментного анализа. У 1 из 6 пациентов полная эрадикация достигнута после повторной ТФМ, что удалось подтвердить ПЦР-методом – отмечалось исчезновение генов токсинов А и В из контрольных образцов стула. У 1 пациента с комбинированной инфекцией (*Clostridium difficile* + *Norovirus*) полная эрадикация

Clostridium difficile достигнута после повторной ТФМ. У пациентки с микст-инфекцией (*Clostridium difficile* + *Norovirus* + *Salmonella*) – после первой ТФМ. У второй пациентки с микст-инфекцией (*Clostridium difficile* + *Astrovirus*) исчезновение токсинов клостридий зарегистрировано после первой ТФМ, однако эрадикацию астровируса мы зарегистрировали после повторной ТФМ [33].

У пациентов с инфекцией, вызванной норовирусом, достичь эрадикации возбудителя не удалось, однако был достигнут клинический эффект вплоть до полного купирования кишечного синдрома на фоне доказанного улучшения таксономического разнообразия микробиома (таблица 3).

Проведение процедур ТФМ сопровождалось возникновением главным образом нетяжелых и нежизнеугрожающих нежелательных явлений, купируемых своевременным назначением симптоматического лечения (таблица 4).

Исключением являются 2 пациента, один из них реализовал аспирационную пневмонию и клиническую картину синдрома выброса цитокинов в день ТФМ, что потребовало назначения антицитокиновой и противомикробной терапии, однако это не повлияло на достижение клинического эффекта ТФМ – купирование кишечного синдрома и эрадикация токсинов *Clostridium difficile* были достигнуты на 8-е сутки. Методом доставки биоматериала в данном случае являлось введение через назогастральный зонд, а причина аспирации связывалась с техническими сложностями его фиксации. У второго пациента развилась клиническая картина тяжелого инфекционного энтероколита, проявлявшаяся усугублением болевого синдрома, рвотой, присоединением динамического пареза кишечника, что потребовало возобновления комплексной антибактериальной терапии. Некоторым реципиентам в ходе ТФМ применялся биоматериал от тех же доноров, что и в вышеупомянутых случаях, однако тяжелых нежелательных явлений больше не прослеживалось.

Таблица 3
Эрадикация патогенов после ТФМ и сроки ее достижения

Tables 3
Eradication of pathogens after FMT, time to eradication

Возбудитель инфекционного колита Infectious colitis pathogen	Количество процедур ТФМ The number of FMT procedures	Достижение эрадикации Achievement of eradication	Сроки достижения эрадикации после ТФМ, дни Time to eradication of pathogens after FMT, days
<i>Clostridium difficile</i>	12	В 10 случаях после первой ТФМ, в 2 – после повторной In 10 cases, eradication was achieved after the first FMT, in 2 cases – after the second FMT	7–14
<i>Norovirus</i>	8	Не достигнута ни в одном случае. Клинический эффект достигнут во всех случаях Eradication was not achieved. Clinical effect was achieved in all cases	–
<i>Astrovirus</i>	2 (у 1 пациента) 2 (in 1 patient)	После повторной ТФМ Eradication was achieved after the second FMT	14
<i>Salmonella</i>	2 (у 1 пациента) 2 (in 1 patient)	Не достигнута. Клинический эффект достигнут Eradication was not achieved. Clinical effect was achieved	–

Таблица 4
Осложнения после ТФМ

Tables 4
Complications after FMT

Осложнение Complications	Степень* Grade*	Количество ТФМ The number of FMTs
Метеоризм Bloating and intestinal gas	I	20
Тошнота Nausea	I	2
Абдоминальные боли Abdominal pain	I	7
Аспирационная пневмония (метод введения – назогастральный зонд) Aspiration pneumonia (due to FMT delivered by nasogastric tube)	III	1
Синдром выброса цитокинов Cytokine release syndrome	I	
Энтероколит Enterocolitis	III	1
Сепсис Sepsis	III	
Отсутствие нежелательных явлений No adverse events	–	14

Примечание. * – в соответствии с CTCAE 5.0 (Common Terminology Criteria for Adverse events, общепринятая шкала токсичности 5-го пересмотра).
Note. * – according to the CTCAE 5.0 (Common Terminology Criteria for Adverse Events, a common toxicity scale, 5th revision).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе проведения нашего исследования метод ТФМ продемонстрировал эффективность в лечении как СР/СЗ РТПХ, так и кишечных инфекций у большинства реципиентов алло-ТГСК. В большинстве случаев у пациентов с СР/СЗ РТПХ удалось добиться купирования кишечного синдрома с последующей деэскалацией иммуносупрессии и отменой ГКС, что характеризует ТФМ как эффективный способ лечения СР/СЗ РТПХ. В 3 особенно тяжелых случаях РТПХ стойкого терапевтического эффекта достичь не удалось, что, вероятно, связано со степенью тяжести поражения кишечника и интенсивностью гемоколита. Метод ТФМ оказался малоэффективен у пациентов с тяжелым гемоколитом, так как массивное воспалительно-некротическое поражение кишечной стенки, вероятно, может способствовать дислокации микроорганизмов из кишечника и явиться причиной системного инфицирования и септического процесса.

Рассматривая группу пациентов с кишечными инфекциями, в нашем исследовании полностью подтверждаются мировые данные по успешной эрадикации токсинов *Clostridium difficile* и купированию ассоциированного колита [9, 34–37]. Примечательным наблюдением в нашем исследовании является факт купирования энтероколита у пациентов при сохраняющейся персистенции норовируса. Напрашивается вывод об отсутствии ключевой роли данного вируса в патогенезе энтероколита, возможно, патоген выступает в роли «немного свидетеля» патологического процесса или его вклад в развитие диарейного синдрома реализуется опосредованно через дополнительные механизмы, корригируемые донорской микробиотой.

В во всех случаях достижение клинического эффекта подтверждалось изменением структуры микробиома кишечника. На рисунках 2, 3 представлены данные об изменении структуры микробиома (доли нормальной микробиоты относительно общего количества микроорганизмов, в том числе условно-патогенных и патогенных, и количества таксонов) в образцах стула обеих групп пациентов до и после процедур ТФМ. Доля нормальной микробиоты до ТФМ для двух групп пациентов составляла от 0 до 100% (медиана 6%), в то время как после ТФМ – от 22 до 99% (медиана 92%). Таксономическое разнообразие для двух групп пациентов до проведения ТФМ варьировало от 0 до 14 таксонов (медиана 3 таксона), после процедур – от 2 до 15 таксонов (медиана 10 таксонов).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на ограниченный объем выборки, данные нашего исследования демонстрируют, что ТФМ обладает высокой эффективностью и безопас-

Рисунок 2
Доля нормальной микробиоты в образцах стула реципиентов до и после ТФМ

Figure 2
The proportion of normal microbiota in stool samples of the recipients before and after FMT

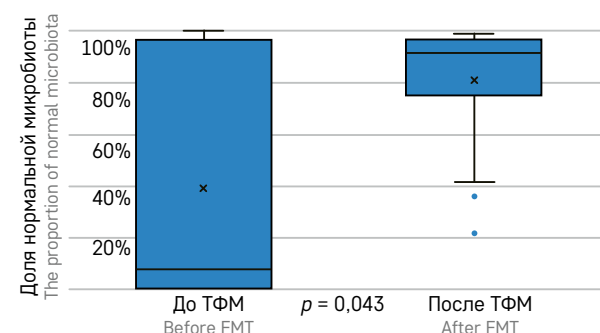
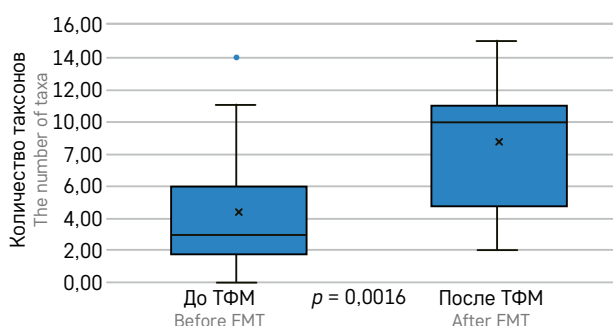


Рисунок 3
Таксономическое разнообразие микробиома кишечника реципиентов до и после ТФМ

Figure 3
Taxonomic diversity of the intestinal microbiome of the recipients before and after FMT



ностью в лечении реципиентов алло-ТГСК с кишечной формой СР/СЗ РТПХ и резистентными кишечными инфекциями. С учетом мирового опыта полагаем, что необходимо обеспечить доступ к данной лечебной технологии как к ключевому методу терапии колитов, ассоциированных с *Clostridium difficile*. Представляется значимым продолжить систематическое изучение метода ТФМ у реципиентов алло-ТГСК с кишечной формой РТПХ и инфекциями, вовлекающими ЖКТ.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Московского центра инновационных технологий в здравоохранении.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Seregin G.Z. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3880-4402>
 Bespyatykh Yu.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4408-503X>
 Gospodarik A.V. ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-7870-1106>
 Kirillov M.Yu. ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-5578-4492>
 Ogneva L.V. ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-0547-4393>
 Zhilina S.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0084-1013>
 Burtsev E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3623-6547>
 Burya A.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4170-7152>
 Vlasova I.O. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9209-7238>
 Zhuravel M.R. ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-2875-8372>
 Zhuravel E.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2049-897X>
 Konstantinova V.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2652-8642>
 Kurmanov B.M. ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-5256-1715>
 Lifshits A.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9095-1771>
 Natrusova M.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4244-7110>
 Donnikov A.E. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3504-2406>
 Maschan M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1735-0093>
 Bronin G.O. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0694-3996>

Литература / References

1. Cammarota G., Ianiro G., Tilg H., Rajilic-Stojanovic M., Kump P., Sato-kari R., et al. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut* 2017; 66 (4): 569–80.
2. Surawicz C.M., Brandt L.J., Binion D.G., Ananthakrishnan A.N., Curry S.R., Gilligan P.H., et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J Gastroenterol* 2013; 108 (4): 478–98.
3. Debast S.B., Bauer M.P., Kuijper E.J.; European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20 Suppl 2: 1–26.
4. Enforcement Policy Regarding Investigational New Drug Requirements for Use of Fecal Microbiota for Transplantation to Treat *Clostridium difficile* Infection Not Responsive to Standard Therapies. [Electronic resource] URL: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/enforcement-policy-regarding-investigational-new-drug-requirements-use-fecal-microbiota> (accessed 25.04.2024).
5. Samet A., Sledzinska A., Krawczyk B., Hellmann A., Nowicki S., Kur J., et al. Leukemia and risk of recurrent *Escherichia coli* bacteremia: genotyping implicates *E. coli* translocation from the colon to the bloodstream. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; 32 (11): 1393–400.
6. Maschan M., Shelikhova L., Ilushina M., Kurnikova E., Boyakova E., Balashov D., et al. TCR-alpha/beta and CD19 depletion and treosulfan-based conditioning regimen in unrelated and haploidentical transplantation in children with acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51 (5): 668–74.
7. Kim S.B., Min Y.H., Cheong J.W., Kim J.S., Kim S.J., Ku N.S., et al. Incidence and risk factors for carbapenem- and multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia in hematopoietic stem cell transplantation recipients. *Scand J Infect Dis* 2014; 46 (2): 81–8.
8. Caselli D., Cesaro S., Ziino O., Zanazzo G., Manicone R., Livi-diotti S., et al. Multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection in children undergoing chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* 2010; 95 (9): 1612–5.
9. Battipaglia G., Malard F., Rubio M.T., Ruggeri A., Mamez A.C., Brissot E., et al. Fecal microbiota transplantation before or after allogeneic hematopoietic transplantation in patients with hematologic malignancies carrying multidrug-resistance bacteria. *Haematologica* 2019; 104 (8): 1682–8.
10. Bilinski J., Grzesiowski P., Sorensen N., Madry K., Muszynski J., Robak K., et al. Fecal Microbiota Transplantation in Patients With Blood Disorders Inhibits Gut Colonization With Antibiotic-Resistant Bacteria: Results of a Prospective, Single-Center Study. *Clin Infect Dis* 2017; 65 (3): 364–70.
11. DeFilipp Z., Peled J.U., Li S., Mahabamunuge J., Dagher Z., Slingerland A.E., et al. Third-party fecal microbiota transplantation following allo-HCT reconstitutes microbiome diversity. *Blood Adv* 2018; 2 (7): 745–53.
12. Zhao Y., Li X., Zhou Y., Gao J., Jiao Y., Zhu B., et al. Safety and Efficacy of Fecal Microbiota Transplantation for Grade IV Steroid Refractory GI-GvHD Patients: Interim Results From FMT2017002 Trial. *Front Immunol* 2021; 12: 678476.
13. Голощапов О.В., Чухловин А.Б., Бакин Е.А., Станевич О.В., Клементьева Р.В., Щербakov А.А. и др. Трансплантация фекальной микробиоты при реакции «трансплантат против хозяина» у детей и взрослых: методы, клинические эффекты, безопасность. *Терапевтический архив* 2020; 92 (7): 43–54. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000773 [Goloshchapov O.V., Chukhlovina A.B., Bakin E.A., Stanevich O.V., Klementeva R.V., Shcherbakov A.A., et al. Fecal microbiota transplantation for graft-versus-host disease in children and adults: methods, clinical effects, safety. *Therapeutic Archive*. 2020; 92 (7): 43–54. (In Russ.)].
14. Zeiser R., Blazar B.R. Acute Graft-versus-Host Disease-Biology Process, Prevention, and Therapy. *N Engl J Med* 2017; 377: 2167–79.
15. Ferrara J.L.M., Levine J.E., Reddy P., Holler E. Graft-versus-host disease. *Lancet* 2009; 373: 1550–61.
16. Dignan F.L., Clark A., Amrolia P., Cornish J., Jackson G.S., Mahendra P., et al. Diagnosis and management of acute graft-versus-host

- disease. *Br J Haematol* 2012; 158: 30–45.
17. Andermann T.M., Peled J.U., Ho C., Reddy P., Riches M., Storb R., et al. The Microbiome and Hematopoietic Cell Transplantation: Past, Present, and Future. *Biol. Blood Marrow Transpl* 2018; 24: 1322–40.
 18. Schluter J., Peled J., Taylor B.P., Markey K.A., Smith J.A., Taur Y., et al. The gut microbiota is associated with immune cell dynamics in humans. *Nature* 2020; 588: 303–7.
 19. Zama D., Bossù G., Leardini D., Muratore E., Biagi E., Prete A., et al. Insights into the role of intestinal microbiota in hematopoietic stem-cell transplantation. *Ther Adv Hematol* 2020; 11: 2040620719896961.
 20. Peled J.U., Gomes A.L., Devlin S.M., Littmann E.R., Taur Y., Sung A.D., et al. Microbiota as predictor of mortality in allogeneic hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med* 2020; 382: 822–34.
 21. Jenq R.R., Taur Y., Devlin S.M., Ponce D.M., Goldberg J.D., Ahr K.F., et al. Intestinal *Blautia* Is Associated with Reduced Death from Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transpl* 2015; 21: 1373–83.
 22. Yoshioka K., Kakihana K., Doki N., Ohashi K. Gut microbiota and acute graft-versus-host disease. *Pharmacol Res* 2017; 122: 90–5.
 23. Shouval R., Geva M., Nagler A., Youngster I. Fecal Microbiota Transplantation for Treatment of Acute Graft-versus-Host Disease. *Clin Hematol Int* 2019; 1: 28.
 24. Cammarota G., Ianiro G., Tilg H., Rajilić-Stojanović M., Kump P., Sotokari R., et al. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut* 2017; 66: 569–80.
 25. Wardill H.R., Secombe K.R., Bryant R.V., Hazenberg M.D., Costello S.P. Adjunctive fecal microbiota transplantation in supportive oncology: Emerging indications and considerations in immunocompromised patients. *EBioMedicine* 2019; 44: 730–40.
 26. DeFilipp Z., Bloom P.P., Soto M.T., Mansour M.K., Sater M.R., Huntley M.H., et al. Drug-Resistant *E. coli* Bacteremia Transmitted by Fecal Microbiota Transplant. *N Engl J Med* 2019; 381: 2043–50.
 27. Carreras E., Dufour C., Mohty M., Kröger N. The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies. Springer International Publishing AG: Cham, Switzerland; 2019.
 28. Pession A., Zama D., Muratore E., Leardini D., Gori D., Guaraldi F., et al. Fecal Microbiota Transplantation in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Recipients: A Systematic Review. *J Pers Med* 2021; 11 (2): 100.
 29. Malard F., Huang X.J., Sim J.P.Y. Treatment and unmet needs in steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Leukemia* 2020; 34 (5): 1229–40.
 30. Господарик А.В., Прохорова Н.Д., Беспярых Ю.А. Подбор доноров для трансплантации фекальной микробиоты: невольный скрининг здоровья населения. *ОРГЗДРАВ: новости, мнения, обучение. Вестник ВШОУЗ* 2024; 10 (1): 92–103. [Gospodaryk A.V., Prokhorova N.D., Besspyatykh J.A. Selection of donors for fecal microbiota transplantation: compulsory public health screening. *Healthcare Management: News, Views, Education. Bulletin of VSHOUZ* 2024; 10 (1): 92–103. (In Russ.)].
 31. Жгун Е.С., Сорокина Е.А., Кислун Ю.В., Ильина Е.Н., Денисова Е.А., Беспярых Ю.А. Способ получения липофильно высушенного препарата фекалий для трансплантации фекальной микробиоты. Патент на изобретение RU 2809736 C2, 15.12.2023. Заявка от 09.12.2021. [Zhgun E.S., Sorokina E.A., Kislun Yu.V., Ilyina E.N., Denisova E.A., Besspyatykh Yu.A. Method of obtaining freeze-dried feces preparation for fecal microbiota transplantation. A patent for invention RU 2809736 C2, 15.12.2023. The application dated 09.12.2021. (In Russ.)].
 32. Ворошилина Е.С., Москвина М.В., Кириллов М.Ю., Огнева Л.В., Донников А.Е., Итани Т.М. и др. Фундаментальные основы современных подходов к оценке микробиоты кишечника детей. *Неонатология: новости, мнения, обучение* 2023; 11 (3): 47–59. [Voroshilina E.S., Moskvina M.V., Kirillov M.Yu., Ogneva L.V., Donnikov A.E., Itani T.M., et al. Fundamentals of modern approaches to assessing gut microbiota in children. *Neonatology: news, opinions, training* 2023; 11 (3): 47–59. (In Russ.)].
 33. Беспярых Ю.А., Господарик А.В., Журавель Е.А., Серегин Г.З., Комарова А.В., Есиев С.С. и др. Трансплантация фекальной микробиоты при астровирусной инфекции у реципиента аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: клинический случай. *Клиническая практика* 2023; 14 (1): 115–22. [Besspyatykh J.A., Gospodarik A.V., Zhuravel E.A., Seregin G.Z., Komarova A.V., Esiev S.S., et al. Fecal Microbiota Transplantation in the Treatment of Astrovirus Infection in a Recipient of an Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplant: a Clinical Case. *Journal of Clinical Practice* 2023; 14 (1): 115–22. (In Russ.)].
 34. Ianiro G., Masucci L., Quaranta G., Simonelli C., Lopetuso L.R., Sanguinetti M., et al. Randomised clinical trial: faecal microbiota transplantation by colonoscopy plus vancomycin for the treatment of severe refractory *Clostridium difficile* infection-single versus multiple infusions. *Aliment Pharmacol Ther* 2018; 48 (2): 152–9.
 35. Акиншина А.И., Смирнова Д.В., Загайнова А.В., Макаров В.В., Юдин С.М. Перспективы использования методов коррекции микробиоты при терапии воспалительных заболеваний кишечника. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии* 2019; 29 (2): 12–22. [Akinshina A.I., Smirnova D.V., Zagaynova A.V., Makarov V.V., Yudin S.M. Prospects of Using Microbiota Correction Methods in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology* 2019; 29 (2): 12–22. (In Russ.)].
 36. Щербakov П.Л., Белова Н.Д., Генерозов Э.В., Жгун Е.С., Иванова О.И., Ильина Е.Н. и др. Применение фекальной трансплантации в лечении заболеваний пищеварительного тракта (первый клинический опыт). *Доктор.Ру* 2019; 3 (158): 40–6. [Scherbakov P.L., Belova N. D., Generezov E. V., Zhgun E.S., Ivanova O.I., Ilyina E.N., et al. Faecal Transplant in GIT Treatment (Pilot Clinical Experience). *Doctor.Ru* 2019; 3 (158): 40–6. (In Russ.)].
 37. Woodworth M.H., Carpentieri C., Sitchenko K.L., Kraft C.S. Challenges in fecal donor selection and screening for fecal microbiota transplantation: A review. *Gut Microbes* 2017; 8 (3): 225–37.