

Ю.В. Юдина^{1, 2}, А.И. Аминова^{1, 2}, А.П. Продеус^{2, 3}, А.А. Корсунский²¹ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация² Детская городская клиническая больница № 9 им. Г.Н. Сперанского Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Российская Федерация³ Балтийский федеральный университет им. Иммануила Канта, Калининград, Российская Федерация

Изменение композиции кишечной микробиоты у детей с атопическим дерматитом 1–5 лет: одномоментное исследование

Автор, ответственный за переписку:

Юдина Юлия Владимировна, аспирант кафедры педиатрии и детских инфекционных болезней Клинического института детского здоровья им. Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), врач педиатр ГБУЗ ДГКБ № 9 им. Г.Н. Сперанского

Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **тел.:** +7 (499) 256-21-62, **e-mail:** yuliyudina1989@mail.ru

Обоснование. Атопический дерматит (АтД) в последнее время вызывает все больший научный интерес из-за значительного роста частоты заболевания в популяции. Важным фактором риска его возникновения является композиция микробиоты кишечника. Связь данного фактора с развитием АтД у детей требует дальнейшего изучения. **Цель исследования** — провести сравнительный анализ микробиоты кишечника детей 1–5 лет с АтД и условно-здоровых детей методом 16S-секвенирования рибосомальной РНК (rРНК) бактериальных генов. **Методы.** Проведено одномоментное исследование. Обследованы 60 детей с установленным диагнозом АтД и 15 условно-здоровых детей в возрасте от 1 года до 5 лет. Микробиоту кишечника исследовали методом секвенирования бактериальных генов 16S rРНК. **Результаты.** Микробиота кишечника детей с АтД и условно-здоровых детей характеризуется статистически значимыми отличиями. Несмотря на отсутствие существенных различий видового богатства сравниваемых групп, дети с АтД имели повышение в метагеноме бактерий типа *Proteobacteria*, класса *Bacilli* и *Gamma*proteobacteria, семейства бактерий *Enterococcaceae* и *Veillonellaceae*, рода бактерий *Eggerthella*, *Dialister* и *Enterobacter*, а также снижение относительного количества бактерий типа *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia*, отряда бактерий *Bacteroidales* и *Bifidobacteriales*, семейства *Bifidobacteriaceae*, *Bacteroidaceae*, *Erysipelotrichaceae*, рода бактерий *Lachnoclostridium*, *Roseburia*, *Prevotella*, *Coprococcus*, *Ruminococcus*, *Faecalibacterium*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, снижение вида бактерий *Bifidobacterium longum*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Bacteroides fragilis*. **Заключение.** По данным исследования установлено, что микробиота кишечника детей с АтД имеет существенные различия в таксономическом составе в сравнении с микробиотой условно-здоровых детей. Повышение типа *Proteobacteria*, класса *Gamma*proteobacteria и *Bacilli*, семейства бактерий *Enterococcaceae* и *Veillonellaceae*, рода бактерий *Eggerthella*, *Dialister* и *Enterobacter* не исключает развития данного заболевания, а снижение таких бактерий, как *Verrucomicrobia*, *Bacteroidales* и *Bifidobacteriales*, может отягощать проявления атопии. Таким образом, обоснована необходимость дальнейшего изучения микробиоты кишечника у детей с АтД с целью установления влияния данных бактерий на течение АтД.

Ключевые слова: атопический дерматит, условно-здоровые дети, микробиота кишечника, молекулярно-генетические методы, 16S-секвенирование

Для цитирования: Юдина Ю.В., Аминова А.И., Продеус А.П., Корсунский А.А. Изменение композиции кишечной микробиоты у детей с атопическим дерматитом 1–5 лет: одномоментное исследование. *Педиатрическая фармакология*. 2021;18(5):377–384. doi: 10.15690/pf.v18i5.2294

ОБОСНОВАНИЕ

На протяжении многих десятилетий ученые всего мира занимаются изучением микробиоты различных экологических ниш человека. Актуальность данной темы заключается в значимости микробиоты для человека, так как она выполняет ряд важнейших функций. Одной из них является поддержание иммунной системы. Микрофлора участвует в формировании как местного (активация продукции IgA, фагоцитарной активности), так и системного иммунитета. Само наличие бактерий оказывает постоянное антигенное тренирующее действие [1].

С внедрением в науку молекулярно-генетических методов исследования представилась возможность расширить наши знания о таксономическом составе микробиоты, понять роль, а также изучить ее функции в организме человека.

По данным литературных источников, не исключается роль микробиоты кишечника в возникновении атопических заболеваний (бронхиальная астма, атопический дерматит (АтД), аллергический ринит) [2].

Микробиота кишечника изменчива, и на процесс формирования ее влияет огромное количество факторов, например способ родоразрешения, вскармлива-

ние, перенесенные заболевания, прием антибиотиков, диета, условия жизни и др. [3, 4].

Доказано, что состав кишечной микробиоты детей, страдающих АТД, отличается от состава кишечной микрофлоры здоровых детей [5, 6].

В исследовании Н. Song и соавт. установлено низкое содержание *Bifidobacterium* и *Bacteroides* и высокое содержание *Ruminococcus*, *Faecalibacterium* и *Parabacteroides* [7].

В исследовании, проведенном на китайской популяции у детей с аллергией к белкам коровьего молока (БКМ), выявлено снижение альфа-разнообразия (видового богатства) микробиоты кишечника. На уровне родов различий в таксономическом составе микробиоты обнаружено не было. На уровне семейств у пациентов с пищевой аллергией отмечалось увеличение представленности *Enterobacteriaceae* и снижение содержания *Bacteroidaceae* [8].

Другое наблюдение детей в возрасте 10 лет с АТД и астмой показало снижение альфа-разнообразия, а также снижение видов бактерий *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* UCG-005 и *Christensenellaceae* R-7 group у детей с АТД. Бета-разнообразия было ниже у детей с ингаляционной аллергией [9].

В 2021 г. Т. Marrs и соавт. провели исследование микробиоты кишечника детей с АТД в возрастной группе 3–12 мес. У детей на искусственном вскармливании выявлено значительное увеличение индекса разнообразия Шеннона, который является результатом измерения разнообразия видов, и повышение бактерий *Prevotellaceae* и *Proteobacteria* по сравнению с таковыми у детей на грудном вскармливании [10].

Таким образом, в процессе изучения научной литературы установлено, что микробиота кишечника детей с АТД отличается от микробиоты условно-здоровых детей.

Стоит отметить, что на территории Российской Федерации исследование микробиоты кишечника молекулярно-генетическими методами не проводилось.

Цель исследования

Провести сравнительный анализ микробиоты кишечника детей 1–5 лет с АТД и условно-здоровых детей методом 16S-секвенирования рибосомальной РНК (рРНК) бактериальных генов.

МЕТОДЫ

Исследование микробиоты кишечника проводилось методом секвенирования бактериальных генов 16S рРНК.

Некоторые результаты настоящего исследования были опубликованы ранее и освещали особенности микробиоты кишечника детей в зависимости от течения заболевания и возраста [11, 12]. Данная статья является продолжением проводимого научного исследования, которое выполнено в рамках диссертационной работы. Опубликованные ранее статьи отражают главы диссертационной работы.

Дизайн исследования

Проведено одномоментное исследование с формированием двух независимых выборок — детей с АТД и условно-здоровых детей той же возрастной категории.

Условия проведения

Исследование проведено на кафедре педиатрии и детских инфекционных болезней Клинического инсти-

Julia V. Yudina^{1, 2}, Alfiia I. Aminova^{1, 2}, Andrey P. Prodeus^{2, 3}, Anatoly A. Korsunskiy²

¹ Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

² G.N. Speransky Children's Municipal Clinical Hospital № 9, Moscow, Russian Federation

³ Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Changes in Intestinal Microbiota Composition in 1–5 Years Old Children with Atopic Dermatitis: Cross Sectional Study

Background. Atopic dermatitis (AD) arouses high research interest these days due to its significant morbidity rate. The most crucial risk factor for its development is the intestinal microbiota composition. The correlation of this factor with the development of AD in children requires further study. **Objective.** The aim of the study is to perform comparative analysis of the intestinal microbiota in 1–5 years old children with AD and conditionally healthy children via 16S-sequencing of ribosomal RNA (rRNA) of bacterial genes.

Methods. We have conducted cross sectional study. 60 children with diagnosed AD and 15 conditionally healthy children aged from 1 to 5 years were surveyed. Intestinal microbiota was examined via 16S-sequencing of rRNA of bacterial genes. **Results.** The intestinal microbiota in children with AD and conditionally healthy children has statistically significant differences. Despite the absence of significant differences in species richness of compared groups, children with AD had the elevation in the metagenome of *Proteobacteria*; *Bacilli* and *Gammaproteobacteria* classes; *Enterococcaceae* and *Veillonellaceae* families; *Eggerthella*, *Dialister* and *Enterobacter* genus; as well as the decrease in the relative value of *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia*; *Bacteroidales* and *Bifidobacteriales* orders; *Bifidobacteriaceae*, *Bacteroidaceae*, *Erysipelotrichaceae* families; *Lachnoclostridium*, *Roseburia*, *Prevotella*, *Coprococcus*, *Ruminococcus*, *Faecalibacterium*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides* genus; decrease of *Bifidobacterium longum*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Bacteroides fragilis*. **Conclusion.** It was revealed that the intestinal microbiota of children with AD has significant differences in taxonomic composition with the microbiota of conditionally healthy children. Elevation of *Proteobacteria*, *Bacilli* and *Gammaproteobacteria* classes, *Eggerthella*, *Dialister* and *Enterobacter* genus can be the risk factor for this disease development, whereas decrease of such bacteria as *Verrucomicrobia*, *Bacteroidales* and *Bifidobacteriales* can aggravate atopic symptoms. Thus, the need for further study of intestinal microbiota in children with AD is justified to establish the correlation of these bacteria with the disease course.

Keywords: atopic dermatitis, conditionally healthy children, intestinal microbiota, molecular genetic methods, 16S-sequencing

For citation: Yudina Julia V., Aminova Alfiia I., Prodeus Andrey P., Korsunskiy Anatoly A. Changes in Intestinal Microbiota Composition in 1-5 Years Old Children with Atopic Dermatitis: Cross Sectional Study. *Pediatricskaya farmakologiya — Pediatric pharmacology*. 2021;18(5):377–384. (In Russ). doi: 10.15690/pf.v18i5.2294

тута детского здоровья им. Н.Ф. Филатова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России на базе ГБУЗ ДГКБ № 9 им. Г.Н. Сперанского с ноября 2018 по февраль 2020 г.

Критерии соответствия

В исследование были включены 60 детей с АтД и 15 условно-здоровых детей в возрасте 1–5 лет. Объем выборки был ограничен финансовыми возможностями. Все дети находились на поликлиническом наблюдении в филиале № 1 (поликлиническое отделение) ГБУЗ ДГКБ № 9 им. Г.Н. Сперанского. Законные представители детей были приглашены принять участие в исследовании при плановом посещении врача аллерголога-иммунолога или педиатра, а также по телефону. Группу сравнения составили 15 условно-здоровых детей, которые согласились принять участие в исследовании при плановом посещении врача-педиатра перед вакцинацией.

Критерии включения пациентов в экспериментальную группу:

- 1) возраст 1–5 лет;
- 2) документально подтвержденный диагноз «атопический дерматит»;
- 3) наличие подписанной формы информированного согласия на участие в данном исследовании;
- 4) отсутствие в анамнезе антибактериальной/пробиотической терапии в течение 3 мес до исследования;
- 5) отсутствие сопутствующего хронического заболевания.

Целевые показатели исследования

Для исследования у детей был собран биоматериал (кал), который подвергался молекулярно-генетическому анализу, что позволило установить таксономический состав микробиоты кишечника, определить общее количество бактерий, а также измерить процентное соотношение бактерий в метагеноме.

Методы измерения целевых показателей

Полученный для исследования биоматериал замораживали при температуре -20°C , после чего, не нарушая холодовой цепи, доставляли в лабораторию, где хранили до востребования при температуре -80°C .

Для анализа микробиоты кишечника использовали ампликонное секвенирование маркерного варибельного участка V3–V4 бактериальных генов 16S рПНК [13]. Ген 16S рПНК выбран как универсальный маркер для видовой идентификации бактерий. Внутри одного вида сходство гена 16S рПНК достигает 98–99%.

ДНК была выделена с помощью наборов DNeasy Power Lyzer Microbial Kit (Qiagen) согласно инструкции производителя. Ампликонные библиотеки 16S рПНК были подготовлены с применением ПЦП с универсальными праймерами на регион V3–V4. Была использована следующая система праймеров: 515 F (5'-GTGBCAGCMGCCGCGGTAA-3') и Pro-mod-805 R (5'-GACTACNVGGGTMTCTAATCC-3') [14]. Секвенирование проводилось на приборе MiSeq (Illumina, США), в результате чего были получены прочтения длиной 150 пн с каждого конца ампликона. Целевое покрытие составило 10 000 прочтений на образец.

Таксономическая классификация отфильтрованных видов была проведена с помощью алгоритма QIIME 2 naive-bayes classifier, обученного по подготовленной базе данных. Альфа-разнообразию каждого образца оценивалось по индексу разнообразия Шеннона. Число

прочтений каждого микробного вида, рода и семейства было подсчитано путем суммирования прочтений, отнесенных к ASV (ампликонным вариантам секвенирования), принадлежащих к соответствующему таксону [15].

Этическая экспертиза

Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом ГБУЗ «ДГКБ № 9 им. Г.Н. Сперанского ДЗМ» 18.09.2018 № 19/2. Родители обследованных детей подписывали информированное согласие и разрешение на обработку конфиденциальных данных, формы бланков утверждены на заседании ЛЭК.

Статистические методы

Необходимый размер выборки предварительно не рассчитывали. В ходе исследования использовались методы системного анализа и описательной статистики для основной и контрольной групп пациентов в программе статистического анализа данных Statistica 12. Качественные признаки описывали при помощи абсолютных и относительных (%) величин. С помощью описательной статистики были рассчитаны средние значения и ошибка среднего (\pm). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению при помощи критерия Шапиро–Уилка. В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей [Q_1 – Q_3].

Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью U -критерия Манна–Уитни. Различия считались достоверными при $p \leq 0,05$. Для сравнения абсолютных частот качественных признаков в таблицах 2×2 использовался критерий хи-квадрат с поправкой по Йейтсу.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристика участников исследования

В исследовании приняли участие 60 пациентов с установленным АтД (экспериментальная группа), из них 40 мальчиков (66%) и 20 девочек (34%), а также 15 условно-здоровых детей (контрольная группа): 10 мальчиков (66%), 5 девочек (34%).

Средний возраст пациентов с АтД составил $2,37 \pm 0,19$ года, контрольной группы — $3,53 \pm 0,12$ года. Группы были сопоставлены по возрасту и полу ($p > 0,05$).

Результаты исследования

Был проведен сравнительный анализ микробиоты кишечника детей с АтД и группы условно-здоровых детей.

Учитывая тот факт, что АтД является хроническим заболеванием, предполагалось снижение альфа-разнообразия (видового богатства) бактерий в образцах кала пациентов сравниваемых групп. Однако в ходе исследования установлено, что микробиота кишечника у детей, страдающих АтД, и условно-здоровых детей характеризовалась достаточно разнообразным таксономическим составом (табл. 1). Статистически значимых различий между данными группами не получено ($p = 0,30$).

Наиболее часто встречающийся тип бактерий в исследуемых группах представлен филумом *Firmicutes*, значимых различий между сравниваемыми группами не получено (табл. 2). У детей основной группы по сравнению с группой контроля отмечено статистически значимое повышение в метагеноме относительного коли-

Таблица 1. Видовое богатство у пациентов с атопическим дерматитом и группы контроля
Table 1. Species richness in patients with atopic dermatitis and control groups

Показатель, Ме [Q ₁ -Q ₃]	Атопический дерматит, n = 60	Группа контроля, n = 15	p
Альфа-разнообразие	4,80 [3,58–5,31]	5,02 [4,72–5,19]	0,30

Таблица 2. Сравнительный анализ типа бактерий микробиоты детей с атопическим дерматитом и условно-здоровых детей
Table 2. Comparative analysis of the type of bacteria in the microbiota of children with atopic dermatitis and conditionally healthy children

Показатель, Ме [Q ₁ -Q ₃]	Атопический дерматит, %	Условно-здоровые дети, %	p
<i>Firmicutes</i>	58 [36,0–79,0]	58,97 [51,13–66,03]	0,94
<i>Actinobacteria</i>	5,5 [0–9,75]	14,06 [4,10–33,10]	0,01
<i>Proteobacteria</i>	2 [0–26,0]	0,7 [0–2,87]	0,04
<i>Verrucomicrobia</i>	0 [0–0]	0,63 [0,20–1,63]	0,01
<i>Bacteroidetes</i>	0 [0–0]	22,4 [12,53–28,93]	0,01

Таблица 3. Сравнительный анализ класса бактерий микробиоты детей с атопическим дерматитом и группы контроля
Table 3. Comparative analysis of the bacterial class in the microbiota of children with atopic dermatitis and the control group

Показатель, Ме [Q ₁ -Q ₃]	Атопический дерматит, %	Группа контроля, %	p
<i>Clostridia</i>	48 [31,00–57,00]	53,93 [44,9–62,27]	0,16
<i>Bacilli</i>	3 [1,00–12,75]	0,63 [0,30–1,70]	0,01
<i>Actinobacteria</i>	0 [0,00–5,00]	13,40 [3,67–31,03]	0,01
<i>Gammaproteobacteria</i>	5,5 [0–28,00]	0,47 [0,17–2,63]	0,05
<i>Bacteroidia</i>	1,25 [0,00–6,75]	22,40 [12,53–28,93]	0,01

Таблица 4. Сравнительный анализ отряда бактерий микробиоты детей с атопическим дерматитом и условно-здоровых детей
Table 4. Comparative analysis of the order of bacteria in the microbiota of children with atopic dermatitis and conditionally healthy children

Показатель, Ме [Q ₁ -Q ₃]	Атопический дерматит, %	Группа контроля, %	p
<i>Bacteroidales</i>	1,50 [0,00–7,75]	22,40 [12,53–28,93]	0,01
<i>Bifidobacteriales</i>	0 [0,00–6,75]	13,40 [03,67–31,03]	0,01

Таблица 5. Анализ семейства бактерий микробиоты детей с атопическим дерматитом и группы контроля
Table 5. Analysis of the bacterial family in the microbiota of children with atopic dermatitis and the control group

Показатель, Ме [Q ₁ -Q ₃]	Атопический дерматит, %	Группа контроля, %	p
<i>Enterococcaceae</i>	0,3 [0–17]	0 [0–0,7]	0,019
<i>Bifidobacteriaceae</i>	0 [0–5,57]	13,4 [3,67–31,03]	< 0,01
<i>Veillonellaceae</i>	1,23 [0–3,0]	0,43 [0,17–1,3]	< 0,01
<i>Erysipelotrichaceae</i>	0 [0–4,0]	1,9 [1,13–2,8]	0,01
<i>Bacteroidaceae</i>	0 [0–0]	14,3 [6,93–25,53]	0,01

чества бактерий типа *Proteobacteria*, а также снижение относительного количества бактерий типа *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* и *Verrucomicrobia*.

При сравнении таксономического состава микробиоты кишечника на уровне класса (табл. 3) как у детей основной группы, так и у детей из группы контроля выявлено преобладание в метагеноме относительного количества бактерий *Clostridia*. Пациенты с АД в сравнении с группой контроля имели статистически значимое повышение относительного количества бактерий класса *Bacilli*, а также снижение класса *Actinobacteria* и *Bacteroidetes*.

Проведя сравнительный анализ отряда бактерий микробиоты детей с АД и детей из группы контроля, установили статистически значимое снижение

в метагеноме относительного количества *Bacteroidales* и *Bifidobacteriales* (табл. 4).

На уровне семейства бактерий у детей основной группы по сравнению с детьми из группы контроля отмечается достоверное снижение в метагеноме относительного количества *Bifidobacteriaceae*, *Bacteroidaceae*, *Erysipelotrichaceae*, а также повышение бактерий *Enterococcaceae* и *Veillonellaceae* (табл. 5).

На уровне рода бактерий у детей основной группы в сравнении с детьми из группы контроля отмечается снижение в метагеноме относительного количества бактерий *Lachnoclostridium*, *Roseburia*, *Prevotella*, *Coprococcus*, *Ruminococcus*, *Faecalibacterium*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, а также повышение бактерий *Dialister*, *Eggerthella*, *Enterobacter* (табл. 6).

Таблица 6. Анализ рода бактерий микробиоты детей с атопическим дерматитом и условно-здоровых детей
Table 6. Analysis of the bacterial genus in the microbiota of children with atopic dermatitis and conditionally healthy children

Показатель, Ме [Q ₁ –Q ₃]	Атопический дерматит, %	Группа контроля, %	p
<i>Dialister</i>	0 [0–5,4]	0 [0–1,3]	0,039
<i>Lachnoclostridium</i>	0 [0–4,0]	3,57 [2,7–4,93]	0,01
<i>Roseburia</i>	0 [0–3,0]	4,73 [1,37–7,6]	0,01
<i>Prevotella</i>	0 [0–5,0]	0,03 [0–1,2]	0,036
<i>Eggerthella</i>	0,2 [0–1,0]	0 [0,03–0,13]	0,012
<i>Coprococcus</i>	0 [0–3,0]	6,13 [3,4–11,73]	0,01
<i>Ruminococcus</i>	1 [0–4,0]	2,9 [1,17–5,57]	< 0,01
<i>Faecalibacterium</i>	0 [0–8,75]	10,53 [3,17–14,53]	< 0,01
<i>Bifidobacterium</i>	4,0 [0–9,0]	13,4 [3,67–31,03]	< 0,01
<i>Bacteroides</i>	3 [0–9,7]	14,3 [6,93–25,53]	< 0,01
<i>Enterobacter</i>	0 [0–5,25]	0 [0–0]	0,047

Таблица 7. Анализ вида бактерий микробиоты детей с атопическим дерматитом и группы контроля
Table 7. Analysis of the bacterial species in the microbiota of children with atopic dermatitis and the control group

Показатель, Ме [Q ₁ –Q ₃]	Атопический дерматит, %	Группа контроля, %	p
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	0 [0–0]	10,53 [3,17–14,53]	< 0,01
<i>Bacteroides fragilis</i>	0 [0–0,5]	0,13 [0,03–0,97]	0,01
<i>Bifidobacterium longum</i>	0 [0–2,0]	8,57 [1,67–28,07]	< 0,01

На уровне вида бактерий в группе детей с АТД при сравнении с условно-здоровыми детьми установлено снижение в метагеноме относительного количества бактерий *Bifidobacterium longum*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Bacteroides fragilis* (табл. 7).

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

В результате проведенного исследования установлено, что микробиота кишечника детей с АТД и условно-здоровых детей имела достоверные различия в составе на всех таксономических уровнях. Таким образом, применение метода секвенирования бактериальных генов 16S рНК может стать одним из методов в поиске новых путей коррекции болезни.

Ограничения исследования

При выполнении исследования нам пришлось столкнуться с определенными ограничениями. Применяемый в исследовании метод секвенирования бактериальных генов 16S рНК на территории Российской Федерации выполняем единичными лабораториями, этим объясняется небольшой размер выборки. Данный метод также является дорогостоящим, в связи с чем потребовалось длительное хранение образцов кала и увеличение времени получения результатов.

Кроме того, сбор анамнеза, осмотр и оценка тяжести состояния пациентов в момент исследования осуществлялись одним исследователем, что могло привести к искажению результата ввиду субъективности оценки. Исследование воспроизводимости такой оценки не проводилось.

Интерпретация результатов исследования

В научной литературе имеется множество данных о роли микробиоты в развитии атопических заболеваний, в том числе АТД у детей. Следует еще раз отме-

тить, что на территории Российской Федерации изучение микробиоты кишечника детей с АТД молекулярно-генетическими методами не проводилось.

Нами проведен сравнительный анализ микробиоты кишечника детей с АТД и группы условно-здоровых детей, который показал статистически значимые различия между данными группами.

В ходе изучения научной литературы установлено снижение альфа-разнообразия (видового богатства) микробиоты кишечника у детей с АТД [8, 9]. Однако в нашем исследовании микробиота кишечника детей, страдающих АТД, и условно-здоровых детей характеризовалась достаточно разнообразным таксономическим составом метагенома. Статистически значимых различий между данными группами не получено ($p = 0,30$).

У детей основной группы по сравнению с группой контроля отмечено существенное повышение типа *Proteobacteria* за счет класса *Gammaproteobacteria* и рода *Enterobacter*.

Согласно литературным данным, протеобактерии неблагоприятно влияют на здоровье человека из-за наличия в клеточной стенке эндотоксина. К этому типу принадлежит класс *Gammaproteobacteria*, который также был значительно выше у детей с АТД в нашем исследовании.

Данные бактерии обладают патогенными свойствами. Их повышение отмечается при бронхиальной астме, воспалительных заболеваниях кишечника, сахарном диабете 2-го типа, инфекционных заболеваниях различной локализации, а также при АТД у детей [16, 17]. Тем самым как тип протеобактерий, так и его представители могут участвовать в патогенезе развития АТД.

Кроме того, отмечается снижение относительного количества бактерий типа *Actinobacteria* за счет снижения класса *Actinobacteria*, семейства, вида и рода *Bifidobacteria*, относящихся к данному типу.

По данным литературных источников, тип актинобактерии является одним из четырех основных типов кишеч-

ной микробиоты и играет ключевую роль в поддержании гомеостаза кишечника. Классы этого типа, особенно бифидобактерии, широко используются в качестве пробиотиков и благоприятно влияют на слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта [18]. Снижение относительного количества данных бактерий у детей с АтД подтверждено и другими исследованиями [8, 19].

В нашем исследовании установлено также снижение типа *Bacteroidetes*. Уменьшение данного типа отмечается за счет класса, отряда *Bacteroidales*, семейства *Bacteroidales*, рода и вида *Bacteroides*.

Бактероиды участвуют в снабжении организма энергией, собранной из рациона путем ферментации неперевариваемых полисахаридов, в результате чего происходит продукция короткоцепочечных жирных кислот (КЖК), так необходимых для нормального питания колоноцитов кишечной стенки [19]. В научной литературе имеются сведения о снижении данного типа бактерий у детей с АтД [7], что подтверждено и нашим исследованием. Хотя встречаются и противоречивые данные. Например, в исследованиях Н. Wopereis и соавт. и R. Verni Canani и соавт. обнаружено повышение бактериоидов у детей с аллергией [20, 21]. Стоит отметить, что *Bacteroidales* положительно влияют на микрофлору кишечника, продуцируя КЖК, а также способствуют повышению уровня Т-регуляторных клеток, которые необходимы для формирования толерантности к пищевым аллергенам [22]. Таким образом, подтверждается участие микробиоты кишечника в патогенезе развития АтД.

Вместе с тем на уровне типа у детей с АтД снижено относительное количество *Verrucomicrobia*.

Бактерии типа *Verrucomicrobia* улучшают функцию кишечного барьера, обеспечивая важнейшие иммунологические реакции организма человека [23]. Основным представителем данного вида бактерии является *Akkermansia muciniphila*, снижение которой установлено у детей с АтД в исследовании R. Verni Canani и соавт. в 2018 г. [21] и подтверждено нашим исследованием.

На уровне класса бактерий у детей основной группы в нашем исследовании отмечается достоверное повышение относительного количества бактерий *Bacilli*. Данный класс бактерий повышен за счет семейства *Enterococcaceae*. В литературе описаны патогенные свойства этих бактерий. Они продуцируют внеклеточный супероксид, приводящий к повреждению ДНК в эпителиальных клетках толстой кишки и хромосомной нестабильности, потенциально связанный с локальным воспалением и изменением питательных свойств слизистой оболочки кишечника [24]. Повышение количества данных бактерий описано при воспалительных заболеваниях кишечника, болезни Крона и язвенном колите [25]. Таким образом, повышение данных бактерий может неблагоприятно влиять на течение заболевания.

Кроме того, на уровне семейства в нашем исследовании установлено повышение относительного количества бактерий *Veillonellaceae*, а также принадлежащего к данному семейству рода *Dialister*. Анализ литературных данных показал, что повышение *Veillonellaceae* у детей с АтД отмечается и в других научных исследованиях [26]. Вместе с тем имеются сведения о неблагоприятном влиянии данной бактерии на слизистую оболочку кишечника [24], тем самым не исключается ее роль в развитии АтД.

На уровне рода бактерий у детей основной группы видим снижение бактерий *Lachnoclostridium*, *Roseburia*, *Prevotella*, *Coprococcus*, *Ruminococcus*, *Faecalibacterium*,

а также повышение бактерий *Eggerthella* в сравнении с детьми из группы контроля.

Имеются данные, что бактерии *Eggerthellaceae* способны неблагоприятно влиять на слизистую оболочку кишечника, вызывая воспалительные изменения [24].

Бактерии *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Coprococcus*, *Lachnoclostridium* относятся к типу *Firmicutes*, классу *Clostridium*. Они положительно влияют на слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта, так как производят масляную кислоту, которая является основным источником энергии для клеток эпителия кишечника и тем самым предотвращает развитие воспалительного процесса [27]. Бактерии *Faecalibacterium* и *Roseburia* в научной литературе ассоциировались с меньшим риском развития атопии [28].

На уровне вида бактерий в нашем исследовании, кроме снижения бактериоидов и бифидобактерий, также наблюдается снижение *Faecalibacterium prausnitzii* у детей с АтД в сравнении с группой условно-здоровых детей. *Faecalibacterium prausnitzii* являются одним из основных компонентов микробиоты кишечника, продуцирующим КЖК, и обладают пробиотическими и противовоспалительными свойствами [29].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено, что микробиота кишечника детей с АтД достоверно отличается по таксономическому составу от микробиоты условно-здоровых детей. Повышение типа *Proteobacteria*, класса *Gammaproteobacteria* и *Bacilli*, семейства бактерий *Enterococcaceae* и *Veillonellaceae*, рода бактерий *Eggerthella*, *Dialister* и *Enterobacter* не исключает развития данного заболевания, а снижение таких бактерий, как *Verrucomicrobia*, *Bacteroidales* и *Bifidobacteriales*, может отягощать проявления атопии. Таким образом, обоснована необходимость дальнейшего изучения микробиоты кишечника у детей с АтД с целью установления взаимосвязи данных бактерий с течением заболевания.

ВКЛАД АВТОРОВ

Ю.В. Юдина — проведен обзор отечественной и зарубежной литературы, сформулированы цели и задачи работы. Осуществлен набор исследуемой группы пациентов, обобщены и проанализированы результаты клинического и лабораторного обследования пациентов. Проведена статистическая обработка полученных результатов исследования, сделаны научные выводы. Выполнено изложение и структурирование материала.

А.А. Корсунский — выполнена организация научно-исследовательской работы и оценка проведенного исследования.

А.П. Продеус — внесен существенный вклад в выполнение молекулярно-генетического исследования микробиоты кишечника, а также помощь в интерпретации полученных результатов.

А.И. Аминова — проведение статистической обработки полученных результатов исследования, оценка изложения и структурирования материала.

AUTHORS' CONTRIBUTION

Julia V. Yudina — performed the review of Russian and foreign literature, stated work aims and objectives. The test group of patients was recruited, the results of patients clinical and laboratory examination were summarized and analyzed. Statistical processing of the obtained research results was carried out, scientific conclusions were made. Material has been described and structured.

Anatoly A. Korsunskiy — organization of scientific and research work and evaluation of the conducted research.

Andrey P. Prodeus — made significant contribution to the intestinal microbiota molecular genetic study, as well as assistance in results interpreting.

Alfiia I. Aminova — statistical processing of the study results, evaluation of the article and structuring of the material.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Финансирование данной работы не проводилось.

FINANCING SOURCE

Not specified.

РАСКРЫТИЕ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DISCLOSURE OF INTEREST

Not declared.

ORCID

Ю.В. Юдина

<https://orcid.org/0000-0001-9813-6616>

А.А. Корсунский

<https://orcid.org/0000-0002-9087-1656>

А.И. Аминова

<https://orcid.org/0000-0002-1951-6424>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Penders J, Gerhold K, Stobberingh EE, et al. Establishment of the intestinal microbiota and its role for atopic dermatitis in early childhood. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132(3):601–607.e8. doi: 10.1016/j.jaci.2013.05.043
2. Николаева И.В., Царегородцев А.Д., Шайхиева Г.С. Формирование кишечной микробиоты ребенка и факторы, влияющие на этот процесс // *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* — 2018. — Т. 63. — № 3. — С. 13–18. [Nikolaeva I.V., Tsaregorodtsev AD, Shaikhieva G S. Formation of intestinal microbiota of children and the factors that influence this process. *Rossiiskij vestnik perinatologii i pediatrii.* 2018;63(3):13–18. (In Russ).] doi: 10.21508/1027-4065-2018-63-3-13-18
3. Мазанкова Л.Н., Захарова И.Н., Дмитриева Ю.А. Концептуальный подход к назначению пробиотиков-синбиотиков у детей // *Детские инфекции.* — 2010. — Т. 9. — № 1. — С. 27–32. [Mazankova LN, Zaharova IN, Dmitrieva JA. Conceptual approach to administrate probiotics-synbiotics in children. *Detskie infekcii = Children Infections.* 2010;9(1):27–32. (In Russ).]
4. Hesla HM, Stenius F, Jäderlund L, et al. Impact of lifestyle on the gut microbiota of healthy infants and their mothers — the ALADDIN birth cohort. *Microbiol Ecol.* 2014;90(3):791–801. doi: 10.1111/1574-6941.12434
5. Максимова О.В., Гервазиева В.Б., Зверев В.В. Микробиота кишечника и аллергические заболевания // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* — 2014. — № 3. — С. 49–60. [Maksimova OV, Gervazieva VB, Zverev VV. Intestine microbiota and allergic diseases. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 2014;(3):49–60. (In Russ).]
6. Смирнова Г.И., Манкуте Г.Р. Микробиота кишечника и атопический дерматит у детей // *Российский педиатрический журнал.* — 2015. — Т. 18. — № 6. — С. 46–53. [Smirnova GI, Mankute GR. Intestinal microbiota and atopic dermatitis in children. *Rossiiskii Pediatricheskii Zhurnal = Russian Pediatric Journal.* 2015;18(6):46–53. (In Russ).]
7. Song H, Yoo Y, Hwang J, et al. Faecal bacterium *prausnitzii* subspecies-level dysbiosis in the human gut microbiome underlying atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;137(3):852–860. doi: 10.1016/j.jaci.2015.08.021
8. Dong P, Feng J-J, Yan D-Y, et al. Early-life gut microbiome and cow's milk allergy — a prospective case-control 6-month follow-up study. *Saudi J Biol Sci.* 2018;25(5):875–880. doi: 10.1016/j.sjbs
9. Hu C, van Meel ER, Medina-Gomez C, et al. A population-based study on associations of stool microbiota with atopic diseases in school-age children. *J Allergy Clin Immunol.* 2021;148(2):612–620. doi: 10.1016/j.jaci.2021.04.001
10. Marrs T, Jo JH, Perkin MR, et al. Gut microbiota development during infancy: Impact of introducing allergenic foods. *J Allergy Clin Immunol.* 2021;147(2):613–621.e9. doi: 10.1016/j.jaci.2020.09.042
11. Юдина Ю.В., Аминова А.И., Продеус А.П. и др. Особенности микробиоты кишечника у детей в возрасте 1–5 лет с атопическим дерматитом // *Вопросы детской диетологии.* — 2021. — Т. 19. — № 2. — С. 5–13. [Yudina YV, Aminova AI, Prodeus AP, et al. Features of the gut microbiota of children aged 1–5 years with atopic dermatitis. *Pediatric Nutrition.* 2021;19(2):5–13. (In Russ).] doi: 10.20953/1727-5784-2021-2-5-13
12. Юдина Ю.В., Аминова А.И., Продеус А.П. и др. Как микробиота кишечника влияет на «аллергологический портрет» ребенка // *Вопросы практической педиатрии.* — 2021. — Т. 16. — № 3. — С. 35–43. [Yudina YV, Aminova AI, Prodeus AP, et al. Intestinal microbiota and the “allergic phenotype” in children. *Clinical Practice in Pediatrics.* 2021;16(3):35–43. (In Russ).] doi: 10.20953/1817-7646-2021-2-35-43
13. Hugerth LW, Andersson AF. Analysing Microbial Community Composition through Amplicon Sequencing: From Sampling to Hypothesis Testing. *Front Microbiol.* 2017;8:1561. doi: 10.3389/fmicb.2017.01561
14. Merkel AYU, Tarnovetskii IYu, Podosokorskaya OA, Toshchakov SV. Analysis of 16S rRNA primer systems for profiling of thermophilic microbial communities. *Microbiology.* 2019;88(6):671–680.
15. Bolyen E, Rideout JR, Dillon MR, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat Biotechnol.* 2019;37(8):852–857. doi: 10.1038/s41587-019-0209-9. Erratum in: *Nat Biotechnol.* 2019;37(9):1091. doi: 10.1038/s41587-019-0252-6.
16. Зольникова О.Ю. Микробиота кишечника и дыхательных путей как патогенетическое звено бронхиальной астмы: дис. ... докт. мед. наук. — М.; 2020. — 209 с. [Zol'nikova OYu. *Mikrobiota kishechnika i dykhatel'nykh putei kak patogeneticheskoe zveno bronkhial'noi astmy.* [dissertation]. Moscow; 2020. 209 p. (In Russ).]
17. Ho TTB, Groer MW, Kane B, et al. Dichotomous development of the gut microbiome in preterm infants. *Microbiome.* 2018;6(1):157. doi: 10.1186/s40168-018-0547-8
18. Binda C, Lopetuso LR, Rizzatti G, et al. Actinobacteria: A relevant minority for the maintenance of gut homeostasis. *Dig Liver Dis.* 2018;50(5):421–428. doi: 10.1016/j.dld.2018.02.012
19. Björkander S, Carvalho-Queiroz C, Hallberg J, et al. Childhood allergy is preceded by an absence of gut lactobacilli species and higher levels of atopy-related plasma chemokines. *Clin Exp Immunol.* 2020;202(3):288–299. doi: 10.1111/cei.13494
20. Wopereis H, Sim K, Shaw A, et al. Intestinal microbiota in infants at high risk for allergy: Effects of prebiotics and role in eczema development. *J Allergy Clin Immunol.* 2018;141(4):1334–1342.e5. doi: 10.1016/j.jaci
21. Berni Canani R, De Filippis F, Nocerino R, et al. Gut microbiota composition and butyrate production in children affected by non-IgE-mediated cow's milk allergy. *Sci Rep.* 2018;8(1):12500. doi: 10.1038/s41598-018-30428-3
22. Stephen-Victor E, Chatila TA. Regulation of oral immune tolerance by the microbiome in food allergy. *Curr Opin Immunol.* 2019;60:141–147. doi: 10.1016/j.coi.2019.06.001.
23. Macchione IG, Lopetuso LR, Ianiro G, et al. Akkermansia muciniphila: key player in metabolic and gastrointestinal disorders. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2019;23(18):8075–8083. doi: 10.26355/eurrev_201909_19024
24. Sroka-Oleksiak A, Młodzińska A, Bulanda M, et al. Metagenomic Analysis of Duodenal Microbiota Reveals a Potential Biomarker of Dysbiosis in the Course of Obesity and Type 2 Diabetes: A Pilot Study. *J Clin Med.* 2020;9(2):369. doi: 10.3390/jcm9020369
25. Furrie E, Macfarlane S, Cummings JH, Macfarlane GT. 2004. Systemic antibodies towards mucosal bacteria in ulcerative colitis and Crohn's disease differentially activate the innate immune response. *Gut.* 2004;53(1):91–98. doi: 10.1136/gut.53.1.91

26. Zheng H, Liang H, Wang Y, et al. Altered Gut Microbiota Composition Associated with Eczema in Infants. *PLoS One*. 2016;11(11):e0166026. doi: 10.1371/journal.pone.0166026

27. Mondot S, Kang S, Furet JP, et al. Highlighting New Phylogenetic Specificities of Crohn's Disease Microbiota. *Inflamm Bowel Dis*. 2011;17(1):185–192. doi: 10.1002/ibd.21436

28. Galazzo G, van Best N, Bervoets L, et al. Development of the Microbiota and Associations With Birth Mode, Diet,

and Atopic Disorders in a Longitudinal Analysis of Stool Samples, Collected From Infancy Through Early Childhood. *Gastroenterology*. 2020;158(6):1584–1596. doi: 10.1053/j.gastro.2020.01.024

29. Ferreira-Halder CV, Faria AVS, Andrade SS. Action and function of *Faecalibacterium prausnitzii* in health and disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2017;31(6):643–648. doi: 10.1016/j.bpg.2017.09.011

Статья поступила: 26.06.2021, принята к печати: 18.10.2021
The article was submitted 26.06.2021, accepted for publication 18.10.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Юдина Юлия Владимировна [Julia V. Yudina]; адрес: Российская Федерация, 123317, Москва, Шмитовский проезд, 29 [address: 29 Shmitovsky Ave. 123317, Moscow, Russian Federation]; **телефон:** +7 (499) 259-47-32, **e-mail:** yuliyayudina1989@mail.ru; **eLibrary SPIN:** 7896-0260

Корсунский Анатолий Александрович, д.м.н., профессор [Anatoly A. Korsunskiy, MD, PhD, Professor]; **адрес:** Российская Федерация, 123317, Москва, Шмитовский проезд, 29 [address: 29 Shmitovsky Ave. 123317, Moscow, Russian Federation]; **телефон:** +7 (499) 256-21-62, **e-mail:** dgkb9@zdrav.mos.ru; **AuthorID:** 493678

Продеус Андрей Петрович, д.м.н., профессор [Andrey P. Prodeus, MD, PhD, Professor]; **адрес:** Российская Федерация, 123317, Москва, Шмитовский проезд, 29 [address: 29 Shmitovsky Ave. 123317, Moscow, Russian Federation]; **телефон:** + 7 (499) 259-13-07, **e-mail:** prodeus@mail.ru; **AuthorID:** 553740

Аминова Альфия Иршадовна, д.м.н., профессор [Alfia I. Aminova, MD, PhD, Professor]; **адрес:** Российская Федерация, 119992, Москва, ул. Большая Пироговская, 19 [address: 19 Bolshaya Pirogovskaya, Str., 119992, Moscow, Russian Federation]; **телефон:** +7 (499) 248-88-41, **e-mail:** aminova62@yandex.ru; **eLibrary SPIN:** 2529-8975

РОТАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ

Серия «Болезни детского возраста от А до Я»

Авторы: А.А. Баранов, М.К. Бехтерева, Н.И. Брико и др.
М.: ПедиатрЪ, 2021. — 52 с.

Руководство для врачей посвящено проблеме ротавирусной инфекции, являющейся основной причиной гастроэнтеритов у детей в возрасте младше 5 лет. Отечественными экспертами представлены актуальные данные по эпидемиологии ротавирусной инфекции как в Российской Федерации, так и во всем мире, освещены вопросы этиологии и патогенеза. С позиций доказательной медицины рассматриваются методы лечения и профилактики. Подробно изложена организация проведения вакцинации против ротавирусной инфекции — единственного эффективного метода контроля уровня заболеваемости.

