

Таблица 1. Характеристики пациентов и методы терапии (продолжение)

Клинические параметры	Числовые значения
<b>Трансплантации:</b>	
Родственные	13 (48.15%)
Неродственные (10/10; 9/10)	13 (48.15%)
Гаплоидентичные	1 (3.7%)
<b>«Bridge» перед алло-ТКМ:</b>	
Брентуксимаб ведотин	11 (40.7%)
Ниволумаб	3 (11.1%)
Химиотерапия	15 (48.2%)
<b>Режим кондиционирования:</b>	
Флударабин+Бендамустин	14 (51.9%)
Другие алкилаторы (Бусульфан; Мелфалан) и Тотальное облучение тела (ТОТ)	13 (48.1%)
<b>Профилактика РТПХ:</b>	
Циклофосфан-содержащие режимы	16 (59.3%)
АТГ и прочее (Циклоспорин А; Такролимус; Метотрексат)	13 (40.7%)

## Case report of effective fecal microbiota transplantation to alleviate acute intestinal graft-versus-host disease

Darya V. Churakina <sup>1</sup>, Oleg V. Goloshchapov <sup>1</sup>, Olga V. Pirogova <sup>1</sup>, Aleksander N. Shvetsov <sup>1</sup>, Ruslana V. Klementeva <sup>1</sup>, Aleksandr A. Shcherbakov <sup>1</sup>, Sergey V. Sidorenko <sup>2</sup>, Vladimir A. Gostev <sup>2</sup>, Maria A. Suvorova <sup>3</sup>, Yuri V. Lobzin <sup>2</sup>, Boris V. Afanasyev <sup>1</sup>

<sup>1</sup> R. Gorbacheva Memorial Institute of Hematology, Oncology and Transplantation, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup> Research Scientific Institute of Children's Infections, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>3</sup> The Explana Research Laboratory, St. Petersburg, Russian Federation

Contact: Darya V. Churakina

E-mail: Churakina.darya@mail.ru

### Introduction

In allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), the recipients have altered composition of gastrointestinal (GI) microbiota, due to the use of cytostatic and antibacterial drugs, changes in diet. There is a growing evidence that microbiota influences the immune system, suppresses pathogenic bacteria, promotes regeneration of the GI mucosa. It may prevent immune and infectious complications after HSCT. Transplantation of fecal microbiota (FMT) is directed to recovery of recipient microflora. Our aim was to present a clinical case of a patient with steroid-resistant intestinal graft-versus-host disease (GVHD), stage 4, grade 3, therefore treated by FMT.

### Case description

A forty-five year old patient underwent HSCT in Sep 2017, for secondary acute myeloid leukemia (AML) evolving from myelodysplastic syndrome. Hematopoietic graft was from unrelated donor, conditioning regimen included fludara-bin+busulphan (12 mg/kg). Prevention of GVHD was performed with thymoglobulin, tacrolimus, MMF. Since D+67, tacrolimus was tapered and stopped at D+82 due to high relapse risk. From D+102, persistent diarrhea syndrome de-

veloped, with up to 3 L/d. The patient was admitted to the R. M. Gorbacheva Memorial Institute of Hematology, Oncology and Transplantation. The diarrhea volume reached 5 L/d, and the patient has become septic (fever of 38°C, serum CRP, 331 mg/L). Empirical antibiotic therapy consisted of doripenem, vancomycin. Colon biopsy (D+114) identified histological grade 2 of GVHD and multiple viral infection (PCR-positive for HHV-6, CMV, EBV). Tacrolimus was restarted, methylprednisolone at 2 mg/kg, and ganciclovir 10 mg/kg were administered. After 7 days of therapy, the diarrhea volume was 13 L/d. After failure of the first-line treatment, ruxolitinib (20 mg/d) was administered. Due to acute kidney injury, tacrolimus was replaced by sirolimus. At D+133, the diarrhea decreased to 3 L/d. Meanwhile, the stool samples became positive for antibiotic-resistant *K. Pneumonia* (D+138). The 16S rRNA gene sequencing showed the *Staphylococcaceae* family to represent 99% of intestinal microbiota. Despite reduced stool volume, no clinical response was achieved. GI bleeding continued from D+139 to D+221 followed by hemorrhagic shock observed at D+144, with blood hemoglobin levels of 39 g/L. In total, the patient was transfused with 29.8 L of RBCs, 5.5 L of platelet concentrate, and 5.9 L of fresh-frozen plasma.

The patient was treated at the ICU from D+118 to D+284 posttransplant. Over this time period, the patient suffered with severe polyresistant *K. pneumoniae* sepsis (D+149), *Acinetobacter spp.* infection (D+159 to D+198). CRP levels reached 449 mg/L, presepsin was increased to 12839 pg/ml, along with features of multiple organ failure (cardiovascular, hepatic, respiratory, cerebral affection), bilateral pneumonia (*K. Pneumoniae*, *Pseudomonas spp.*). Artificial lung ventilation was performed for 83 days.

Considering persistent GI bleeding and multiple antibiotic-resistant bacterial complications the patient received TFM *via* naso-intestinal tube installed under endoscopic control, at the doses of, 80 and 300 mL on D+192 and D+194, respectively. Fourteen days later (D+208), the diarrhea decreased to 1 L/d, and to <500 mL/d by D+280 where GI bleeding was undetectable since D+221. Following the TFM procedure, the beta-lactamase-positive *K. pneumoniae* (NDM+), was replaced by a more sensitive strain (NDM-), thus enabling ceftazidim+avibactam treatment with a positive effect. Multiple PCR of stool sample has shown an increased bacte-

rial mass, with a maximum at D+8 to D+16 after FMT, with increase in *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* microbial species. Ruxolitinib and Sirolimus were discontinued at D+284 and D+294, respectively. No signs of GVHD were revealed at control GI biopsy, and viral infections (HHV-6, CMV, EBV) were not detectable. The feeding is fully enteral now, with supplementation *via* gastrostoma.

## Conclusion

The present case report suggests an effective cure of the patient with steroid-resistant GVHD and severe infectious complications observed under combined treatment with JAK2 inhibitor and TFM.

## Keywords

Hematopoietic stem cell transplantation, steroid-resistant graft-versus-host disease, fecal microbiota transplantation, microbiota.

# Клинический случай эффективной трансплантации фекальной микробиоты в терапии острой реакции трансплантат против хозяина с поражением кишечника

Дарья В. Чуракина<sup>1</sup>, Олег В. Голощапов<sup>1</sup>, Ольга В. Пирогова<sup>1</sup>, Александр Н. Швецов<sup>1</sup>, Руслана В. Клементьева<sup>1</sup>, Александр А. Щербаков<sup>1</sup>, Сергей В. Сидоренко<sup>2</sup>, Владимир А. Гостев<sup>2</sup>, Мария А. Суворова<sup>3</sup>, Юрий В. Лобзин<sup>2</sup>, Борис В. Афанасьев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой, Санкт-Петербург, Российская Федерация, Первый Санкт-Петербургский Государственный Медицинский Университет им. акад. И. П. Павлова

<sup>2</sup> ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России

<sup>3</sup> Научно-исследовательская лаборатория Explana, Санкт-Петербург, Российская Федерация

## Введение

При проведении аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), вследствие применения цитостатических и антибактериальных препаратов, изменений в диете нарушается состав микробиоты желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Накапливаются данные о том, что микробиота влияет на работу иммунной системы человека, подавляет развитие патогенных микроорганизмов, способствует регенерации эпителия, что препятствует появлению иммунных и инфекционных осложнений после алло-ТГСК. Трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) направлена на восстановление микрофлоры ЖКТ реципиента.

## Цель работы

Цель работы состояла в демонстрации клинического случая стероид-резистентного течения острой реакции «трансплантат против хозяина» (ОРТПХ) 3 степени тяжести, 4 стадия кишечных проявлений, в котором ТФМ в сочетании с иммуносупрессивной терапией, привела к разрешению ОРТПХ кишечника.

## Описание случая

Пациент, мужчина, 45 лет. Диагноз: острый миелобластный лейкоз с изменениями, связанными с миелодиспла-

зией. Первые симптомы миелодиспластического синдрома с избытком бластов в марте 2016 года. Проведено 6 курсов 5-азациитидина. 20.02.17 – трансформация в ОМЛ. Терапия малыми дозами цитозара. 23.09.17 алло-ТГСК от неродственного донора с режимом кондиционирования флударабин + бусульфан (12 мг/кг). Профилактика РТПХ: тимоглобулин, такролимус, ММЕ. В связи с высоким риском развития рецидива, на D+67 снижение дозы такролимуса, с полной отменой на D+82. С D+102 диарея до 3 л/сутки. D+110 – госпитализация в НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р. М. Горбачевой. Стул в объеме 5 л/сутки, сепсис (лихорадка 38°C, СРБ – 331 мг/л), начата эмпирическая антибактериальная терапия (дорипенем, ванкомицин). Биопсия слизистой толстой кишки (D+114) – признаки умеренно выраженной РТПХ, вирусного поражения кишечника (ПЦР – HHV-6+, CMV+, EBV+). На D+114 возобновлен такролимус, начат метилпреднизолон 2 мг/кг, ганцикловир 10 мг/кг. D+118 – объем стула 13 л/сутки. С D+117 из-за неэффективности терапии 1 линии начата терапия 2 линии – руксолитиниб 20 мг/сутки. Такролимус, в связи с развитием острого повреждения почек, заменен на сиролимус (D+121). D+133 – снижение объема стула до 3 л/сутки. При бактериологическом исследовании стула (D+138) – обильный рост полирезистентной *K. Pneumoniae*. При 16S-секвенировании, 99% микробиоты ЖКТ составля-

ло семейство *Staphylococcaceae*. Ответ по РТПХ кишки не достигнут, с Д+139 до Д+221 – продолжающееся кишечное кровотечение, геморрагический шок от Д+144 (Hb=39 г/л). Суммарно за весь период введено: эритроцитарная масса 29,8 л, тромбоцитарная масса 5,52 л, свежемороженая плазма – 5,92 л. Получал терапию в отделении реанимации с Д+118 по Д+284. В этот период развились следующие осложнения: тяжелый сепсис, вызванный полирезистентными штаммами *K. pneumoniae* (Д+149) и *Acinetobacter spp.* (с Д+159 по Д+198) (уровень СРБ до 449 мг/л, пресепсина до 12839 пг/мл), двухсторонняя пневмония (*K. pneumoniae*, *Pseudomonas spp.*), полиорганная недостаточность (сердечно-сосудистая, печеночная, дыхательная, церебральная). Искусственная вентиляция легких в течение 83 дней. На Д+192 и +194 в связи с недостаточным эффектом от иммуносупрессивной терапии проведена ТФМ объемом 80 и 300 мл, через назоинтестинальный зонд, установленный под контролем эндоскопа. За 14 дней объем стула снизился до 1 л/сутки (Д+208), а на Д+280 до 500 мл/сутки, с Д+221 впервые отсутствие крови в стуле. В результате ТФМ, *K. pneumoniae*, ранее продуцирующая фермент металло-бета-лактамазу (NDM+), сменилась штаммом чувствительным к антибиотикам (NDM-). Это позволило назначить цефтазидим+авибактам с положительным эффектом (снижение

прокальцитонина с 26,8 до 0,8 нг/мл). По данным ПЦР образцов стула после ТФМ значительно повысилась общая бактериальная масса (с пиком на Д+8 – Д+16 после ТФМ), за счет увеличения *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* Полная отмена руксолитиниба на Д+284 и сиролимуса на Д+294. По результатам контрольной биопсии (Д+337) убедительных признаков РТПХ и вирусного поражения кишечника не выявлено (ПЦР – HHV-6 -, CMV -, EBV -). В настоящее время – стул с тенденцией к оформлению (около 300 г/сутки). Питание самостоятельное и дополнительное через гастростому.

## Заключение

В представленном случае продемонстрировано эффективное применение ТФМ в сочетании с JAK2 ингибитором у пациента со стероид-резистентным течением ОРТПХ и тяжелыми инфекционными осложнениями.

## Ключевые слова

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, стероид-резистентная реакция трансплантат против хозяина, трансплантация фекальной микробиоты, микробиота кишечника.

# The role of histopathological, virological and bacteriological findings in the diagnostics of acute graft-versus-host disease of the gastrointestinal tract

Darya V. Churakina <sup>1</sup>, Aleksander N. Shvetsov <sup>1</sup>, Vadim E. Karev <sup>2</sup>, Irina A. Karabak <sup>2</sup>, Alexey B. Chukhlov <sup>1</sup>, Yurii A. Eismont <sup>2</sup>, Olga V. Pirogova <sup>1</sup>, Pavel S. Zherebenko <sup>1</sup>, Oleg V. Goloshchapov <sup>1</sup>, Elena I. Darskaya <sup>1</sup>, Tatiana A. Bykova <sup>1</sup>, Olesya V. Paina <sup>1</sup>, Ludmila S. Zubarovskaya <sup>1</sup>, Ivan S. Moiseev <sup>1</sup>, Boris V. Afanasyev <sup>1</sup>

<sup>1</sup> R. M. Gorbacheva Memorial Institute of Hematology, Oncology and Transplantation, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup> Research Institute of Pediatric Infections, Federal Medico-Biological Agency of Russia, St. Petersburg, Russian Federation

Contact: Darya V. Churakina

E-mail: Churakina.darya@mail.ru

## Introduction

Acute graft-versus-host disease (aGVHD) of the gastrointestinal tract (GI tract) is one of the most dangerous complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). However, there is consensus now on the diagnostic workup in this complication. Clinical manifestations of aGVHD are nonspecific and can resemble other conditions. The goal of our research was to analyze the results of histological examination of mucous colon and upper digestive ways (esophagus, stomach, duodenum) of the patients after HSCT with suspected GVHD, and to determine the incidence of different findings.

## Patients and methods

Our retrospective research included 112 patients after allo-HSCT. Most of the patients received allo-HSCT as treatment for acute leukemia. Median age was 30 years (2-67). All these

patients were studied by gastroduodenoscopy and/or colonoscopy, with biopsy and histopathology investigation of the GI sites. Herpes simplex virus, herpes virus type 6, cytomegalovirus were identified by PCR in the biopsies. Fecal samples were studied by ELISA for *C. difficile*, and seeded in cultures for antibiotic-resistant bacteria. Median timing for the biopsies was 85 days (15-413) post-HSCT. In 56% of cases, biopsy of upper GI compartments was performed, in 35% of cases, lower parts of GI-tract were sampled, and both compartments were subject to biopsies in 9% of cases.

## Results

Conventional histology revealed signs of aGVHD in 73.5% of colon biopsies, and only in 36.5% of upper GI biopsies,  $p=0.02$ . Mild histological signs of GVHD were present in 56% of biopsies from the lower GI mucosa, moderate pathology, in 28%, and severe changes, in 16%. In upper GI tract, mild histological signs were observed in 60% cases, moderate