

## ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА У БОЛЬНЫХ ЮВЕНИЛЬНЫМ ИДИОПАТИЧЕСКИМ АРТРИТОМ

М. В. Поросюк, Д. Д. Клементьев, Н. А. Ходов, Л. Н. Гуменюк ✉, Э. С. Эсатова, Е. В. Середина, К. С. Четверухина-Малова, Е. В. Сарчук, С. В. Иванов

Медицинская академия имени С. И. Георгиевского, Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского, Симферополь, Россия

На сегодняшний день остается актуальной проблема взаимосвязи микробиоты кишечника и ювенильного идиопатического артрита (ЮИА). Целью исследования было изучить изменения таксономического состава микробиоты кишечника и оценить на уровне родов характер их взаимосвязи с кортизолом, мелатонином и TNF $\alpha$  у больных ЮИА. В одномоментном сравнительном исследовании приняли участие 65 больных ЮИА (основная группа) и 60 здоровых детей (контрольная группа). Оценивали таксономический состав микробиоты кишечника, уровни кортизола, мелатонина и TNF $\alpha$  в плазме крови. У больных ЮИА обнаружены изменения таксономического состава микробиоты кишечника: статистически значимое снижение численности *Anaerostipes* ( $p = 0,042$ ), *Lachnospira* ( $p = 0,034$ ), *Roseburia* ( $p = 0,002$ ), *Coprococcus* ( $p = 0,014$ ), *Dialister* ( $p = 0,003$ ) и повышение численности *Ruminococcus* ( $p = 0,012$ ). Установлена статистически значимая корреляция значений кортизола с уровнем бактерий *Lachnospira* ( $r = -0,44$ ;  $p = 0,001$ ), концентрации мелатонина и уровнем бактерий *Coprococcus* ( $r = -0,48$ ;  $p = 0,023$ ), значений TNF $\alpha$  и уровнем бактерий *Ruminococcus* ( $r = 0,52$ ;  $p = 0,001$ ). Также выявлена сопряженность численности бактерий *Lachnospira*, *Roseburia* и *Ruminococcus* с более высокими показателями по DAS28 ( $r = -0,57$ ;  $p = 0,002$ ;  $r = -0,44$ ;  $p = 0,002$ ;  $r = 0,54$ ;  $p = 0,032$  соответственно). Результаты предоставляют дополнительные данные об особенностях изменений микробиоты кишечника и их связи с некоторыми гормональными и воспалительными биомаркерами при ЮИА, что может стать обоснованием для проведения дальнейших исследований, а также, возможно, открывает новые подходы к терапии этого заболевания.

**Ключевые слова:** ювенильный идиопатический артрит, микробиота кишечника, кортизол, мелатонин, TNF $\alpha$

**Вклад авторов:** М. В. Поросюк, Д. Д. Клементьев — сбор, анализ и интерпретация данных; Л. Н. Гуменюк — идея и дизайн исследования; Н. А. Ходов, Э. С. Эсатова, Е. В. Середина — статистическая обработка данных; К. С. Четверухина-Малова, Е. В. Сарчук, С. В. Иванов — подготовка статьи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом Крымской медицинской академии имени С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского» (протокол № 10 от 16 ноября 2020 г.), спланировано и проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией. Все лица, включенные в исследование, подписали добровольное информированное согласие.

✉ **Для корреспонденции:** Леся Николаевна Гуменюк  
буль. Ленина, 5/7, г. Симферополь, 295006, Республика Крым; lesya\_gumenyuk@mail.ru

**Статья получена:** 01.11.2022 **Статья принята к печати:** 29.11.2022 **Опубликована онлайн:** 19.12.2022

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2022.060

## GUT MICROBIOTA ALTERATIONS IN PATIENTS WITH JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS

Porosyuk MV, Klementiev DD, Hodov NA, Gumenyuk LN ✉, Esatova ES, Sereda EV, Chetveruhina-Malova KS, Sarchuk EV, Ivanov SV

Georgievsky Medical Academy, Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia

Currently, the issue of the relationship between gut microbiota and juvenile idiopathic arthritis (JIA) is still relevant. The study was aimed to assess alterations in the gut microbiota taxonomic composition and estimate the relationship between these alterations and cortisol, melatonin, and TNF $\alpha$  at the genus level in patients with JIA. The comparative cross-sectional study involved 65 patients with JIA (index group) and 60 healthy children (control group). The gut microbiota taxonomic composition and plasma levels of cortisol, melatonin, and TNF $\alpha$  were assessed. The following alterations of the gut microbiota taxonomic composition were found in patients with JIA: the significantly decreased abundance of *Anaerostipes* ( $p = 0.042$ ), *Lachnospira* ( $p = 0.034$ ), *Roseburia* ( $p = 0.002$ ), *Coprococcus* ( $p = 0.014$ ), *Dialister* ( $p = 0.003$ ) and the increase in the abundance of *Ruminococcus* ( $p = 0.012$ ). There were significant correlations of cortisol levels with the abundance of *Lachnospira* ( $r = -0.44$ ;  $p = 0.001$ ), melatonin concentrations and the abundance of *Coprococcus* ( $r = -0.48$ ;  $p = 0.023$ ), the levels of TNF $\alpha$  and the abundance of *Ruminococcus* ( $r = 0.52$ ;  $p = 0.001$ ). The association of the *Lachnospira*, *Roseburia*, and *Ruminococcus* abundance with the higher DAS28 scores was discovered ( $r = -0.57$ ;  $p = 0.002$ ;  $r = -0.44$ ;  $p = 0.002$ ;  $r = 0.54$ ;  $p = 0.032$ , respectively). The findings provide additional information about the features of gut microbiota alterations and their correlation with some hormone and inflammatory biomarkers associated with JIA, that could provide the basis for further research and possibly for new approaches to treatment of this disorder.

**Keywords:** juvenile idiopathic arthritis, gut microbiota, cortisol, melatonin, TNF $\alpha$

**Author contribution:** Porosyuk MV, Klementiev DD — data acquisition, analysis, and interpretation; Gumenyuk LN — study concept and design; Hodov NA, Esatova ES, Sereda EV — statistical data processing; Chetveruhina-Malova KS, Sarchuk EV, Ivanov SV — manuscript writing

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the S.I. Georgievsky Medical Academy, V. I. Vernadsky Crimean Federal University (protocol № 10 of 16 November 2020), planned and conducted in accordance with the Declaration of Helsinki. The informed consent was submitted by all the subjects enrolled.

✉ **Correspondence should be addressed:** Lesya N. Gumenyuk  
Lenina bulvar, 5/7, Simferopol, 295006, Republic of Crimea; lesya\_gymenyuk@mail.ru

**Received:** 01.11.2022 **Accepted:** 29.11.2022 **Published online:** 19.12.2022

**DOI:** 10.24075/brsmu.2022.060

Ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) — артрит неизвестной этиологии, длительностью более шести недель, возникающий у детей в возрасте до 16 лет [1]. Заболеваемость ЮИА в мире варьирует от 0,8 до 22,6 случаев на 100 000 детей в год, уровень распространенности составляет 7–401 случай на 100 000 детей в год [2]. В связи

с значительной распространенностью, существенным снижением качества жизни детей и высоким уровнем ранней инвалидизации [3] ЮИА остается одной из актуальных медико-социальных проблем.

Доказано, что ЮИА — мультифакториальное заболевание, патофизиология которого сложна и недостаточно

изучена. В свете современных представлений одним из центральных звеньев патологического процесса при ЮИА является абберантное продуцирование цитокинов, сопровождаемое дисрегуляцией иммунного ответа [4]. В данном аспекте особый интерес представляет фактор некроза опухоли альфа (TNF $\alpha$ ), рассматриваемый рядом авторов как «ранний» цитокин, появляющийся в дебюте воспалительной реакции [5] и играющий значимую роль в хронизации патологического процесса [6]. Есть данные, что у больных ЮИА уровень TNF $\alpha$  ассоциирован с активностью воспаления, в том числе связан с деструкцией хряща и кости, потерей костной ткани [5], а значительно повышенный плазменный уровень TNF $\alpha$  служит предиктором развития тяжелого осложнения — синдрома активации макрофагов [5]. Вместе с тем иммунная система тесно сопряжена с нейроэндокринной. В литературе активно обсуждают глубокую вовлеченность дисрегуляции эпифизарно-гипофизарно-надпочечниковой оси в механизмы формирования и прогрессирования клинических симптомов ЮИА, и особое значение при этом имеют изменения секреции мелатонина и кортизола [7, 8]. Оценка гормонального профиля крови у больных ЮИА позволила обнаружить повышенный уровень кортизола и сниженный уровень мелатонина [7, 8]. Кроме того, повышенный уровень кортизола был связан с клиническими маркерами воспаления [8], в то время как для мелатонина выявлена ассоциация с активностью процесса, показателем скорости оседания эритроцитов (СОЭ) и уровнем иммуноглобулина М [8].

Современные исследования свидетельствуют о роли кишечной микробиоты в развитии и прогрессировании ЮИА, что обусловлено ее ключевой ролью в нейро-иммунно-эндокринной регуляции. Так, для больных ЮИА характерны изменение микробного ландшафта и дисбаланс представителей кишечной микробиоты [9–11], некоторые из которых значительно коррелируют с такими воспалительными биомаркерами, как антитела к циклическому цитруллиновому пептиду, ревматоидный фактор и С-реактивный белок [12]. Кроме того, некоторые микробные представители присутствуют в синовиальной жидкости больных ревматоидным артритом [13] и ткани печени людей и мышей [14], что может вызывать аутоиммунные реакции [13, 14]. Наконец, показано, что лечение дисбиоза кишечной микробиоты специальной четырехнедельной углеводной диетой способствовало снижению плазменного уровня TNF $\alpha$ , количества воспаленных суставов, выраженности болевого синдрома, утренней скованности и повышению физической активности у больных ЮИА [15]. Однако многие аспекты взаимосвязи между микробиотой кишечника с воспалительными и гормональными биомаркерами у больных ЮИА остаются не до конца изученными. Отсутствуют сведения о взаимосвязи между представителями микробиоты кишечника и уровнями кортизола, мелатонина и TNF $\alpha$  при ЮИА.

Таким образом, проблема взаимосвязи микробиоты кишечника и ЮИА остается актуальной. Цель исследования — изучить изменения таксономического состава микробиоты кишечника и оценить на уровне родов характер их взаимосвязи с кортизолом, мелатонином и TNF $\alpha$  у больных ЮИА.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В сравнительном одномоментном исследовании приняли участие 65 пациентов с ЮИА (основная группа) (39 девочек

(60,0%), 26 мальчиков (40,0%); средний возраст — 10,3 [3,1; 11,6] лет), обратившихся за помощью в Детскую поликлинику № 1 и Детскую поликлинику № 3 (г. Симферополь, Республика Крым), и 60 здоровых детей (контрольная группа, КГ) (35 девочек (58,3%), 25 мальчиков (41,7%); средний возраст — 9,9 [3,2; 11,8] лет), проходивших ежегодный профилактический медицинский осмотр на базе медицинского центра «Гемокод» (г. Симферополь, Республика Крым), соответствующих критериям включения и исключения.

Критерии включения: наличие впервые верифицированного диагноза ЮИА; возраст детей — от 1 до 16 лет; длительность ЮИА — от 6 недель до 6 месяцев; отсутствие лечения нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВП), генно-инженерными биологическими препаратами (ГИБП) и стероидами; наличие информированного согласия родителей на участие ребенка в исследовании.

Критерии исключения: наличие системного ЮИА, дефицита [16] — представлены критерии верификации дефицита массы тела у детей или избыточной массы тела [17]; сопутствующие соматические заболевания; синдром раздраженного кишечника; хронические заболевания желудочно-кишечного тракта, печени; бактериальные, вирусные и грибковые инфекционные заболевания; психические расстройства; наличие нарушений стула (запоры / диарея) в предшествующий месяц до начала исследования; прием антибиотиков, пробиотиков, пребиотиков, противовирусных, симбиотических или кислотоподавляющих препаратов в предшествующие три месяца до начала исследования; прием препаратов, влияющих на стул в предшествующий месяц до начала исследования; отказ от участия в исследовании.

Критерии включения здоровых добровольцев: возраст от 1 до 16 лет; отсутствие хронических заболеваний и аллергических реакций; частота респираторных заболеваний не больше трех раз в год; отсутствие инфекционных и острых заболеваний в течение двух предыдущих месяцев перед исследованием; отсутствие нарушений стула (запоры / диарея) в предшествующий месяц до начала исследования; отказ от приема пробиотиков, пребиотиков, симбиотических препаратов в предшествующие три месяца до начала исследования; отказ от приема препаратов, влияющих на стул в предшествующий месяц до начала исследования; отсутствие психических расстройств в анамнезе; наличие информированного согласия родителей на участие ребенка в исследовании.

Критерии исключения здоровых детей: температура тела выше 36,9 °С; отказ от участия в исследовании.

Верификацию диагноза ЮИА проводили согласно классификационным критериям Всемирной лиги ревматологических ассоциаций (ILAR) второго пересмотра (2001 г.) [18]. С целью объективизации степени активности заболевания мы использовали индекс активности заболевания (Disease activity score, DAS) для 28 суставов (DAS28): ремиссия — < 2, 6 баллов; низкая активность — 2,6–3,0 баллов; 3,1–5,0 баллов — умеренная активность; 5,1 и более баллов — высокая активность заболевания [19].

Для анализа таксономического состава микробиоты кишечника были взяты образцы кала утром в день госпитализации (с 8.00 до 11.00), которые замораживали и хранили в одноразовых пластиковых контейнерах при температуре –80 °С до проведения метагеномного анализа. Выделение тотальной ДНК проводили методом фенольной

Таблица 1. Характеристика больных ЮИА и здоровых детей

Показатель	Больные ЮИА (n = 65)	Контрольная группа (n = 60)
Девочки/мальчики, n (%)	39 (60,0)/26 (40,0)	35 (58,3)/25 (41,7)
Средний возраст, годы, медиана [25%; 75%]	10,3 [3,1; 11,6]	9,9 [3,2; 11,8]
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup> , медиана [25%; 75%]	16,2 [15,1; 18,3]	16,6 [15,7; 18,1]

экстракции. Амплификацию фрагментов вариабельных регионов V3–V4 гена 16S рПНК осуществляли с использованием универсальных праймеров. Анализ V3–V4 региона 16S рПНК кишечной микробиоты проводили на секвенаторе SOLiD5500 Wildfire (Applied Biosystems; США) методом парно-концевого чтения с суммарным покрытием не менее 10 000 пар ридов на образец [20].

Фильтрацию прочтений по качеству и их таксономическую классификацию проводили с помощью программного обеспечения QIIME версии 1.9.1 [21]. Для определения таксономической принадлежности прочтений применяли подход, включающий в себя использование двух таксономических баз данных. На первом этапе осуществляли подбор референсного набора операционных таксономических единиц (ОТЕ) бактерий на основании сравнения полученных прочтений генов 16S рПНК с базой данных GreenGenes версии 13.5 [22]. На втором этапе с использованием алгоритма RDP определение таксономической принадлежности данных ОТЕ проводили на основе специализированной базы данных кишечной микробиоты человека HITdb [23].

Изучение качественного и количественного состава микробиоты кишечника осуществляли на основании определения видов, родов и фил микроорганизмов. Оценку  $\alpha$ -разнообразия сообщества путем расчета индекса Chao1, показателя числа обнаруженных таксонов (Sobs), показателя, оценивающего реальное количество таксонов (ACE), проводили с помощью программы Mothur v.1.22.0 (<http://www.mothur.org>).

Уровни кортизола, мелатонина и TNF $\alpha$  в сыворотке крови изучали с помощью твердофазного иммуоферментного анализа, применяя тест-системы («Вектор-Бест», Россия; и Immuno Biological Laboratories, Германия). Забор крови выполняли из кубитальной вены утром (7.00–9.00) натощак в состоянии покоя (не менее 15 мин).

Статистическую обработку проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 8.0 (StatSoft. Inc.; USA). При нормальном распределении показателей определяли среднее значение и стандартное отклонение; при распределении, отличном от нормального, — медиану, 25-й и 75-й процентиля. Нормальность распределения проверяли при помощи распределения Гаусса. Для

качественных признаков определяли долю и абсолютное количество значений. Сравнительный анализ для нормально распределенных количественных признаков проводили с помощью параметрического *t*-критерия Стьюдента, при распределении, отличном от нормального, — с помощью *U*-критерия Манна–Уитни, для качественных признаков — с помощью критерия  $\chi^2$  (хи-квадрат). Для оценки взаимосвязи признаков рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена. Применяли также корреляционный анализ и множественную ранговую корреляцию, достоверность корреляционных связей проверяли при помощи таблиц достоверности корреляции. Для корректировки множественных сравнений использовали поправки Bonferroni. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика больных ЮИА и здоровых детей представлена в табл. 1. Группы были сопоставимы по полу ( $p = 0,97$ ;  $\chi^2$ ), возрасту ( $p = 0,92$ ;  $\chi^2$ ) и индексу массы тела ( $p = 0,054$ ;  $\chi^2$ ).

Клиническая характеристика больных ЮИА представлена в табл. 2. Среди больных преобладали дети с олигоартритом и низкой активностью воспалительного процесса.

При изучении таксономического состава микробиоты кишечника у больных ЮИА по сравнению с детьми КГ выявлено статистически значимое снижение  $\alpha$ -разнообразия бактериального сообщества (индекс Chao1;  $p = 0,017$ ). Индексы ACE и Sobs в группе больных ЮИА по сравнению с КГ также были несколько снижены, при этом статистически значимых различий не найдено ( $p = 0,055$ ;  $p = 0,049$  соответственно) (рис. 1).

При сравнении родового состава кишечной микробиоты в группах обследованных установлено, что у больных ЮИА по сравнению с КГ статистически значимо снижена численность *Anaerostipes* ( $p = 0,042$ ), *Lachnospira* ( $p = 0,034$ ), *Roseburia* ( $p = 0,002$ ), *Coprococcus* ( $p = 0,014$ ), *Dialister* ( $p = 0,003$ ) и повышена численность *Ruminococcus* ( $p < 0,001$ ) (рис. 2).

У больных ЮИА по сравнению с детьми КГ плазменные значения кортизола и TNF $\alpha$  были статистически значимо

Таблица 2. Клиническая характеристика больных ювенильным идиопатическим артритом

Показатель	Больные ЮИА (n = 65)
Продолжительность заболевания, месяцы (M $\pm$ SD)	2,5 $\pm$ 1,5
Олигоартрит, n (%)	38 (58,5)
Полиартрит, n (%)	27 (41,5)
Ревматоидный фактор (+), n (%)	8 (12,3)
АЦЦП (+), n (%)	5 (7,7)
Низкая активность по DAS28, n (%)	49 (75,3)
Умеренная активность по DAS28, n (%)	12 (18,5)
Высокая активность по DAS28, n (%)	4 (6,2)
Итоговый показатель по DAS28, медиана [25%; 75%]	3,4 [2,9; 4,2]

Примечание: АЦЦП — антитела к циклическому цитруллинированному пептиду

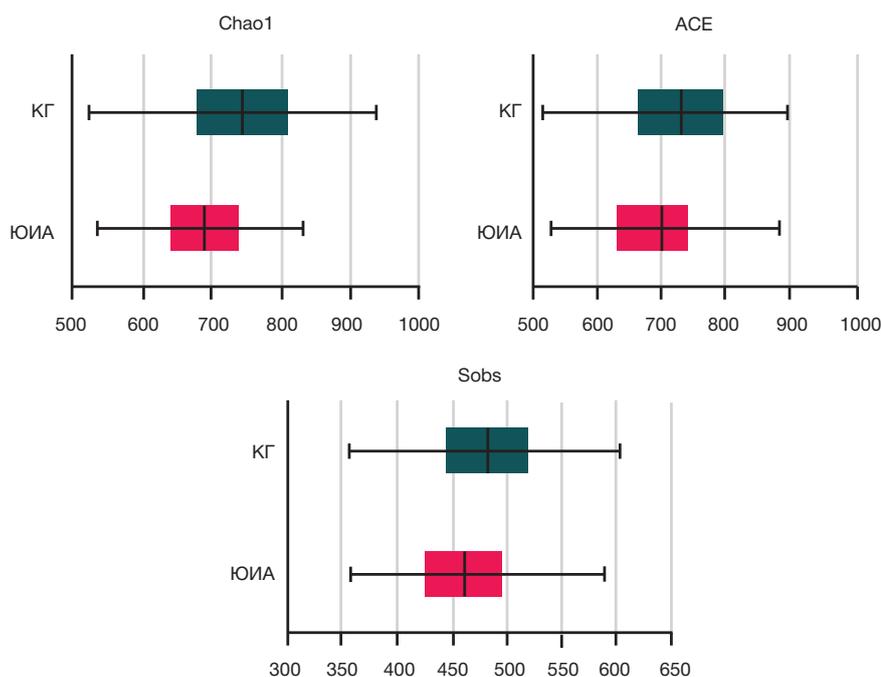


Рис. 1. Сравнительный анализ филогенетического состава микробиоты кишечника у больных ювенильным идиопатическим артритом и здоровых детей. ЮИА — ювенильный идиопатический артрит, КГ — контрольная группа

выше, а уровень мелатонина статистически значимо ниже (табл. 3).

Получены статистически значимые корреляционные связи значений кортизола и итогового показателя по DAS 28 с численностью бактерий *Lachnospira* ( $r = -0,44$  при  $p = 0,001$ ;  $r = -0,57$  при  $p = 0,002$  соответственно). Удалось также установить связь между уровнем мелатонина и численностью бактерий *Coprococcus* ( $r = -0,48$ ;  $p = 0,023$ ). Выявлены взаимосвязи уровня  $\text{TNF}\alpha$  и итогового показателя по DAS 28 с численностью бактерий *Ruminococcus* ( $r = 0,52$  при  $p = 0,001$ ;  $r = 0,54$  при  $p = 0,032$  соответственно). Итоговый показатель по DAS 28 имел обратную корреляционную связь с численностью бактерий *Roseburia* ( $r = -0,44$ ;  $p = 0,002$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящем исследовании уточнены изменения таксономического состава микробиоты кишечника и изучена на уровне родов их связь с плазменными уровнями кортизола, мелатонина и  $\text{TNF}\alpha$  в группе больных ЮИА.

В ряде ранее выполненных работ сообщается об изменении состава микробиоты кишечника у больных ЮИА [9–11]. Результаты настоящего исследования тоже показали, что состав микробиоты кишечника у больных ЮИА значительно отличается от такового у здоровых детей. По нашим данным, у больных ЮИА по сравнению со здоровыми детьми наблюдается более низкое бактериальное  $\alpha$ -разнообразие, что согласуется с результатами ранее выполненных исследований [9, 10]. Кроме того, у больных ЮИА дисбиотические изменения кишечника характеризовались снижением численности бактерий с иммуномодулирующим потенциалом (представителей рода *Anaerostipes*, *Lachnospira*, *Roseburia*, *Coprococcus* и *Dialister*), которые, как известно, продуцируют короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК) (бутират и пропионат). Снижение уровня последних приводит к активации гистондеацетилазы и ингибированию G-белковых рецепторов GPR41, GPR43 и GPR109A,

что способствует развитию хронического воспаления [24]. В то же время мы обнаружили повышенную численность потенциальных патобионтов — бактерий рода *Ruminococcus*. Полученные нами результаты частично соотносятся с данными ряда других ранее выполненных работ. Например, снижение относительной численности бактерий *Anaerostipes* и *Lachnospira* было характерно для больных ЮИА [11, 25], но эти данные противоположны результатам, наблюдаемым у пациентов с ревматоидным артритом [26]. В другой работе снижение численности *Anaerostipes*, *Lachnospira* и *Roseburia* было характерно для пациентов с COVID-19 [9]. В отличие от наших данных, в

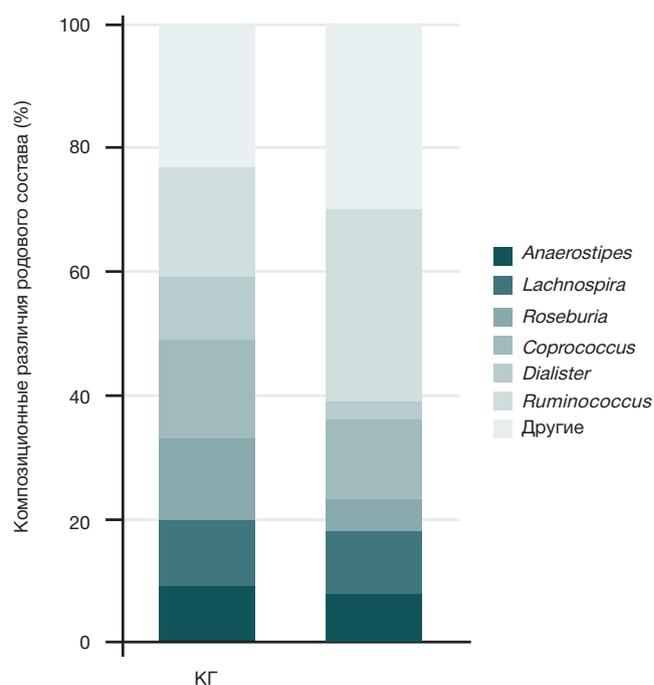


Рис. 2. Сравнительный анализ родового состава микробиоты кишечника у больных ЮИА и здоровых детей. ЮИА — ювенильный идиопатический артрит, КГ — контрольная группа

Таблица 3. Сравнительный анализ показателей кортизола, мелатонина и TNF $\alpha$  в плазме крови у больных ЮИА и здоровых детей

Показатель	Больные ЮИА (n = 65)	Контрольная группа (n = 60)	p
Кортизол, нмоль/л (m $\pm$ CD)	617,5 $\pm$ 17,6	326,1 $\pm$ 30,8	p < 0,001
Мелатонин, пг/мл (m $\pm$ CD)	21,1 $\pm$ 6,1	35,5 $\pm$ 9,2	p = 0,038
TNF $\alpha$ , пг/мл (m $\pm$ CD)	63,3 $\pm$ 1,8	4,6 $\pm$ 0,3	p < 0,001

Примечание: p — статистическая значимость различий показателей между группой ЮИА и контрольной группой.

работе [27] указывалось на повышение относительной численности *Dialister* у больных ЮИА. Контрастирование полученных результатов может быть обусловлено тем фактом, что, во-первых, исследования выполнены в различных географических регионах, а во-вторых, в отличие от вышеуказанных авторов, мы включали детей в КГ, сопоставимых с больными ЮИА по возрасту, полу и индексу массы тела, так как доказано влияние этих факторов на состав микробиоты кишечника. Кроме того, мы не включали больных ЮИА, которые принимали НПВП, ГИБП, стероидные и антибактериальные препараты с целью нивелирования их влияния на результаты исследования.

Несмотря на то что некоторые идентифицированные нами бактерии могут быть общими для ряда других кишечных и системных заболеваний, обнаруженная в настоящей работе сопряженность сниженного содержания бактерий *Lachnospira* и *Roseburia* и повышенного содержания бактерий *Ruminococcus* с более высокими показателями по DAS28 позволяет предположить, что изменения численности этих бактерий могут быть характерными для данной когорты больных ЮИА, а также быть основанием для рассмотрения их в качестве предикторов прогрессирования заболевания. Установленные нами ассоциации мы сопоставили с результатами ранее выполненных исследований. Так, у детей с ЮИА, поступивших на стационарное лечение в больницы провинции Чжэцзян, представленность *Lachnospira* и *Roseburia* обратно коррелировала с активностью заболевания, показателями АЦЦП и СОЭ [9]. Основываясь на данных о причинно-следственных связях между дисбиозом кишечника и метаболическими заболеваниями [28], можно предположить, что при ЮИА могут наблюдаться следующие последовательные трансформации: изменения микробиоты кишечника, а именно сокращение обилия бактерий, продуцирующих КЦЖК — снижение концентрации КЦЖК — иммунные дисфункции и, в итоге, развитие заболевания. Кроме того, возможно, что терапевтическое повышение численности *Lachnospira* и *Roseburia* и снижение численности *Ruminococcus* могут быть эффективными в отношении смягчения тяжести заболевания, однако для подтверждения данной гипотезы необходимо проведение дополнительных исследований с соответствующим дизайном.

Как указывалось ранее, у больных ЮИА обнаруживают значительно повышенные уровни кортизола, мелатонина и TNF $\alpha$ , роль которых в развитии и прогрессировании заболевания доказана [7, 8]. Результаты нашего исследования не расходятся с литературными данными: у больных ЮИА по сравнению со здоровыми детьми установлены статистически значимые различия в уровне кортизола, мелатонина и TNF $\alpha$ . Примечательно, что некоторые представители микробиоты кишечника у больных ЮИА ассоциированы с уровнями в плазме изученных биомаркеров; это может свидетельствовать о наличии

связи состава и численности микробиоты кишечника с этим заболеванием. Обратный характер ассоциации с плазменным уровнем кортизола был продемонстрирован для рода *Lachnospira*, что подтверждает вероятность активного участия этих бактерий в дисрегуляции активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (ГГНО) при ЮИА. Мы не встретили работ, посвященных изучению связи между микробиотой кишечника и кортизолом у больных ЮИА. Вместе с тем есть сообщение, что у здоровых детей в возрасте 8–16 лет *Lachnospira* обратно коррелировала с продукцией кортизола [29]. Аналогичные данные представлены в работе [30]: снижение численности бактерий *Lachnospira* было сопряжено с более высоким уровнем кортизола у младенцев. В литературе нами было найдено возможное объяснение данной зависимости. Известно, что *Lachnospira* является одной из основных бутират-продуцирующих бактерий. В свою очередь КЦЖК способны влиять на синтез кортизола: семидневное введение физиологических доз КЦЖК непосредственно в толстую кишку приводило к повышению их содержания в системном кровотоке и ослаблению реакции кортизола на острый психосоциальный стресс у здоровых мужчин [31]. Обнаружено, что пероральное введение КЦЖК (67,5 мМ ацетата, 25 мМ пропионата и 25 мМ бутирата) в течение 7 дней у мышей способствовало ингибированию потенцированной острым стрессом секреции кортикостерона [32]. Поскольку КЦЖК способны пересекать гематоэнцефалический барьер (через циркумвентрикулярные органы), можно предположить, что они участвуют в модуляции активности ГГНО путем непосредственного влияния на секреторный тонус в гипофизарных нейронах медиального паравентрального ядра [33].

Выявлена сопряженность показателя мелатонина и численности бактерий *Coprococcus*, что может быть опосредовано блокировкой сигналов в системе p-CREB-связывающего белка — арилалкиламин-N-ацетилтрансферазы за счет снижения секреции триптофана [34], являющегося предшественником серотонина, из которого в последующем синтезируется мелатонин. В литературе нами была найдена подобная ассоциация у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа, что подтверждалось прямыми тесными корреляциями представленности *Coprococcus* с уровнями метаболитов триптофана и плазменного мелатонина [35].

Полученная в нашем исследовании прямая сильная корреляция уровня TNF $\alpha$  с численностью бактерий *Ruminococcus* позволяет предположить негативную роль последних в иммуногенезе ЮИА. Это можно объяснить следующим образом: воспалительный липополисахарид глюкорамнан, синтезируемый бактериями *Ruminococcus*, посредством активации TLR4-опосредованных реакций индуцирует выработку провоспалительных цитокинов, таких как TNF $\alpha$  и IL6, дендритными клетками костного мозга [36].

## ВЫВОДЫ

У больных ЮИА выявлены выраженные нарушения численности и таксономического состава микробиоты кишечника. Обнаруженные статистически значимые корреляции некоторых представителей микробиоты с DAS28 и гормональными, воспалительными биомаркерами свидетельствуют в пользу концепции о связи между

численностью и составом микробиоты кишечника и ЮИА. Необходимы дальнейшие исследования для подтверждения значимой роли микробиоты кишечника в патогенезе ЮИА. Актуальным остается вопрос о связи измененной микробиоты кишечника с гормональными биомаркерами. Целенаправленная коррекция микробиоты кишечника может способствовать повышению эффективности терапии ЮИА.

## Литература

- Rigante D, Bosco A, Esposito S. The Etiology of Juvenile Idiopathic Arthritis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2015; 49 (2): 253-61. DOI: 10.1007/s12016-014-8460-9.
- Shiff NJ, Oen K, Kroeker K, Lix LM. Trends in population-based incidence and prevalence of juvenile idiopathic arthritis in Manitoba, Canada. *Arthritis Care Res*. 2019; 71 (3): 413-8.
- Гуменюк Л. Н., Кабатова И. Н. Особенности качества жизни больных ювенильным ревматоидным артритом на санаторно-курортном лечении. *Таврический медико-биологический вестник*. 2017; 20 (2): 32-35.
- Raghavendra VV, Singh AV, Shaji H Vohra, Kulkarni SK, Agrewala JN. Melatonin provides signal 3 to unprimed CD4(+) T cells but failed to stimulate LPS primed B cells. *Clin Exp Immunol*. 2001; 124: 414-22.
- Федоров Е. С., Салугина С. О., Кузьмина Н. Н. Роль цитокиновой сети в регуляции воспаления при различных вариантах ювенильного артрита. 2009; 3: 74-89.
- Беляева Л. М., Чижевская И. Д., Филонович Р. М. и др. Современные подходы к терапии ревматических болезней у детей. *Международный журнал педиатрии, акушерства и гинекологии*. 2013; 3 (3): 25-34.
- Кабатова И. Н. Состояние гормонального компонента адаптации у детей с ювенильным ревматоидным артритом. *Таврический медико-биологический вестник*. 2017; 20 (3): 43-48.
- Скоромная Н. Н. Роль эпифизарного гормона мелатонина в регуляции различных звеньев эндокринной системы у больных ювенильным ревматоидным артритом. *Здоровье ребенка*. 2012; 8 (43): 65-70.
- Qian X, Liu YX, Ye X, et al. Gut microbiota in children with juvenile idiopathic arthritis: characteristics, biomarker identification, and usefulness in clinical prediction. *BMC Genomics*. 2020; 21: 286.
- Di Paola M, Cavalieri D, Albanese D, et al. Alteration of fecal microbiota profiles in juvenile idiopathic arthritis. Associations with HLA-B27 allele and disease status. *Front Microbiol*. 2016; 7: 1703.
- Tejesvi MV, Arvonen M, Kangas SM, et al. Faecal microbiome in new-onset juvenile idiopathic arthritis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2016; 35 (3): 363-70.
- Zhang X, Zhang D, Jia H, et al. The oral and gut microbiomes are perturbed in rheumatoid arthritis and partly normalized after treatment. *Nat Med*. 2015; 21 (8): 895-905.
- Pianta A, Arvikar S, Strle K, et al. Evidence of the immune relevance of *Prevotella copri*, a gut microbe, in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol*. 2017; 69 (5): 964-75.
- Manfredo Vieira S, Hiltensperger M, Kumar V, et al. Translocation of a gut pathobiont drives autoimmunity in mice and humans. *Science*. 2018; 359 (6380): 1156-61.
- Berntson L. A pilot study of possible anti-inflammatory effects of the specific carbohydrate diet in children with juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2021; 19 (1): 88.
- Ashworth A. Nutrition, food security, and health. In: Kliegman RM, Stanton BF, St Geme III JW, Schor NF, editors. *Nelson textbook of pediatrics*. 20th ed. New York: Elsevier, 2015.
- Gahagan S. Overweight and obesity. In: Kliegman RM, Stanton BF, St Geme III JW, Schor NF, editors. *Nelson textbook of pediatrics*. 20th ed. New York: Elsevier, 2015; 307-16.
- Petty RE, Southwood TR, Manners P, et al. International League of Associations for Rheumatology. International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001. *J Rheumatol*. 2004; 31: 390-2.
- Smolen JS, Breedveld FC, Eberl G, et al. Validity and reliability of the twenty-eight-joint count for the assessment of rheumatoid arthritis activity. *Arthritis Rheum*. 1995; 38: 38-43.
- Mitra S, Forster-Fromme K, Damms-Machado A., et al. Analysis of the intestinal microbiota using SOLiD16S rRNA gene sequencing and SOLiD shotgun sequencing. *BMC Genomics*. 2013; 14 (5): 16.
- Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods*. 2010; 7 (5): 335-6.
- DeSantis TZ, Hugenholtz P, Larsen N. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Appl Environ Microbiol*. 2006; 72: 5069-72.
- Ritari J, Salojärvi J, Lahti L, de Vos WM. Improved taxonomic assignment of human intestinal 16S rRNA sequences by a dedicated reference database. *BMC Genomics*. 2015; 16 (1): 1056.
- Vinolo MAR, Rodrigues HG, Nachbar RT, Curi R. Regulation of Inflammation by Short Chain Fatty Acids. *Nutrients*. 2011; 3 (10): 858-76.
- Stoll ML, Weiss PF, Weiss JE, et al. Age and fecal microbial strain-specific differences in patients with spondyloarthritis. *Arthritis Res Ther*. 2018; 20 (1): 14.
- Breban M, Tap J, Leboime A, et al. Faecal microbiota study reveals specific dysbiosis in spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2017; 76 (9): 1614-22.
- Tito RY, Cypers H, Joossens M, et al. Brief report: dialister as a microbial marker of disease activity in Spondyloarthritis. *Arthritis Rheumatol*. 2017; 69 (1): 114-21.
- Sanna S, van Zuydam NR, Mahajan A, et al. Causal relationships among the gut microbiome, short-chain fatty acids and metabolic diseases. *Nat Genet*. 2019; 51 (4): 600-5.
- Michels N, Van de Wiele T, Fouhy F, et al. Gut microbiome patterns depending on children's psychosocial stress: Reports versus biomarkers. *Brain Behav Immun*. 2019; 80: 751-62.
- Rosin S, Xia K, Azcarate-Peril MA, et al. A preliminary study of gut microbiome variation and HPA axis reactivity in healthy infants. *Psychoneuroendocrinology*. 2021; 124: 105046.
- Daille B, Vervliet B, Bergonzelli G, et al. Colon-delivered short-chain fatty acids attenuate the cortisol response to psychosocial stress in healthy men: a randomized, placebo-controlled trial. *Neuropsychopharmacol*. 2020; 45: 2257-66.
- Van de Wouw M, Boehme M, Lyte JM, et al. Short-chain fatty acids: microbial metabolites that alleviate stress-induced brain-gut axis alterations. *J Appl Physiol*. 2018; 596: 4923-44.
- Ziegler DR, Herman JP. Neurocircuitry of stress integration: anatomical pathways regulating the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis of the rat. *Integr Comp Biol*. 2002; 42: 541-51.
- Song L, He M, Sun Q, et al. Roseburia hominis Increases Intestinal Melatonin Level by Activating p-CREB-AANAT Pathway. *Nutrients*. 2022; 14: 117.
- Huang X, Qiu Y, Gao Y, et al. Gut microbiota mediate melatonin signalling in association with type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2022; 65 (10): 1627-41.
- Henke MT, Kenny DJ, Cassilly CD, et al. *Ruminococcus gnavus*, a member of the human gut microbiome associated with Crohn's disease, produces an inflammatory polysaccharide. *Proc Natl Acad Sci*. 2019; 116: 12672-7.

## References

- Rigante D, Bosco A, Esposito S. The Etiology of Juvenile Idiopathic Arthritis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2015; 49 (2): 253-61. DOI: 10.1007/s12016-014-8460-9.
- Shiff NJ, Oen K, Kroeker K, Lix LM. Trends in population-based incidence and prevalence of juvenile idiopathic arthritis in Manitoba, Canada. *Arthritis Care Res*. 2019; 71 (3): 413-8.
- Gumenyuk LN, Kabatova IN. Osobennosti kachestva zhizni bol'nykh yuvenil'nym revmatoidnym artritom na sanatorno-kurortnom lechenii. *Tavricheskiĭ mediko-biologicheskii vestnik*. 2017; 20 (2): 32-35. Russian.
- Raghavendra VV, Singh AV, Shaji H Vohra, Kulkarni SK, Agrewala JN. Melatonin provides signal 3 to unprimed CD4(+) T cells but failed to stimulate LPS primed B cells. *Clin Exp Immunol*. 2001; 124: 414-22.
- Fedorov ES, Salugina SO, Kuzmina NN. Rol' citokinovoy seti v regulyatsii vospaleniya pri razlichnykh variantax yuvenil'nogo artrita. 2009; 3: 74-89. Russian.
- Belyaeva LM, Chizhevskaya ID, Filonovich RM, i dr. Sovremennye podkhody k terapii revmaticheskix boleznej u detej. *Mezhdunarodnyj zhurnal pediatrii, akusherstva i ginekologii*. 2013; 3 (3): 25-34. Russian.
- Kabatova IN. Sostoyanie gormonal'nogo komponenta adaptatsii u detej s yuvenil'nym revmatoidnym artritom. *Tavricheskiĭ mediko-biologicheskii vestnik*. 2017; 20 (3): 43-48. Russian.
- Skoromnaya NN. Rol' ehipifizarnogo gormona melatonina v regulyatsii razlichnykh zven'ev ehndokrinnoj sistemy u bol'nykh yuvenil'nym revmatoidnym artritom. *Zdorov'e rebenka*. 2012; 8 (43): 65-70. Russian.
- Qian X, Liu YX, Ye X, et al. Gut microbiota in children with juvenile idiopathic arthritis: characteristics, biomarker identification, and usefulness in clinical prediction. *BMC Genomics*. 2020; 21: 286.
- Di Paola M, Cavalieri D, Albanese D, et al. Alteration of fecal microbiota profiles in juvenile idiopathic arthritis. Associations with HLA-B27 allele and disease status. *Front Microbiol*. 2016; 7: 1703.
- Tejesvi MV, Arvonen M, Kangas SM, et al. Faecal microbiome in new-onset juvenile idiopathic arthritis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2016; 35 (3): 363-70.
- Zhang X, Zhang D, Jia H, et al. The oral and gut microbiomes are perturbed in rheumatoid arthritis and partly normalized after treatment. *Nat Med*. 2015; 21 (8): 895-905.
- Pianta A, Arvikar S, Strle K, et al. Evidence of the immune relevance of *Prevotella copri*, a gut microbe, in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol*. 2017; 69 (5): 964-75.
- Manfredo Vieira S, Hiltensperger M, Kumar V, et al. Translocation of a gut pathobiont drives autoimmunity in mice and humans. *Science*. 2018; 359 (6380): 1156-61.
- Berntson L. A pilot study of possible anti-inflammatory effects of the specific carbohydrate diet in children with juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2021; 19 (1): 88.
- Ashworth A. Nutrition, food security, and health. In: Kliegman RM, Stanton BF, St Geme III JW, Schor NF, editors. *Nelson textbook of pediatrics*. 20th ed. New York: Elsevier, 2015.
- Gahagan S. Overweight and obesity. In: Kliegman RM, Stanton BF, St Geme III JW, Schor NF, editors. *Nelson textbook of pediatrics*. 20th ed. New York: Elsevier, 2015; 307-16.
- Petty RE, Southwood TR, Manners P, et al. International League of Associations for Rheumatology. International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001. *J Rheumatol*. 2004; 31: 390-2.
- Smolen JS, Breedveld FC, Eberl G, et al. Validity and reliability of the twenty-eight-joint count for the assessment of rheumatoid arthritis activity. *Arthritis Rheum*. 1995; 38: 38-43.
- Mitra S, Forster-Fromme K, Damms-Machado A., et al. Analysis of the intestinal microbiota using SOLiD16S rRNA gene sequencing and SOLiD shotgun sequencing. *BMC Genomics*. 2013; 14 (5): 16.
- Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods*. 2010; 7 (5): 335-6.
- DeSantis TZ, Hugenholtz P, Larsen N. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Appl Environ Microbiol*. 2006; 72: 5069-72.
- Ritari J, Salojärvi J, Lahti L, de Vos WM. Improved taxonomic assignment of human intestinal 16S rRNA sequences by a dedicated reference database. *BMC Genomics*. 2015; 16 (1): 1056.
- Vinolo MAR, Rodrigues HG, Nachbar RT, Curi R. Regulation of Inflammation by Short Chain Fatty Acids. *Nutrients*. 2011; 3 (10): 858-76.
- Stoll ML, Weiss PF, Weiss JE, et al. Age and fecal microbial strain-specific differences in patients with spondyloarthritis. *Arthritis Res Ther*. 2018; 20 (1): 14.
- Breban M, Tap J, Leboime A, et al. Faecal microbiota study reveals specific dysbiosis in spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2017; 76 (9): 1614-22.
- Tito RY, Cypers H, Joossens M, et al. Brief report: dialister as a microbial marker of disease activity in Spondyloarthritis. *Arthritis Rheumatol*. 2017; 69 (1): 114-21.
- Sanna S, van Zuydam NR, Mahajan A, et al. Causal relationships among the gut microbiome, short-chain fatty acids and metabolic diseases. *Nat Genet*. 2019; 51 (4): 600-5.
- Michels N, Van de Wiele T, Fouhy F, et al. Gut microbiome patterns depending on children's psychosocial stress: Reports versus biomarkers. *Brain Behav Immun*. 2019; 80: 751-62.
- Rosin S, Xia K, Azcarate-Peril MA, et al. A preliminary study of gut microbiome variation and HPA axis reactivity in healthy infants. *Psychoneuroendocrinology*. 2021; 124: 105046.
- Dalile B, Vervliet B, Bergonzelli G, et al. Colon-delivered short-chain fatty acids attenuate the cortisol response to psychosocial stress in healthy men: a randomized, placebo-controlled trial. *Neuropsychopharmacol*. 2020; 45: 2257-66.
- Van de Wouw M, Boehme M, Lyte JM, et al. Short-chain fatty acids: microbial metabolites that alleviate stress-induced brain-gut axis alterations. *J Appl Physiol*. 2018; 596: 4923-44.
- Ziegler DR, Herman JP. Neurocircuitry of stress integration: anatomical pathways regulating the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis of the rat. *Integr Comp Biol*. 2002; 42: 541-51.
- Song L, He M, Sun Q, et al. Roseburia hominis Increases Intestinal Melatonin Level by Activating p-CREB-AANAT Pathway. *Nutrients*. 2022; 14: 117.
- Huang X, Qiu Y, Gao Y, et al. Gut microbiota mediate melatonin signalling in association with type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2022; 65 (10): 1627-41.
- Henke MT, Kenny, DJ, Cassilly CD, et al. *Ruminococcus gnavus*, a member of the human gut microbiome associated with Crohn's disease, produces an inflammatory polysaccharide. *Proc Natl Acad Sci*. 2019; 116: 12672-7.