

УДК 616.34-008.87-08-097:602.9

<https://doi.org/10.51523/2708-6011.2025-22-1-05>



Микробиом кишечника при иммуносупрессивной терапии у пациентов после аллогенной трансплантации гемоэтических стволовых клеток

М. А. Усс¹, И. О. Стома², Н. Ф. Миланович¹, Т. Н. Губанова¹,
А. Л. Усс¹, А. А. Ковалев²

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

²Гомельский государственный медицинский университет, г. Гомель, Беларусь

Резюме

Цель исследования. Провести ассоциации между составом микробиома кишечника и дозированием иммуносупрессивных препаратов у пациентов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК).

Материалы и методы. В настоящем исследовании методом секвенирования V3–V4 участков гена 16S рРНК нами был изучен состав микробиома кишечника 36 пациентов после алло-ТГСК при различных вариантах иммуносупрессии.

Результаты. Прием такролимуса приводил к значимому снижению представленности бактерий типа *Bacteroidetes* и в особенности семейства *Bacteroidaceae* в образцах стула в отличие от циклоспорина А; пациентам с более высокой плотностью микробов рода *Akkermansia* чаще требовалась редукция дозы иммуносупрессии для поддержания целевого уровня в сыворотке крови, что было подтверждено двумя многомерными методами, а у пациентов с большей представленностью видов *Faecalibacterium*, *Oscillibacter* и *Hungatella* медиана дозы циклоспорина А для поддержания терапевтической концентрации была больше.

Заключение. С учетом переменных концентраций ингибиторов кальциневрина, возможных нежелательных явлений, связанных с недостаточным либо избыточным уровнем препаратов в сыворотке крови, а также полученными ассоциациями между микробиомом кишечника пациентов и дозой иммуносупрессоров, необходимы дополнительные исследования для выявления взаимосвязи кишечного микробиома и иммуносупрессивных препаратов.

Ключевые слова: трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, микробиом кишечника, иммуносупрессивная терапия

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

Конфликт интересов. Отсутствует.

Источники финансирования. Республиканский бюджет; Внебюджетные средства ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии».

Для цитирования: Усс МА, Стома ИО, Миланович НФ, Губанова ТН, Усс АЛ, Ковалев АА. Микробиом кишечника при иммуносупрессивной терапии у пациентов после аллогенной трансплантации гемоэтических стволовых клеток. Проблемы здоровья и экологии. 2025;22(1):39–49. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2025-22-1-05>

Gut microbiota in immunosuppressive therapy in patients after allogeneic hemoietic stem cell transplantation

¹Mikhail A. Uss, ²Igor O. Stoma, ¹Natalya F. Milanovich, ¹Tatyana N. Gubanova,
¹Anatoly L. Uss, ²Alexey A. Kovalev

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

²Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

Abstract

Objective. To make associations between the composition of the gut microbiota and the dosage of immunosuppressive drugs in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

Materials and methods. In this study, we studied the composition of the gut microbiota using the V3-V4 sequencing method of the 16S rRNA gene in 36 patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with various types of immunosuppression.

Results. Use of Tacrolimus significantly reduced the abundance of bacteria like *Bacteroidetes* and particularly *Bacteroidaceae* family in stool samples compared to cyclosporine A; patients with higher *Akkermansia* abundance more often required immunosuppression dose reduction to maintain target serum levels, as confirmed by two multivariate methods, while patients with higher *Faecalibacterium*, *Oscillibacter*, and *Hungatella* density had a higher median cyclosporine A dose to maintain therapeutic concentrations.

Conclusion. Additional studies are necessary to identify the relationship between gut microbiome and immunosuppressant drugs taking into account variable concentrations of calcineurin inhibitors, potential adverse events associated with insufficient or excessive serum drug levels, and the associations found between patients' gut microbiome abundance and immunosuppressant dose

Keywords: Hematopoietic stem cell transplantation, gut microbiota, immunosuppressive therapy

Author contributions. Uss M.A., Stoma I.O., Milanovich N.F.: study concept and design; Uss M.A., Gubanova T.N.: data collection and processing; Uss M.A., Kovalev A.A.: data analysis and interpretation; Uss M.A., Stoma I.O.: provision of study materials; Uss M.A.: manuscript preparation; Stoma I.O.: editing; all authors: final approval of the manuscript.

Conflict of interest. None.

Funding. Republican budget; Extra-budgetary funds of the Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantation and Hematology.

For citation: Uss MA, Stoma IO, Milanovich NF, Gubanova TN, Uss AL, Kovalev AA. Gut microbiota in immunosuppressive therapy in patients after allogeneic hemoietic stem cell transplantation. *Health and Ecology Issues*. 2025;22(1):39–49. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2025-22-1-05>

Введение

Иммunosuppressивная терапия (ИТ) — неотъемлемая часть процедуры аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) крови, применяется для профилактики и лечения реакции трансплантат против хозяина (РТПХ) и может состоять из одного или нескольких лекарственных средств. В нашем центре основу иммуносупрессии составляют ингибиторы кальциневрина (такролимус, циклоспорин А), микофенолата мофетил, стероидные гормоны, а также Ex-vivo Т-клеточная деплеция посттрансплантационным циклофосфамидом (ПТЦФ) либо анти timoцитарным глобулином (АТГ).

Существуют попытки изучения влияния ИТ на микробиоту кишечника у пациентов при трансплантации солидных органов. Изучение влияния ИТ у посттрансплантационных пациентов крайне затруднительно в связи с большим количеством сопутствующих препаратов и патологических состояний, возникающих в процессе терапии.

Препараты, применяемые для ИТ, вероятно, сами по себе могут менять состав микробиома кишечника. Так, применение глюкокортикостероидов в некоторых исследованиях приводило к снижению кишечного разнообразия, росту отношения *Firmicutes/ Bacteroidetes*, в то время как по данным других исследователей наблюдалось снижение плотности *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, альфа- и гамма-протеобактерий [1–3]. Глюкокортикостероиды в более высоких дозах вели к росту плотности *Clostridiales*, *Lactobacillus*, *Anaerostipes* и *Bifidobacterium*, а

также к снижению *Mucispirillum*, разлагающих муцин и участвующих в созревании и активации Т-клеток [2–5]. Механизм влияния стероидных гормонов на микробиоту кишечника обусловлен истончением слизистого слоя кишечника и снижением секреции IgA и RegIII пептидов [1, 5–7].

По данным некоторых исследователей, пероральный прием ингибиторов кальциневрина не приводит к изменению альфа-биоразнообразия микробиома кишечника [8, 9]. По другим данным внутривентральное введение такролимуса у мышей приводило к изменениям в бета-разнообразии микробиома кишечника, росту отношения *Firmicutes/Bacteroidetes*, увеличению плотности *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *A. muciniphila*, *Allobaculum* и снижению плотности *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia*, *Clostridium*, *Ruminococcaceae*, *Mollicutes*, *Oscillospira*, *Rikenella* и др. [8–10]. Более высокие дозы такролимуса (0,5 мг/кг массы тела) у мышей были ассоциированы с большим снижением плотности семейства *Enterobacteriaceae* и нарастанием рода *Bifidobacterium* и вида *F. Prausnitzii*, чем низкие (0,1 мг/кг массы тела) [11].

Циклоспорин, являясь ингибитором кальциневрина, как и такролимус, по всей видимости, оказывает схожее влияние на микробиоту кишечника. При назначении циклоспорина наблюдалось снижение плотности *Enterobacteriaceae* и *Clostridium* [12].

Микофенолата мофетил (MMF), относящийся к антиметаболитам, обладает достаточно выраженными побочными эффектами со стороны

желудочно-кишечного тракта: диареей, тошнотой, рвотой, болевым синдромом и язвенной болезнью, которые встречаются в 30–50 % случаев после трансплантации солидных органов [13]. Вероятно, для токсических эффектов ММФ необходима нормальная микробиота кишечника, у стерильных мышей, получавших ММФ, а также у мышей, получавших ММФ и антибиотики широкого спектра действия, не наблюдалось побочных эффектов, связанных с ММФ, по сравнению с контрольными мышами с нормальным составом кишечного микробиома [14]. У мышей, получавших ММФ, значительно снижалось биоразнообразие микробиоты кишечника, нарастала плотность класса *Clostridia*, родов *Bacteroides* и *Proteobacteria*, увеличивалось соотношение *Firmicutes/Bacteroidetes*, снижалась плотность *Akkermansia*, *Parabacteroides* и рода *Clostridium* [15, 14].

В исследованиях на мышах было показано, что микробиота кишечника участвует в процессе метаболизма иммуносупрессивных препаратов. M. Zimmermann et al. показали, что *Clostridium scindens* метаболизируют дексаметазон и преднизолон с образованием андрогенов [16]. В свою очередь у пациентов, которым требовались более высокие дозы такролимуса, относительная плотность *F. prausnitzii* была выше [17]. Та же группа авторов предоставила данные о вероятном механизме данного феномена *in vitro* — трансформация такролимуса *F. prausnitzii* в метаболит в 15 раз менее активный (M1). Однако корреляции между обилием *Clostridiales* (*F. prausnitzii*) и продукции M1 в образцах стула у реципиентов почечного трансплантата на пероральной терапии такролимусом обнаружено не было [18]. В последующем та же группа исследователей показала активный метаболизм такролимуса у реципиентов почечного трансплантата, оценив фармакокинетику M1 после перорального приема такролимуса. M1 был обнаружен в течение первых четырех часов после приема, концентрация снизилась, как минимум, в пять раз по сравнению с исходным уровнем такролимуса [19]. По данным A. Degraeve et al., мыши с меньшим разнообразием микробиоты кишечника из-за введения антибиотиков (неомицина, ванкомицина и меропенема) демонстрируют сниженную концентрацию такролимуса в крови [20]. Учитывая, что такролимус имеет достаточно узкий терапевтический диапазон и может быть причиной нефротоксичности, исследования по изучению метаболизма препарата микроорганизмами выглядят крайне перспективными [21].

Микофенолата мофетил превращается в активную форму — микофеноловую кислоту (МФК) под воздействием эстераз плазмы и тканей. ММФ инактивируется глюкуронированием в печени

до глюкуронида МФК и небольшого количества ацил-глюкуронида МФК. Затем глюкуронид выводится с мочой и желчью. Бактерии, экспрессирующие ферменты бета-глюкуронидазы, могут расщеплять глюкуронид МФК до свободных микофеноловой и глюкуроновых кислот. Активная МФК подвергается печеночно-тонкокишечной рециркуляции, что вызывает желудочно-кишечную токсичность [22, 15].

Исследователями из Китая было доказано влияние микробиоты кишечника на пероральную биодоступность циклоспорина. У мышей, получавших с питьевой водой антибактериальные препараты, концентрация циклоспорина в крови была значительно больше. Относительная плотность *Akkermansia*, *Parabacteroides*, *Enterobacter*, *Escherichia-Shigella*, *Klebsiella*, *Parasutterella* и *Morganella* положительно коррелировала с биодоступностью циклоспорина, в то время как относительная плотность *Alloprevotella*, *Oscillospiraceae* UCG-005, *Phascolarctobacterium*, группа *Christensenellaceae* R-7, [*Eubacterium*] группа *xylanophilum*, *Desulfovibrio*, группа *Oscillospiraceae* NK4A214 и *Alistipes* имели отрицательную корреляцию с биодоступностью циклоспорина [23].

Публикации, связывающие необходимость коррекции ИТ у пациентов при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток с изменениями микробиома кишечника, отсутствуют.

Цель исследования

Провести ассоциации между составом микробиома кишечника и дозированием иммуносупрессивных препаратов у пациентов после алло-ТГСК.

Материалы и методы

Коллекция образцов стула проводилась у пациентов после аллогенной пересадки костного мозга либо периферических стволовых клеток крови. Протокол исследования был утвержден этической комиссией ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» (протокол № 10, 2019). Исследование было проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией, а также критериями STROBE для наблюдательных исследований. В исследование были включены 36 пациентов на различных сроках после трансплантации. Медиана возраста составила 37 лет. У 24 пациентов базисным препаратом выступал такролимус, у 12 пациентов — циклоспорин А. Характеристика режимов профилактики РТПХ у пациентов, включенных в исследование, представлена в таблице 1.

Оценка бактериального состава и разнообразия проводилась методом секвенирования

V3–V4 участков гена 16S рРНК на платформе Miseq (Illumina, USA).

Статистическая обработка данных проводилась в среде программирования R (версия 4.2.1) с применением библиотеки tidyverse (version 1.3.1) и пакетов phyloseq (version 1.41.0), rstatix (version 0.7.0), microbiome (version 1.19.0),

HMP (version 2.0.1), DESeq2 (version 1.37.4), ANCOMBC (version 1.99.1), datawizard (version 0.4.1), vegan (version 2.6-2) [24, 25]. В качестве описательных статистик, характеризующих центральные тенденции и разброс значений количественных показателей, выбраны медиана (Me) и 1-й и 3-й квартили (Q1; Q3).

Таблица 1. Характеристика режимов профилактики РТПХ у пациентов, включенных в исследование
Table 1. Characteristics of GVHD prophylaxis regimes in patients included in the study

Профилактика РТПХ, n (%)	
Циклоспорин+МТХ	4 (11 %)
Циклоспорин+ММФ	2 (6 %)
Циклоспорин+ММФ+АТГ	1 (3 %)
Циклоспорин+ММФ+ ПТЦФ	1 (3 %)
Циклоспорин+ГКС+АТГ	4 (11 %)
Такролимус+ММФ	3 (8 %)
Такролимус+ММФ+АТГ	12 (33 %)
Такролимус+ММФ+Ptcy	9 (25 %)
Ex-vivo Т-клеточная деплеция, n (%)	
АТГ	17 (47 %)
ПТЦФ	10 (28 %)
Не применялась	9 (25 %)

Результаты и обсуждение

На сроке «до приживления» мы оценили состав микробиома кишечника у 7 пациентов, принимающих циклоспорин А, и у 14 пациентов, получающих такролимус, достоверных различий между группами получено не было. Стоит отметить, что до восстановления показателей периферической крови ИТ проводится в виде внутривенной инфузии лекарственного средства, в то время как после восстановления показателей периферической крови — в виде приема препарата внутрь. В анализ были включены последние забранные образцы стула перед определением концентрации иммуносупрессивного препарата в сыворотке, но не более чем за 3 дня до определения концентрации.

На сроке коллекции «после приживления» циклоспорин получали 10 пациентов, такролимус — 19 пациентов. Медиана времени коллекции образцов стула составила 25 дней после инфузии гемопоэтических стволовых клеток. После восстановления показателей периферической крови нами были выделены значимые различия в представленности некоторых таксонов бактерий (таблица 2). Ряд таксонов отличались меньшей представленностью при приеме такролимуса в качестве базисного иммуносупрессанта:

- Тип *Bacteroidetes*. Медиана представленности в стуле пациентов, получающих циклоспорин, 61,05 % [46,08; 65,02] и 34,03 % [0,05; 65,76] — такролимус.

- Порядок *Acidaminococcales* ($p = 0,0260$) — 5,51 % [1,01; 11,01] при терапии циклоспорином и 0,00 % [0,00; 0,01] при лечении такролимусом.

- Семейства *Acidaminococcaceae* ($p = 0,0260$), *Tannerellaceae* ($p = 0,0004$) и *Bacteroidaceae* ($p = 0,0311$). С медианой представленности 5,68 % [1,02; 11,08], 5,64 % [0,93; 6,25] и 25,18 % [12,30; 33,94] при приеме циклоспорина и 0,00 % [0,00; 0,01], 0,01 % [0,00; 0,25] и 0,23 % [0,01; 22,58] при лечении такролимусом соответственно.

- Виды *Parabacteroides* ($p = 0,0003$), *Bacteroides* ($p = 0,0274$), *Prevotella* и *Phascolarctobacterium*. С медианой представленности при приеме циклоспорина 5,88 % [0,98; 6,51], 28,88 % [12,94; 36,65], 0,12 % и 6,00 % [1,05; 11,52] и 0,01 % [0,00; 0,29], 0,24 % [0,01; 24,72], менее 0,01 % и 0,00 % [0,00; 0,01] при приеме такролимуса в качестве базисных иммуносупрессивных препаратов.

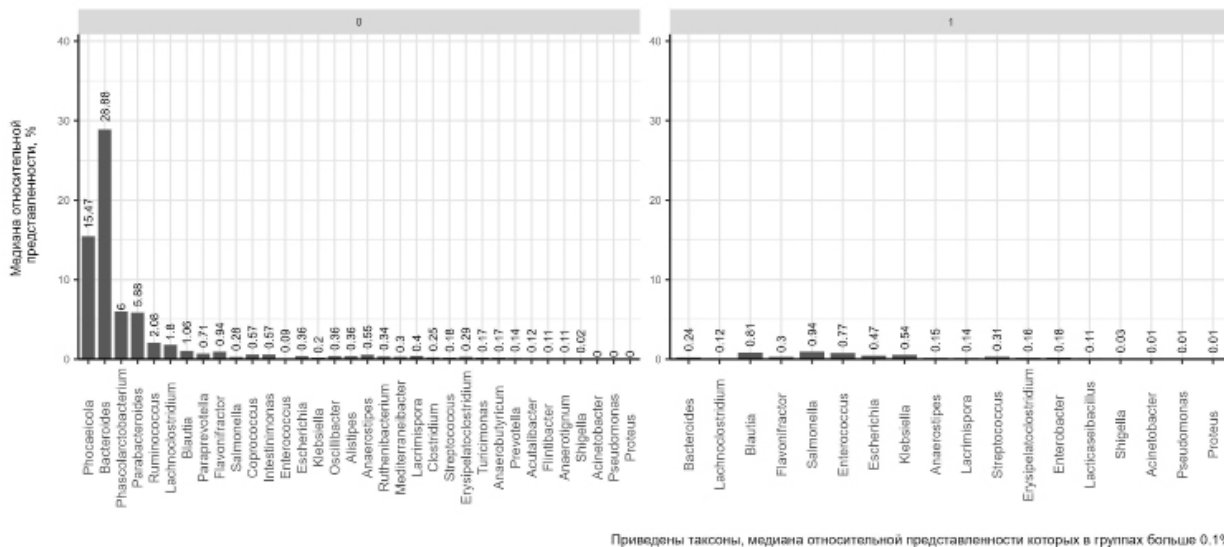
- Класс *Bacilli* ($p = 0,0311$) с медианой представленности в стуле пациентов при приеме циклоспорина 1,01 % [0,84; 2,18] и 5,03 % [1,08; 22,33] при назначении такролимуса, а также род *Enterococ-*

cus с медианой представленности 0,09 % [0,01; 0,96] и 0,77 % [0,02; 3,17] в свою очередь были более представлены в микробиоме кишечника пациентов, получающих такролимус.

Таблица 2. Результаты многомерных моделей DESeq2 и ANCOMBC при оценке влияния базисного препарата в профилактике РТПХ на состав микробиома кишечника у пациентов после алло-ТГСК
Table 2. Results of DESeq2 and ANCOMBC multivariate models in assessing the impact of a basic drug in GVHD prevention on gut microbiome composition in patients after Allo-HSCT

LinDA			
Taxa	log2FoldChange	p	p adj
Phylum <i>Bacteroidetes</i>	-4,6380	0,0090	0,0629
Class <i>Bacteroidia</i>	-4,5788	0,0108	0,1411
Order <i>Acidaminococcales</i>	-6,4462	0,0030	0,1213
Family <i>Acidaminococcaceae</i>	-6,5222	0,0029	0,0689
Family <i>Tannerellaceae</i>	-7,4421	0,0000	0,0061
Family <i>Bacteroidaceae</i>	-5,7996	0,0031	0,0689
Genus <i>Bacteroides</i>	-5,7729	0,0034	0,1101
Genus <i>Parabacteroides</i>	-7,6082	0,0000	0,0164
Genus <i>Prevotella</i>	-5,3415	0,0005	0,0649
Genus <i>Intestinimonas</i>	-4,3702	0,0013	0,0668
Genus <i>Enterococcus</i>	2,0788	0,2770	0,7283
ANCOMBC			
Taxa	Beta_LFC	p	padj
Phylum <i>Bacteroidetes</i>	-3,1439	0,0015	0,0212
Class <i>Bacteroidia</i>	-2,9352	0,0032	0,0519
Order <i>Acidaminococcales</i>	-3,9689	0,0118	0,1322
Family <i>Acidaminococcaceae</i>	-4,0729	0,0112	0,0674
Family <i>Tannerellaceae</i>	-4,2906	0,0000	0,0027
Family <i>Bacteroidaceae</i>	-3,7372	0,0007	0,0209
Genus <i>Intestinimonas</i>	-3,4013	0,0000	0,0002
Genus <i>Parabacteroides</i>	-4,4197	0,0000	0,0019
Genus <i>Phascolarctobacterium</i>	-6,1072	0,0000	0,0019
Genus <i>Bacteroides</i>	-4,0592	0,0004	0,0164
Genus <i>Prevotella</i>	-3,2243	0,0052	0,0513
Genus <i>Enterococcus</i>	2,3007	0,0478	0,2032
DESeq2			
Taxa	log2FoldChange	p	p adj
Class <i>Bacilli</i>	10,3765	0,0000	0,0000
Order <i>Acidaminococcales</i>	-4,3159	0,0002	0,0067
Family <i>Acidaminococcaceae</i>	-3,0498	0,0025	0,0143
Genus <i>Parabacteroides</i>	-4,2960	0,0118	0,0362
Genus <i>Prevotella</i>	-7,1516	0,0000	0,0003
Genus <i>Enterococcus</i>	3,4984	0,0000	0,0001
Genus <i>Phascolarctobacterium</i>	-2,6683	0,0104	0,0327

В целом пациенты при приеме такролимуса демонстрировали более низкую плотность большого количества видов бактерий (рисунок 1).



Приведены таксоны, медиана относительной представленности которых в группах больше 0.1%

Рисунок 1. Диаграмма медианных значений относительной представленности родов бактерий в микробиоме кишечника «после приживления» в зависимости от базисного препарата в профилактике РТПХ (циклоспорин-А / такролимус)
 Figure 1. Diagram of median values of relative representation of bacterial genera in the intestinal microbiome “after engraftment” depending on the basic drug in the prevention of GVHD (cyclosporine-A/tacrolimus)

На сроке «до приживления» 62 % (n = 13) пациентов требовалась корректировка (увеличение либо редукция) дозы иммуносупрессоров (циклоспорин/такролимус) в течение недели после коллкции образца стула, у 38 % (n = 8) пациентов в течение недели от дня коллкции образца стула доза оставалась стабильной. Повышение дозы требовалось 3 пациентам, снижение — 10. Медиана времени коллкции образцов состави-

ла 6 (3–15) дней после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

Пациентам с большей представленностью бактерий рода *Akkermansia* на всех филогенетических уровнях в образцах стула на сроке «до приживления» требовалась коррекция дозы иммуносупрессоров (ANCOMBC: Beta_LFC = 3,9728, p = 0,0038, padj = 0,0687; DESeq2: log2FoldChange = 11,2405, p = 0,0000, padj = 0,0004) (рисунок 2).

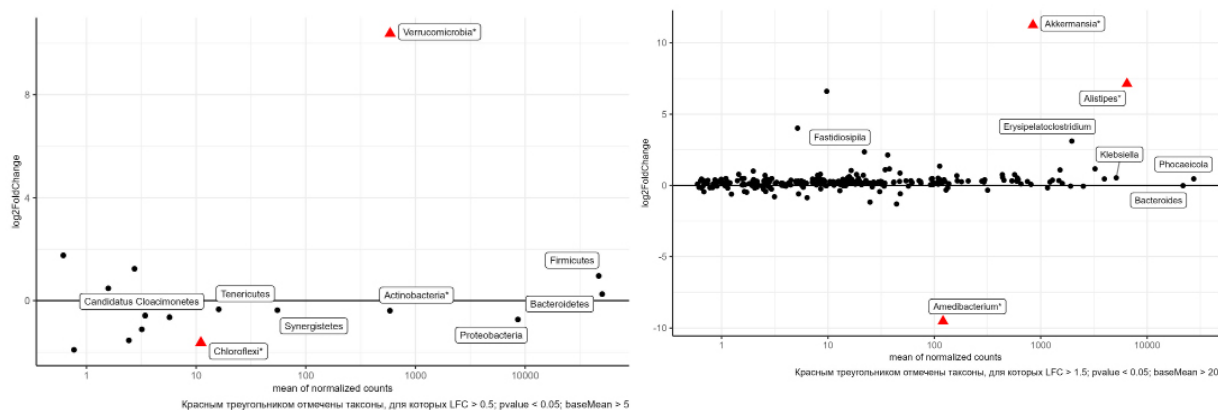


Рисунок 2. График дифференциальной представленности типов и родов бактерий в микробиоме кишечника «до приживления» в зависимости от необходимости коррекции дозы иммуносупрессивных препаратов согласно нескорректированному р-значению
 Figure 2. Graph of differential representation of bacterial phyla and genera in the gut microbiome “before engraftment”, depending on the need for immunosuppressant drug dose adjustment according to unadjusted p-value

При сравнении состава микробиома кишечника пациентов, которым требовалось снижение дозы иммуносупрессивных препаратов, с микробиомом пациентов со стабильной дозой иммуносупрессии, большая плотность бактерий семейства *Akkermansiaceae* (таблица 3) также была определена в качестве фактора риска не-

обходимости редукции дозы такролимуса и циклоспорина.

При прямом сравнении микробиома кишечника пациентов, которым требовалось повышение либо понижение дозы на сроке «до приживления», значимых различий в составе микробиома кишечника обнаружено не было.

Таблица 3. Результаты многомерных моделей DESeq2 и ANCOMBC при оценке влияния состава микробиома кишечника на сроке «до приживления» на необходимость снижения дозы иммуносупрессоров у пациентов после алло-ТГСК

Table 3. Results of DESeq2 and ANCOMBC multivariate models in assessing the impact of pre-engraftment gut microbiome composition on the need for reducing immunosuppressive therapy in patients after Allo-HSCT

ANCOMBC			
Taxa	Beta_LFC	p	padj
Phylum <i>Verrucomicrobia</i>	3,9786	0,0127	0,0825
Class <i>Verrucomicrobiae</i>	4,2770	0,0061	0,1133
Order <i>Verrucomicrobiales</i>	4,2680	0,0061	0,0355
Family <i>Akkermansiaceae</i>	4,4533	0,0066	0,1006
Genus <i>Akkermansia</i>	3,9728	0,0038	0,0687
DESeq2			
Taxa	log2FoldChange	p	p adj
Phylum <i>Verrucomicrobia</i>	10,6578	0,0000	0,0000
Class <i>Verrucomicrobiae</i>	12,1624	0,0000	0,0000
Order <i>Verrucomicrobiales</i>	12,6915	0,0000	0,0000
Family <i>Akkermansiaceae</i>	11,5949	0,0000	0,0000
Genus <i>Akkermansia</i>	11,0453	0,0000	0,0000

Среди всех таксонов значимое влияние на необходимость корректировки дозы на сроке «после приживления» трансплантата оказала представленность рода *Paeniclostridium*, под-

твержденное методами ANCOMBC (Beta_LFC = 2,2225, p = 0,0008, padj = 0,0541) и DESeq2 (log2FoldChange = 10,5453, p = 0,0041, padj = 0,0507) (рисунок 3).

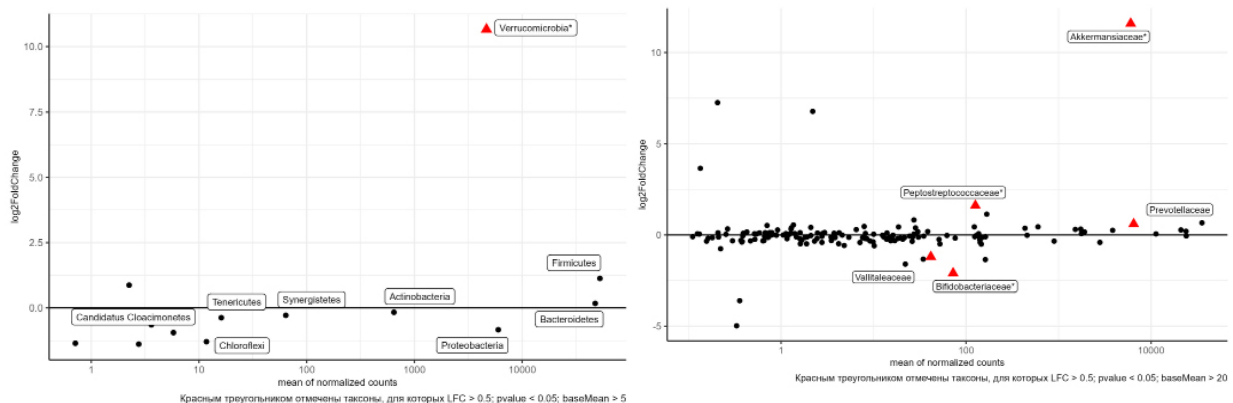


Рисунок 3. График дифференциальной представленности типов и семейств бактерий в микробиоме кишечника «до приживления» в зависимости от необходимости снижения дозы иммуносупрессивных препаратов согласно нескорректированному р-значению

Figure 3. Graph of differential representation of bacterial phyla and families in the pre-engraftment gut microbiome according to the need for immunosuppressive drug dose reduction according to unadjusted p-value

Влияние состава микробиома кишечника пациентов после алло-ТГСК на дозы иммуносупрессивных препаратов (циклоспорин/такролимус) оценивалось отдельно для перорального приема и внутривенного введения препарата. Приему *per os* соответствовало 12 образцов стула пациентов после трансплантации для циклоспорина и 17 образцов — для такролимуса, для внутривенного введения — 7 образцов для циклоспорина и 22 — для такролимуса соответственно. Медиана дозы циклоспорина при приеме внутрь составила 3,25 [мг/кг/сут] и 2,89 [мг/кг/сут] — при внутривенном введении. Медиана дозы такролимуса составила 0,047 [мг/кг/сут] при приеме внутрь и 0,015 [мг/кг/сут] — при внутривенном введении. Для циклоспорина *per os* по 6 образцов соответствовало числовому значению больше и меньше медианы (низкая и высокая дозы), при внутривенном введении — 3 образца для значения меньше медианы и 4 — для значения больше. У 8 пациентов доза такролимуса *per os* была меньше медианы, у 9 — больше. При внутривенном введении такролимуса доза препарата была меньше медианного значения у 7 пациентов, у 15 пациентов — больше.

Также анализировалось соотношение концентрации препарата в сыворотке к дозе (С/доза) [нг/мл] / [мг/кг/сут] с дальнейшей ме-

дианной дихотомизацией. Значение С/доза обратно пропорционально дозе соответствующего иммуносупрессивного препарата. Медиана С/доза при приеме циклоспорина внутрь составила 85,28 [нг/мл] / [мг/кг/сут] и 62,06 [нг/мл] / [мг/кг/сут] — при внутривенном введении. Для такролимуса — 165 [нг/мл] / [мг/кг/сут] и 486,05 [нг/мл] / [мг/кг/сут] соответственно. Целевая концентрация циклоспорина А — 200–400 нг/мл, такролимуса — 8–12 нг/мл.

Нами было обнаружено различное влияние таксономического состава, но не альфа-разнообразия микробиома кишечника на дозирование и режимы приема (внутри / внутривенно) иммуносупрессивных препаратов (циклоспорин / такролимус).

Всего 21 таксон был более представлен в образцах стула пациентов, которым требовались высокие дозы перорального циклоспорина А, при анализе хотя бы одним из методов, к примеру тип *Actinobacteria* ($p = 0,0152$) с медианой представленности в образцах стула пациентов с низкой дозой 0,02 % [0,01; 0,08] и 0,25 % [0,15; 0,33] у пациентов с высокой дозой и семейство *Oscillospiraceae* ($p = 0,0087$) с медианой представленности 3,42 % [0,40; 5,54] и 12,07 % [7,91; 15,53] соответственно (рисунок 4).

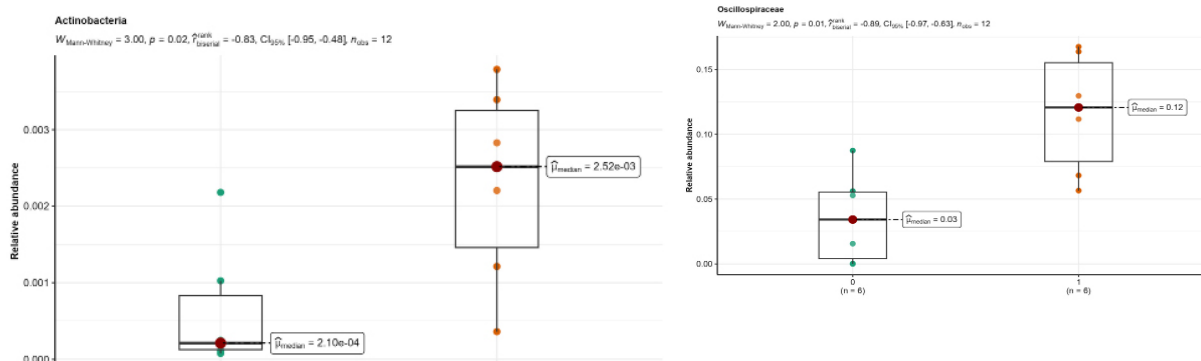


Рисунок 4. График сравнения относительной представленности типа *Actinobacteria* и семейства *Oscillospiraceae* в микробиоме кишечника в зависимости от дозы циклоспорина А при приеме *per os*

Figure 4. Graph comparing the relative abundance of the *Actinobacteria* phylum and the *Oscillospiraceae* family in the gut microbiome depending on a function of the dose of cyclosporine A administered orally

Менее представленных таксонов бактерий нами было выделено в количестве 31, к примеру порядок *Lactobacillales* ($p = 0,0411$) с медианой представленности 2,98 % [1,47; 3,33] и 0,72 % [0,33; 1,11] для низких и высоких доз циклоспорина А соответственно.

Соответствующим критериям значимости по двум и более методикам нами было определено

3 вида бактерий: *Faecalibacterium*, *Oscillibacter* и *Hungatella* (таблица 4). Все указанные виды бактерий являются представителями класса *Clostridia*, типа *Firmicutes* и более представлены в образцах стула пациентов, которым требуется большая пероральная доза циклоспорина А для поддержания целевой концентрации.

Таблица 4. Результаты моделей DESeq2 и ANCOMBC при оценке влияния состава микробиома кишечника на уровне видов на дозу циклоспорина А при пероральном приеме у пациентов после алло-ТГСК

Table 4. Results of DESeq2 and ANCOMBC models assessing the impact of species-level gut microbiome composition on oral cyclosporine A dose in patients undergoing allo-HSCT

DESeq2			
Taxa	log2FoldChange	p	p adj
<i>Faecalibacterium</i>	4,5137	0,0004	0,0053
<i>Oscillibacter</i>	2,6168	0,0016	0,0117
<i>Hungatella</i>	7.5967	0,0000	0,0001
ANCOMBC			
Taxa	Beta_LFC	p	p adj
<i>Faecalibacterium</i>	6,1098	0,0000	0,0017
<i>Oscillibacter</i>	5,3287	0,0028	0,0697
<i>Hungatella</i>	3,7110	0,0114	0,1280

Большинство результатов было согласовано и для отношения С/доза, в частности виды *Faecalibacterium* и *Hungatella* также были опреде-

лены как имеющие статистически значимое влияние на дозу циклоспорина А при приеме внутрь (таблица 5).

Таблица 5. Результаты моделей DESeq2 и ANCOMBC при оценке влияния состава микробиома кишечника на уровне видов на отношение С/доза при пероральном приеме циклоспорина А у пациентов после алло-ТГСК

Table 5. Results of DESeq2 and ANCOMBC models assessing the impact of species-level gut microbiome composition on the C/dose ratio of oral cyclosporine A in patients undergoing allo-HSCT

DESeq2			
Taxa	log2FoldChange	p	p adj
<i>Faecalibacterium</i>	-6,2334	0,0000	0,0002
<i>Hungatella</i>	-7,3387	0,0000	0,0002
ANCOMBC			
Taxa	Beta_LFC	p	p adj
<i>Faecalibacterium</i>	-4,4778	0,0020	0,0873
<i>Hungatella</i>	-5,3332	0,0002	0,0246

Анализ дозы циклоспорина А при внутривенном введении показал значительно большую представленность бактерий типа *Verrucomicrobia* ($\log_2\text{FoldChange} = -13,4136$, $p = 0,0000$, $\text{padj} = 0,0000$) и класса *Verrucomicrobiae* ($\log_2\text{FoldChange} = -12,8599$, $p = 0,0000$, $\text{padj} = 0,0000$) при анализе методом DESeq2, а также семейства *Akkermansiaceae* при использовании методики ANCOMBC в составе микробиома кишечника пациентов, которым требуется меньшая доза циклоспорина. Медиана представленности типа *Verrucomicrobia* и класса *Verrucomicrobiae* в образцах стула у пациентов с дозой меньше медианы составила 16,40 % [8,20; 18,3] и 16,40 % [8,20; 18,13], а у пациентов с дозой более медианы — 0,00 % [0,00; 0,00] и 0,00 % [0,00; 0,00] соот-

ветственно. Достоверного подтверждения более чем одним методом нам получить не удалось, вероятно, из-за малого числа наблюдений.

Как и при приеме циклоспорина А, тип *Actinobacteria* ($p = 0,0274$) значимо более представлен в образцах стула пациентов, которым требуется более высокая доза такролимуса, однако в отличие от циклоспорина значимое влияние представленности типа *Actinobacteria* на дозирование перорального такролимуса было подтверждено дополнительным многомерным методом DESeq2 ($\log_2\text{FoldChange} = 4,9050$, $p = 0,0181$, $\text{padj} = 0,1177$). Медиана представленности *Actinobacteria* в образцах стула пациентов с низкой дозой составила 0,05 % [0001; 0,06], в то время как у пациентов, которым требуется бо-

лее высокая доза перорального такролимуса — 0,14 % [0,06; 0,23].

Для внутривенного введения такролимуса статистически значимых ассоциаций дозы препарата и состава микробиома кишечника на всех филогенетических уровнях нами обнаружено не было.

Заключение

В результате проведения метагеномного секвенирования 16S рРНК образцов стула 36 пациентов после алло-ТГСК были получены следующие данные о взаимодействии микробиома кишечника и ИТ после трансплантации.

Прием такролимуса приводил к более низкой представленности типа *Bacteroidetes*, порядка *Acidaminococcales*, семейств *Acidaminococcaceae*, *Tannerellaceae*, *Bacteroidaceae*, *Parabacteroides*, *Bacteroides*, *Prevotella* и *Phascolarctobacterium*, а также большей относительной плотности клас-

са *Bacilli* и рода *Enterococcus* по сравнению с приемом циклоспорина.

Большая представленность типа *Verrucomicrobia*, класса *Verrucomicrobiae*, порядка *Verrucomicrobiales*, семейства *Akkermansiaceae* и рода *Akkermansia* приводила к более частой коррекции дозы иммуносупрессивных препаратов, а именно к ее редукции на сроке «до приживления». После восстановления показателей периферической крови более частая коррекция дозы иммуносупрессии требовалась при нарастании представленности рода *Paeniclostridium*.

Виды *Faecalibacterium*, *Oscillibacter* и *Hungatella* имели большую относительную численность в образцах стула пациентов, которым требовалась более высокая пероральная доза циклоспорина, а тип *Actinobacteria* — при пероральном приеме такролимуса для поддержания целевых концентраций препаратов.

Список литературы / References

1. Turret J, Willing BP, Dion S, MacPherson J, Denamur E, Finlay BB. Immunosuppressive treatment alters secretion of ileal antimicrobial peptides and gut microbiota, and favors subsequent colonization by uropathogenic *Escherichia coli*. *Transplantation*. 2017;101:74–82. DOI: <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000001492>
2. Wu T, Yang L, Jiang J, Ni Y, Zhu J, Zheng X, Wang Q, Lu X, Fu Z. Chronic glucocorticoid treatment induced circadian clock disorder leads to lipid metabolism and gut microbiota alterations in rats. *Life Sci*. 2018 Jan 1;192:173–182. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.11.049>
3. He Z, Kong X, Shao T, Zhang Y, Wen C. Alterations of the Gut Microbiota Associated With Promoting Efficacy of Prednisone by Bromofuranone in MRL/lpr Mice. *Front Microbiol*. 2019 May 1;10:978. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00978>
4. Huang EY, Inoue T, Leone VA, Dalal S, Touw K, Wang Y, Musch MW, Theriault B, Higuchi K, Donovan S, Gilbert J, Chang EB. Using corticosteroids to reshape the gut microbiome: implications for inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis*. 2015 May;21(5):963–972. DOI: <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000332>
5. Bunker JJ, Flynn TM, Koval JC, Shaw DG, Meisel M, McDonald BD, Ishizuka IE, Dent AL, Wilson PC, Jabri B, Antonopoulos DA, Bendelac A. Innate and Adaptive Humoral Responses Coat Distinct Commensal Bacteria with Immunoglobulin A. *Immunity*. 2015 Sep 15;43(3):541–553. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.08.007>
6. Muniz LR, Knosp C, Yeretsian G. Intestinal antimicrobial peptides during homeostasis, infection, and disease. *Front Immunol*. 2012;3:310. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00310>
7. Alverdy J, Aoye E. The effect of glucocorticoid administration on bacterial translocation. Evidence for an acquired mucosal immunodeficient state. *Ann Surg*. 1991;214:719–723. DOI: <https://doi.org/10.1097/00000658-199112000-00012>
8. Bhat M, Pasini E, Copeland J, Angeli M, Husain S, Kumar D, et al. Impact of immunosuppression on the metagenomic composition of the intestinal microbiome: a systems biology approach to post-transplant diabetes. *Sci Rep*. 2017; 7:10277. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10471-2>
9. Zhang Z, Liu L, Tang H, Jiao W, Zeng S, Xu Y, et al. Immunosuppressive effect of the gut microbiome altered by high-dose tacrolimus in mice. *Am J Transplant*. 2018;18:1646–1656. DOI: <https://doi.org/10.1111/ajt.14661>
10. Toral M, Romero M, Rodríguez-Nogales A, Jiménez R, Robles-Vera I, Algieri F, et al. Lactobacillus fermentum improves tacrolimus-induced hypertension by restoring vascular redox state and improving eNOS coupling. *Mol Nutr Food Res*. 2018;62:1800033. DOI: <https://doi.org/10.1002/mnfr.201800033>
11. Jiang J-W, Ren Z-G, Lu H-F, Zhang H, Li A, Cui GY, et al. Optimal immunosuppressor induces stable gut microbiota after liver transplantation. *World J Gastroenterol*. 2018;24:3871–3883. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i34.3871>
12. Jia J, Tian X, Jiang J, et al. Structural shifts in the intestinal microbiota of rats treated with cyclosporine A after orthotopic liver transplantation. *Front Med*. 2019;13:451–460.
13. Behrend M. Adverse gastrointestinal effects of mycophenolate mofetil: aetiology, incidence and management. *Drug Saf*. 2001;24(9):645–663. DOI: <https://doi.org/10.2165/00002018-200124090-00002>
14. Flannigan KL, Taylor MR, Pereira SK, Rodriguez-Arguello J, Moffat AW, Alston L, et al. An intact microbiota is required for the gastrointestinal toxicity of the immunosuppressant mycophenolate mofetil. *J Heart Lung Transplant*. 2018;37:1047–1059. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.healun.2018.05.002>
15. Taylor MR, Flannigan KL, Rahim H, Mohamud A, Lewis IA, Hirota SA, et al. Vancomycin relieves mycophenolate mofetil-induced gastrointestinal toxicity by eliminating gut bacterial β -glucuronidase activity. *Sci Adv*. 2019; 5: eaax2358. DOI: <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax2358>
16. Zimmermann M, Zimmermann-Kogadeeva M, Wegmann R, Goodman AL. Mapping human microbiome drug metabolism by gut bacteria and their genes. *Nature*. 2019;570:462–467. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1291-3>
17. Lee JR, Muthukumar T, Dadhania D, Taur Y, Jenq RR, Toussaint NC, Ling L, Pamer E, Suthanthiran M. Gut microbiota and tacrolimus dosing in kidney transplantation. *PLoS One*. 2015 Mar 27;10(3):e0122399. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122399>
18. Guo Y, Crnkovic CM, Won KJ, Yang X, Lee JR, Orjala J, et al. Commensal gut bacteria convert the immunosuppressant tacrolimus to less potent metabolites. *Drug Metab Dispos*. 2019;47:194–202. DOI: <https://doi.org/10.1124/dmd.118.084772>
19. Guo Y, Lee H, Edusei E, Albakry S, Jeong H, Lee J.R. Blood Profiles of Gut Bacterial Tacrolimus Metabolite in Kidney

Transplant Recipients. *Transplant. Direct.* 2020;6:601.
DOI: <https://doi.org/10.1097/TXD.0000000000001052>

20. Degraeve AL, Haufröid V, Lorient A, Gatto L, Andries V, Vereecke L, Elens L, Bindels LB. Gut microbiome modulates tacrolimus pharmacokinetics through the transcriptional regulation of ABCB1. *Microbiome.* 2023 Jul 6;11(1):138.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s40168-023-01578-y>

21. Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, Jain A, Zuckerman S, Warty V, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clinical pharmacokinetics.* 1995;29(6):404-430.
DOI: <https://doi.org/10.2165/00003088-199529060-00003>

22. Gabarre P, Loens C, Tamzali Y, Barrou B, Jaisser F, Tourret J. Immunosuppressive Therapy after Solid Organ Transplantation and the Gut Microbiota: Bidirectional Interactions

with Clinical 23. Consequences. *Am J Transplant.* 2022;22:1014-1030.

DOI: <https://doi.org/10.1111/ajt.16836>

23. Jinping Zhou, Rui Zhang, Li P, Huang X, Wei Y, et al. Effects of intestinal microbiota on pharmacokinetics of cyclosporine in rats. *Front Microbiol.* 2022 Nov 22;13:1032290.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1032290>

24. RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA. [date of access 2025 January 28]. Available from: <http://www.rstudio.com/>

25. R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [date of access 2025 January 28]. Available from: <https://www.R-project.org/>

Информация об авторах / Information about the authors

Усс Михаил Анатольевич, врач-гематолог (заведующий) гематологического отделения трансплантации костного мозга № 2, ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», Минск, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-9550-1117>

e-mail: mikhail.uss@mail.ru

Стома Игорь Олегович, д.м.н., профессор, ректор УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0483-7329>

e-mail: gsmu@gsmu.by

Миланович Наталья Феодосьевна, к.м.н., врач-гематолог (заведующий) гематологического отделения трансплантации костного мозга № 3, ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», Минск, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-7249-8198>

e-mail: nataly.milanovich@gmail.com

Губанова Татьяна Николаевна, научный сотрудник научного отдела, ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», Минск, Беларусь

Усс Анатолий Леонидович, д.м.н., профессор, заместитель директора по гематологии ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», Минск, Беларусь

e-mail: bmtc@mail.ru

Ковалев Алексей Алексеевич, старший преподаватель кафедры медицинской и биологической физики, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9148-487X>

e-mail: kovalev.data.analysis.gsmu@yandex.by

Mikhail A. Uss, Haematologist (Head) at the Hematology Department of Bone Marrow Transplantation No. 2, Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-9550-1117>

e-mail: mikhail.uss@mail.ru

Igor O. Stoma, Doctor of Medical Sciences, Professor, Rector of Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0483-7329>

e-mail: gsmu@gsmu.by

Natalya F. Milanovich, Candidate of Medical Sciences, Head of the Hematology Department of Bone Marrow Transplantation No. 3, Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-7249-8198>

e-mail: nataly.milanovich@gmail.com

Tatyana N. Gubanova, Researcher at the Scientific Department, Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Belarus

Anatoly L. Uss, Doctor of Medical Sciences, Professor, Deputy Director for Hematology, Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Belarus

e-mail: bmtc@mail.ru

Alexey A. Kovalev, Senior Lecturer at the Department of Medical and Biological Physics, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9148-487X>

e-mail: kovalev.data.analysis.gsmu@yandex.by

Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

Усс Михаил Анатольевич

e-mail: mikhail.uss@mail.ru

Mikhail A. Uss

e-mail: mikhail.uss@mail.ru

Поступила в редакцию / Received 30.12.2024

Поступила после рецензирования / Accepted 13.01.2025

Принята к публикации / Revised 20.02.2025