

2023



ИНФЕКЦИЯ
И
ИММУНИТЕТ



**РОССИЙСКОЕ НАУЧНОЕ ОБЩЕСТВО
ИММУНОЛОГОВ**



ОБЪЕДИНЕННЫЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ФОРУМ – 2024

28 июня – 5 июля 2024 года
Псковская область, Пушкинские Горы

VII Съезд Российского научного общества иммунологов (РНОИ)
IX Конференция Российского цитокинового общества (РЦО)
X Конференция по иммунологии репродукции
Международная конференция по первичным иммунодефицитам J Project
Школа по проточной цитометрии
Циклы повышения квалификации

ПРИ ПОДДЕРЖКЕ:

Российской академии наук
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека
Российского научного общества иммунологов
Российской ассоциации аллергологов
и клинических иммунологов
Санкт-Петербургского регионального
отделения РААКИ
Российского цитокинового общества
ООО «Ассоциация ревматологов России»

Национальной ассоциации экспертов
в области первичных иммунодефицитов
Евро-Азиатского общества
по инфекционным болезням
Научного Общества
по нейроиммунологии и нейромодуляции
Уральского общества иммунологов
и аллергологов
Общества по клинической адаптологии
и медицинской иммунологии
Ассоциации исследователей цитокинов
и антицитокиновой терапии
Ассоциации специалистов-клинических
иммунологов и клеточных технологий

КОНТАКТЫ:

Председатель СПб РО РААКИ,
д.м.н., профессор, академик РАН Тотолян Арег Артемович
197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера
Тел.: (812) 232-00-66, e-mail: totolian@spbraaci.ru

Секретариат:

Ракитянская Наталья Владимировна

Тел.: (812) 644-63-12,
e-mail: raknv@mail.ru

АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:
197101, Санкт-Петербург, а/я 130,
СПб РО РААКИ

www.immunologiForum.ru

ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ

сентябрь–октябрь
2023, том 13

№ 5

Журнал издается при участии Отделения Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов по Санкт-Петербургу и Ленинградской области

Главный редактор

Тотоян Артем А. д.м.н., профессор, академик РАН, директор Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, зав. лабораторией молекулярной иммунологии, Санкт-Петербург, Россия

Заместитель главного редактора

Мокроусов И.В. д.б.н., зав. лабораторией молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Редакционная коллегия

- Апт А.С.** д.б.н., профессор, зав. лабораторией иммуногенетики Центрального НИИ туберкулеза, Москва, Россия
Барбеито Л. д.м.н., профессор, зав. лабораторией нейродегенерации Института Пастера, Монтевидео, Уругвай
Брей П. д.б.н., профессор, зав. лабораторией медицинской энтомологии и биологии переносчиков болезней Института Пастера в Лаосе, Вьентьян, Лаос
Гинцбург А.Л. д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия
Лаврентьева И.Н. д.м.н., зав. лабораторией экспериментальной вирусологии Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
Лобзин Ю.В. д.м.н., профессор, академик РАН, научный руководитель ФГБУ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА, Санкт-Петербург, Россия
Лоузир Э. профессор, президент Института Пастера Туниса, Тунис
Львов Д.К. д.м.н., профессор, академик РАН, НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия
Маеда К. д.вет.н., профессор, директор Национального института инфекционных заболеваний, Токио, Япония
Медуницын Н.В. д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник Научного центра экспертизы средств медицинского применения, Москва, Россия
Михайлов М.И. д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, зав. лабораторией вирусных гепатитов НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, зав. кафедрой микробиологии и вирусологии Российского университета дружбы народов, Москва, Россия
Найденски Х. д.м.н., профессор, зав. отделом инфекционной микробиологии Института микробиологии им. Стефана Ангеловфа, София, Болгария
Онищенко Г.Г. д.м.н., профессор, академик РАН, зам. председателя Российской академии образования, Москва, Россия
Покровский В.В. д.м.н., профессор, академик РАН, руководитель Федерального НМЦ по профилактике и борьбе со СПИДом, Москва, Россия
Сантони А. зам. директора по научной работе Института Пастера в Риме, профессор иммунологии и иммунопатологии отдела молекулярной медицины Университета Сапиенца в Риме, Рим, Италия
Симбирцев А.С. д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, научный руководитель ГосНИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия
Тотоян Артем А. д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии Института экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия
Фрейдлин И.С. д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник Института экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия
Черешнев В.А. д.м.н., профессор, академик РАН, научный руководитель Института иммунологии и физиологии, Екатеринбург, Россия
Шпигель А. д.м.н., профессор, директор Института Пастера Камбоджи, Пномпень, Камбоджа

Редакционный совет

Алешкин В.А.	д.б.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, научный руководитель Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия
Бухарин О.В.	д.м.н., профессор, академик РАН, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза, Оренбург, Россия
Вишневский Б.И.	д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела лабораторной диагностики Санкт-Петербургского НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия
Долгушин И.И.	д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, президент Южно-Уральского государственного медицинского университета, Челябинск, Россия
Зверев В.В.	д.б.н., профессор, академик РАН, научный руководитель НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, Москва, Россия
Кафтырева Л.А.	д.м.н., профессор, зав. лабораторией кишечных инфекций Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
Кашкин К.П.	д.м.н., профессор, академик РАН, профессор кафедры иммунологии Российской медицинской академии последипломного образования МЗ РФ, Москва, Россия
Кубарь О.И.	д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
Малеев В.В.	д.м.н., профессор, академик РАН, советник директора Центрального НИИ эпидемиологии, зав. отделом инфекционной патологии, Москва, Россия
Нарвская О.В.	д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и эволюционной генетики Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
Савичева А.М.	д.м.н., профессор, зав. лабораторией микробиологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия
Сельков С.А.	д.м.н., профессор, зав. лабораторией иммунологии НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия
Тец В.В.	д.м.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии и вирусологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия
Харит С.М.	д.м.н., профессор, руководитель отдела профилактики инфекционных заболеваний ФГБУ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА, Санкт-Петербург, Россия
Чекнев С.Б.	д.м.н., зам. директора по научной работе ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, зав. лабораторией межклеточных взаимодействий, Москва, Россия
Шкарин В.В.	д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, президент Нижегородской государственной медицинской академии, зав. кафедрой эпидемиологии, Нижний Новгород, Россия

Ответственный секретарь: Ракитянская Н.В. (Санкт-Петербург)
Редактор перевода: Исаков Д.В., к.м.н. (Санкт-Петербург)
Выпускающий редактор: Мурадян А.Я., к.м.н. (Санкт-Петербург)
Редактор электронной версии: Ерофеева В.С. (Санкт-Петербург)

Учредители

Северо-Западное отделение медицинских наук
Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера
Санкт-Петербургское региональное отделение Российской ассоциации аллергологов и клинических иммунологов

Журнал зарегистрирован Управлением Федеральной службы по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций по Санкт-Петербургу и Ленинградской области
Свидетельство о регистрации ПИ № ТУ 78–00578 от 26 апреля 2010 г.
Свидетельство о регистрации ПИ № ТУ 78–00910 от 24 июня 2011 г.

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций
Свидетельство о регистрации ПИ № ФС 77–64788 от 02 февраля 2016 г.

Электронная версия журнала: www.iimmun.ru и www.elibrary.ru

С 2012 года журнал «Инфекция и иммунитет» входит в Перечень российских рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК РФ, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук

С 2014 года журнал «Инфекция и иммунитет» включен в международную базу Ulrich's Periodicals Directory

С 2016 года включен в базу данных Russian Science Citation Index (RSCI), интегрированную с платформой Web of Science

С 2016 года журнал «Инфекция и иммунитет» включен в Web of Science (Emerging Sources Citation Index)

С 2017 года журнал «Инфекция и иммунитет» включен в международную базу Scopus

Адрес редакции:
197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14.
Тел.: (812) 233-08-58.

Издательство НИИЭМ имени Пастера
197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14.
Тел./факс: (812) 644-63-11.
E-mail: izdatelstvo@pasteurorg.ru

Типография ООО «Аллегро»
196084, Санкт-Петербург,
ул. Коли Томчака, 28.
Тел./факс: (812) 388-90-00.

Подписано в печать 27.10.2023 г. Формат 60 x 90 1/8.
Печать офсетная. Усл.-печ. л. 25.
Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.).
Заказ № 1295

© Инфекция и иммунитет
© Северо-Западное отделение медицинских наук, 2023
© НИИЭМ имени Пастера, 2023
© СПб РО РААКИ, 2023

Russian Journal of Infection and Immunity (Infektsiya i immunitet)

September–October

2023, volume 13

No. 5

The journal is published with the assistance of the Branch of All-Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists for St. Petersburg and Leningrad Region

Editor-in-chief

Areg A. Totolian DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, St. Petersburg Pasteur Institute of Epidemiology and Microbiology, Director, Head of the Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg, Russian Federation

Deputy editor-in-chief

Igor V. Mokrousov DSc (Biology), St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics, St. Petersburg, Russian Federation

Members of editorial board

- Alexander S. Apt** DSc (Biology), Professor, Central Research Institute of Tuberculosis, Head of the Laboratory of Immunogenetics, Moscow, Russian Federation
- Luis Barbeito** MD, PhD, Professor, Institut Pasteur de Montevideo, Head of the Laboratory of Neurodegeneration, Montevideo, Uruguay
- Paul Brey** PhD, Professor, Institut Pasteur du Laos, Director; Laboratory of Medical Entomology and Biology of Disease Vectors, Head, Vientiane, Laos
- Alexander L. Gintsburg** DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology, Director, Moscow, Russian Federation
- Irina N. Lavrentieva** DSc (Medicine), St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Experimental Virology, St. Petersburg, Russian Federation
- Yuri V. Lobzin** DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Scientific Director, St. Petersburg, Russian Federation
- Hechmi Louzir** Professor, Institut Pasteur de Tunis, President, Tunis, Tunisia
- Dmitry K. Lvov** DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, D.I. Ivanovsky Institute of Virology, N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation
- Ken Maeda** PhD, DVM, Professor, National Institute of Infectious Diseases, Director, Tokyo, Japan
- Nikolai V. Medunitsyn** DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Scientific Center for Expertise of Medical Products, Moscow, Russian Federation
- Michael I. Michailov** DSc (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, I.I. Mechnikov Institute of Vaccines and Sera, Head of the Laboratory of Viral Hepatitis; Peoples' Friendship University of Russia, Head of the Department of Microbiology and Virology, Moscow, Russian Federation
- Hristo Najdenski** PhD, Professor, Institute Stephan Angeloff; Head of the Department of Infectious Microbiology, Sofia, Bulgaria
- Gennadiy G. Onishchenko** DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Deputy President of the Russian Academy of Education, Moscow, Russian Federation
- Vadim V. Pokrovskiy** DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Central Research Institute of Epidemiology, Head of the Federal AIDS Center, Moscow, Russian Federation
- Angela Santoni** PhD, Professor, Institut Pasteur in Italy — Cenci Bolognetti Foundation, Scientific Director; Full Professor of Immunology and Immunopathology, Department of Molecular Medicine, Sapienza University of Rome, Rome, Italy
- Andrei S. Simbirtsev** DSc (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, St. Petersburg Institute of Pure Biochemicals, Scientific Director, St. Petersburg, Russian Federation
- Artem A. Totolian** DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Institute of Experimental Medicine, Department of Molecular Microbiology, Head Researcher, St. Petersburg, Russian Federation
- Irina S. Freidlin** DSc (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, Institute of Experimental Medicine, Head Researcher, St. Petersburg, Russian Federation
- Valery A. Chereshevnev** DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Institute of Immunology and Physiology, Scientific Director, Yekaterinburg, Russian Federation
- Andre Spiegel** MD, PhD, Professor, Institut Pasteur du Cambodge, Director, Phnom Penh, Cambodia

Members of editorial council

Vladimir A. Aleshkin	DSc (Biology), Professor, G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Scientific Director, Moscow, Russian Federation
Oleg V. Bukharin	DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Research Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Scientific Director, Orenburg, Russian Federation
Boris I. Vishnevsky	DSc (Medicine), Professor, Research Institute of Phthisiopulmonology, Head Researcher, Department of Laboratory Diagnostic, St. Petersburg, Russian Federation
Ilija I. Dolgushin	DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Chelyabinsk State Medical Academy, President, Moscow, Russian Federation
Vitaly V. Zverev	DSc (Biology), Professor, RAS Full Member, I.I. Mechnikov Institute of Vaccines and Sera, Scientific Director, Moscow, Russian Federation; I.M. Sechenov State Medical University, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Moscow, Russian Federation
Lidiia A. Kaftyreva	DSc (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Head of the Laboratory of Intestinal Infections, St. Petersburg, Russian Federation
Kirill P. Kashkin	DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Russian Academy of Postgraduate Medical Education, Professor of the Department of Immunology, Moscow, Russian Federation
Olga I. Kubar	DSc (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Leading Researcher, St. Petersburg, Russian Federation
Victor V. Maleev	DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Central Research Institute of Epidemiology, Adviser of the Director, Moscow, Russian Federation
Olga V. Narvskaya	DSc (Medicine), Professor, St. Petersburg Pasteur Institute, Laboratory of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics, St. Petersburg, Leading Researcher, Russian Federation
Alevtina M. Savicheva	DSc (Medicine), Professor, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Head of the Laboratory of Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation
Sergei A. Selkov	DSc (Medicine), Professor, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Head of the Laboratory of Immunology, St. Petersburg, Russian Federation
Viktor V. Tets	DSc (Medicine), Professor, Pavlov State Medical University, Head of the Department of Microbiology and Virology, St. Petersburg, Russian Federation
Susanna M. Kharit	DSc (Medicine), Professor, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Head of the Prevention Department of Infectious Diseases, St. Petersburg, Russian Federation
Sergei B. Cheknev	DSc (Medicine), N.F. Gamaleya Federal Center of Epidemiology and Microbiology, Deputy Director on Science, Head of the Laboratory of Cellular Interactions, Moscow, Russian Federation
Vyacheslav V. Shkarin	DSc (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, State Medical Academy, President, Head of the Department of Epidemiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Assistant editor: Natalia V. Rakitianskaia (St. Petersburg)

Translation editor: Dmitrii V. Isakov (St. Petersburg)

Copy editor: Aram Ya. Muradyan (St. Petersburg)

Online version editorial manager: Vera S. Erofeeva (St. Petersburg)

Founders

North-West Regional Branch of Medical Sciences

Saint Petersburg Pasteur Institute

Russian Association of Allergologists and Clinical Immunologists, St. Petersburg Regional Branch (SPb RAACI)

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass media in Saint Petersburg and Leningrad region

Certificate of registration PI no. TU 78–00578 from April, 26, 2010

Certificate of registration PI no. TU 78–00910 from June, 24, 2011

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media

Certificate of registration PI no. FS 77–64788 from February, 02, 2016

Electronic version: www.iimmun.ru and www.elibrary.ru

Since 2012, the Infection and Immunity journal is admitted to the Index of leading peer-reviewed scientific journals intended for publication of key research results of MD Theses, as recommended by the Higher Attestation Commission of the Russian Ministry of Education and Science

Since 2014 the Infection and Immunity journal is included into international Ulrich's Periodicals Directory database

Since 2016 included in Russian Science Citation Index (RSCI) database, integrated in Web of Science

Since 2016 the Russian Journal of Infection and Immunity is included in Web of Science (Emerging Sources Citation Index)

Since 2017 the Russian Journal of Infection and Immunity is included into international Scopus database

Editorial Office

197101, St. Petersburg, Mira str., 14.
Tel.: (812) 233-08-58.

Publishing House of St. Petersburg Pasteur Institute

197101, St. Petersburg, Mira str., 14.
Phone/fax: (812) 644-63-11.
E-mail: izdatelstvo@pasteurorg.ru

Produced at the Allegro Printing House

196084, Russian Federation, St. Petersburg,
Koli Tomchaka str., 28.
Phone/fax: (812) 388-90-00.

Passed for printing 25.08.2023. Print format 60 x 90 1/8.

Offset printing. Printed sheets 25.

Circulation 2000 copies. (1st edition – 1000 copies).

© Russian Journal of Infection and Immunity =
Infektsiya i immunitet

© North-West Regional Branch of Medical Sciences, 2023

© St. Petersburg Pasteur Institute, 2023

© SPb RAACI, 2023

СОДЕРЖАНИЕ

Обзоры

Талаев В.Ю., Светлова М.В., Заиченко И.Е., Бабайкина О.Н., Воронина Е.В., Чистяков С.И.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ В-КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ И АНТИГЕНОВ С РАЗЛИЧНЫМ ПРОСТРАНСТВЕННЫМ РАСПОЛОЖЕНИЕМ 809

Киселева И.В., Мусаева Т.Д.

ОТ КОРОНАВИРУСОВ К КОРОНАВИРУСАМ 822

Зорина В.Н.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ МИМИКРИЯ И COVID-19 841

Оригинальные статьи

Зуев Е.В., Маркова О.А., Кулемзин С.В., Потеряев Д.А., Литвинова Н.А., Короткевич И.А., Григорьева Т.В., Хамитов Р.А.

РЕАКЦИЯ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ ПСЕВДОВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ ВИРУСНЕЙТРАЛИЗУЮЩИМИ АНТИТЕЛАМИ КАК БИОАНАЛИТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВАКЦИНЫ САЛНАВАК® 853

Добрынина М.А., Зурочка А.В., Комелькова М.В., Зурочка В.А., Праскурничий Е.А., Рябова Л.В., Сарapulьцев А.П.

ИЗМЕНЕНИЯ ВРОЖДЕННЫХ ФАКТОРОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПО ДАННЫМ ИЗУЧЕНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПОСТКОВИДНЫХ ПАЦИЕНТОВ 864

Сайтгалина М.А., Останкова Ю.В., Арсентьева Н.А., Коробова З.Р., Любимова Н.Е., Кащенко В.А., Куликов А.Н., Певцов Д.Э., Станевич О.В., Черных Е.И., Тотолян А.А.

ОЦЕНКА УРОВНЕЙ МОЛЕКУЛ ТРЕС И КРЕС У БОЛЬНЫХ COVID-19 С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ 873

СейедАлиаги С., Афсахи А.М., Молла А., Мирзапюр П., Шахиди Р., Сиами Х., Рад Ф.Ф., Аббаспюр Ф., Мозафари Н., Фахредини К., Мехраин И., Дадрас О.

«ЗОНТИЧНЫЙ» ОБЗОР СРЕДСТВ И СТРАТЕГИЙ ЛЕЧЕНИЯ ПРИ COVID-19 885

Макарова М.А., Круглов Е.Е., Кафтырева Л.А.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНТЕРОАГРЕГАТИВНОГО ШТАММА *ESCHERICHIA COLI* ONT:H30 18-726 (№ В-8857), ВЫДЕЛЕННОГО ОТ ПАЦИЕНТА С ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ, И НОВЫЙ СПОСОБ ПЦР-ИДЕНТИФИКАЦИИ 899

Кармоков И.А., Рябико Е.Г., Блинова О.В., Колосовская Е.Н., Токаревич Н.К.

ЭПИДЕМИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО КЛЕЩЕВОМУ ЭНЦЕФАЛИТУ И ИКСОДОВЫМ КЛЕЩЕВЫМ БОРРЕЛИОЗАМ (БОЛЕЗНИ ЛАЙМА) В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2002–2021 гг. 909

Курлаева Л.В., Степанова Т.Ф., Степанова К.Б., Косырева А.Н., Бакштановская И.В., Кальгина Г.А., Григорьева С.А.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОПИСТОРХОЗОМ ПРИ НАЛИЧИИ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ К ОСТЕОПОРОЗУ 923

Эсмедляева Д.С., Алексеева Н.П., Дьякова М.Е.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СКОРОСТИ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ У ПАЦИЕНТОВ С ИНФИЛЬТРАТИВНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ 931

Турдиева Ш.Т., Ганиева Д.К., Насирова Г.Р.

ВЛИЯНИЕ ИНГАЛЯЦИОННОЙ БАКТЕРИОФАГ-ТЕРАПИИ НА МУКОЗАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ТОНЗИЛЛИТОМ 939

Козлова Я.И., Васильев Н.Ю., Фролова Е.В., Учеваткина А.Е., Филиппова Л.В., Аак О.В., Соболев А.В., Васильева Н.В.

АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ ГРИБКОВЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ: АНАЛИЗ ДАННЫХ РЕГИСТРА ПАЦИЕНТОВ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ 947

Хади Х.Х., Аль-Майали Х.Х., Абдалсада Х.Х., Мустафа Ш.Р., Алмулла А.Ф., Аль-Хакеим Х.К.

НЕЙРОСЕТЕВОЙ АНАЛИЗ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ВОСПАЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ГЕМОДИАЛИЗЕ 957

Краткие сообщения

Малышева И.Е., Топчиева Л.В., Тихонович Э.Л.

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА rs1800857 ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-1А (IL1A) В РАЗВИТИИ САРКОИДОЗА ЛЕГКИХ (НА ПРИМЕРЕ ЖИТЕЛЕЙ КАРЕЛИИ) 967

Сергевнин В.И., Рожкова М.В., Овчинников К.В., Кузовникова Е.Ж.

ЭТИОЛОГИЯ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В 2015–2022 гг. 972

Титова А.В., Гивойно У.К., Денисова Т.П.

СОПУТСТВУЮЩИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ПРИ COVID-19 И КТ-СЕМИОТИКА СТАЦИОНАРНЫХ БОЛЬНЫХ 979

В помощь практическому врачу

Борисов С.Д., Каримов И.Ф., Плотников А.О., Инчагова К.С., Паньков А.С., Даньшин Д.П.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО ОСТЕОМИЕЛИТА, ВЫЗВАННОГО АССОЦИАЦИЕЙ КУТОСОCCUS SCHROETERI И ENTEROCOCCUS FAECALIS 985

Некролог

ПАМЯТИ НАТАЛИИ НИКОЛАЕВНЫ БЕСЕДНОВОЙ 995

Правила для авторов 997

Авторский указатель 1000

Предметный указатель 1000

CONTENTS

Reviews

Talayev V.Yu., Svetlova M.V., Zaichenko I.Ye., Babaykina O.N., Voronina E.V., Chistyakov S.I.

INTERACTION OF B-CELL RECEPTORS AND ANTIGENS WITH DIFFERENT SPATIAL ARRANGEMENT 809

Kiseleva I.V., Musaeva T.D.

FROM CORONAVIRUSES TO CORONAVIRUSES 822

Zorina V.N.

THE MOLECULAR MIMICRY AND COVID-19 841

Original articles

Zuev E.V., Markova O.A., Kulemzin S.V., Poteryaev D.A., Litvinova N.A., Korotkevich I.A., Grigoryeva T.V., Khamitov R.A.

VIRUS NEUTRALIZING ANTIBODIES IN PSEUDOVIRUS PARTICLE NEUTRALIZATION REACTION AS A BIOANALYTICAL PART OF A SALNAVAC® VACCINE CLINICAL TRIAL 853

Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Komelkova M.V., Zurochka V.A., Praskurnichiy E.A., Ryabova L.V., Sarapultsev A.P.

ALTERATION IN INNATE IMMUNE CUES ASSESSED BY ANALYZING PERIPHERAL BLOOD IMMUNE SYSTEM IN POST-COVID PATIENTS 864

Saitgalina M.A., Ostankova Yu.V., Arsentieva N.A., Korobova Z.R., Liubimova N.E., Kashchenko V.A., Kulikov A.N., Pevtsov D.E., Stanevich O.V., Chernykh E.I., Totolian A.A.

ASSESSMENT OF TREC AND KREC LEVELS IN COVID-19 PATIENTS WITH VARYING DISEASE SEVERITY 873

SeyedAlinaghi S., Afsahi A.M., Molla A., Mirzapour P., Shahidi R., Siami H., Rad F.F., Abbaspour F., Mozafari N., Fakhredini K., Mehraeen E., Dadras O.

AN UMBRELLA REVIEW ON TREATMENTS AND THERAPEUTIC OPTIONS FOR COVID-19 885

Makarova M.A., Kruglov E.E., Kaftyreva L.A.

BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE ENTEROAGGREGATIVE *ESCHERICHIA COLI* ONT:H30 18-726 (No. B-8857) STRAIN ISOLATED FROM A PATIENT WITH ULCERATIVE COLITIS AND A NEW METHOD OF PCR IDENTIFICATION 899

Karmokov I.A., Riabiko E.G., Blinova O.V., Kolosovskaya E.N., Tokarevich N.K.

EPIDEMIC STATUS IN RUSSIA'S NORTHWESTERN FEDERAL DISTRICT: TICK-BORNE ENCEPHALITIS AND IXODES TICK-BORNE BORRELIOSIS (LYME DISEASE), 2002–2021 909

Kurlaeva L.V., Stepanova T.F., Stepanova K.B., Kosyreva A.N., Bakstanovskaya I.V., Kalgina G.A., Grigorieva S.A.

IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH CHRONIC OPISTHORCHIASIS BEARING GENE MUTATIONS ASSOCIATED WITH OSTEOPOROSIS-PREDISPOSITION 923

Esmedlyaeva D.S., Alekseeva N.P., Dyakova M.E.

BIOCHEMICAL MARKERS ASSESSING RATE OF REPARATIVE PROCESSES IN PATIENTS WITH INFILTRATIVE PULMONARY TUBERCULOSIS 931

Turdieva Sh.T., Ganieva D.K., Nasirova G.R.

INFLUENCE OF INHALED BACTERIOPHAGE THERAPY ON ORAL MUCOSAL IMMUNITY IN CHILDREN WITH ACUTE TONSILLITIS 939

Kozlova Yu.I., Vasiliev N.Yu., Frolova E.V., Uchevatkina A.E., Filippova L.V., Aak O.V., Sobolev A.V., Vasilyeva N.V.

ALLERGIC FUNGAL AIRWAY DISEASES: ANALYSIS OF DATA IN ASTHMA PATIENT REGISTER 947

Hadi H.H., Al-Mayali H.H., Abdalsada H.K., Moustafa S.R., Almulla A.F., Al-Hakeim H.K.

PREDICTION OF INFLAMMATION IN HEMODIALYSIS PATIENTS USING NEURAL NETWORK ANALYSIS 957

Short communications*Malysheva I.E., Topchieva L.V., Tikhonovich E.L.*

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF INTERLEUKIN-1A (IL1A) rs1800857 GENETIC POLYMORPHISM IN DEVELOP PULMONARY SARCOIDOSIS IN RESIDENTS OF KARELIA	967
---	------------

Sergevnin V.I., Rozhkova M.V., Ovchinnikov K.V., Kuzovnikova E.Zh.

ETIOLOGY OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA IN CHILDREN AND ADULTS BASED ON 2015–2022 BACTERIOLOGICAL AND MOLECULAR GENETIC STUDIES	972
---	------------

Titova A.V., Givoyno U.K., Denisova T.P.

INPATIENT COVID-19-RELATED COMORBIDITIES AND CT-SEMIOTICS	979
--	------------

For the practical physicians*Borisov S.D., Karimov I.F., Plotnikov A.O., Inchagova K.S., Pankov A.S., Danshin D.P.*

A CLINICAL CASE OF POSTTRAUMATIC OSTEOMYELITIS ASSOCIATED WITH KYTOCOCCUS SCHROETERI AND ENTEROCOCCUS FAECALIS	985
---	------------

Obituary

IN MEMORY OF NATALIA N. BESEDNOVA	995
--	------------

Instructions to Authors	997
--------------------------------------	------------

Author index	1000
---------------------------	-------------

Subject index	1000
----------------------------	-------------

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ В-КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ И АНТИГЕНОВ С РАЗЛИЧНЫМ ПРОСТРАНСТВЕННЫМ РАСПОЛОЖЕНИЕМ

В.Ю. Талаев¹, М.В. Светлова¹, И.Е. Заиченко¹, О.Н. Бабайкина¹, Е.В. Воронина¹, С.И. Чистяков²

¹ ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия

² ГБУЗ НО Нижегородский областной центр крови им. Н.Я. Климовой, г. Нижний Новгород, Россия

Резюме. В-клеточные рецепторы могут взаимодействовать с эпитопами антигенов на различных объектах: макромолекулах, микроорганизмах или на поверхности других клеток, например, фолликулярных дендритных клеток. Соответственно, В-клетки, с одной стороны, имеют возможность оценивать расположение эпитопов на поверхности патогена, а с другой стороны, они должны адаптировать свой рецепторный аппарат к различным вариантам расположения эпитопов и свойствам несущих антиген поверхностей. Действительно, В-клеточные рецепторы и антитела лучше связывают объекты с регулярным и плотным расположением эпитопов, характерным для многих патогенов. В результате, такое расположение эпитопов может распознаваться как патоген-ассоциированный геометрический паттерн, однако условия этого распознавания зависят от изотипа мембранного иммуноглобулина и степени зрелости В-лимфоцита. Юные В-клетки экспрессируют мембранный IgM, который участвует в развитии В-клеток и селекции их репертуара. Рецепторы с IgM не предъявляют жестких требований к расположению эпитопов и могут активировать В-клетку даже при связывании моновалентного антигена. Рецепторы с мембранным IgD экспрессируются позднее и преобладают на наивных В-клетках перед их вступлением в иммунный ответ. Эти рецепторы оптимизированы для двухточечного связывания антигена и строго нуждаются в таком типе взаимодействия для индукции активационного сигнала. До контакта с антигеном В-клеточные рецепторы сгруппированы в дискретных зонах мембраны — нанокластерах, за счет тесных взаимодействий с актиновым цитоскелетом. Контакт с антигеном ведет к отсоединению рецепторов от цитоскелета, росту их подвижности и объединению нанокластеров в микрокластеры — крупные скопления, обогащенные сигнальными молекулами. Наиболее динамичные изменения наблюдаются при контакте с антигеном, фиксированным на мембране другой клетки. В этом случае свободный актин перемещается на периферию зоны межклеточного контакта, где формирует цитоскелет отростков, несущих скопления рецепторов. Отростки распространяются по поверхности клетки-партнера, а затем сокращаются, перемещая связавшие антиген микрокластеры в центр зоны контакта. Наконец, микрокластеры объединяются в центральный кластер иммунного синапса, интенсивность активационного сигнала падает, и клетка готовится к эндоцитозу сгруппированных на локальном участке антигенов. Таким образом, структура В-клеточных рецепторов может способствовать реакции В-лимфоцита на антигены с характерным пространственным расположением, тогда как динамическое взаимодействие В-клеточного рецепторного аппарата с цитоскелетом позволяет оптимизировать связывание

Адрес для переписки:

Талаев Владимир Юрьевич
603950, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71,
ФБУН НИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (831) 469-79-48.
E-mail: talaev@inbox.ru

Contacts:

Vladimir Yu. Talayev
603950, Russian Federation, Nizhny Novgorod, Malaya
Yamskaya str., 71, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod
Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology.
Phone: +7 (831) 469-79-48.
E-mail: talaev@inbox.ru

Для цитирования:

Талаев В.Ю., Светлова М.В., Заиченко И.Е., Бабайкина О.Н., Воронина Е.В., Чистяков С.И. Взаимодействие В-клеточных рецепторов и антигенов с различным пространственным расположением // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 809–821. doi: 10.15789/2220-7619-EOB-14033

Citation:

Talayev V.Yu., Svetlova M.V., Zaichenko I.Ye., Babaykina O.N., Voronina E.V., Chistyakov S.I. Interaction of B-cell receptors and antigens with different spatial arrangement // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 809–821. doi: 10.15789/2220-7619-EOB-14033

антигенов, представленных на разнообразных носителях. Знание пространственных аспектов распознавания антигенов может быть полезно для конструирования вакцин на основе вирусоподобных частиц или антигенов на других искусственных носителях.

Ключевые слова: В-клеточный рецептор, антиген, эпитоп, активация, цитоскелет, вирусоподобные частицы.

INTERACTION OF B-CELL RECEPTORS AND ANTIGENS WITH DIFFERENT SPATIAL ARRANGEMENT

Talayev V.Yu.^a, Svetlova M.V.^a, Zaichenko I.Ye.^a, Babaykina O.N.^a, Voronina E.V.^a, Chistyakov S.I.^b

^aAcademician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Nizhny Novgorod, Russian Federation

^bN.Ya. Klimova Nizhny Novgorod Regional Blood Center, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Abstract. B-cell receptors can interact with antigen epitopes on various objects: macromolecules, microorganisms or on the surface of other cells, e.g., follicular dendritic cells. Accordingly, B cells, on the one hand, have the ability to evaluate the location of pathogen surface epitopes, and, on the other hand, they must adapt their receptor apparatus to different epitope locations and antigen-bearing surface properties. Indeed, B-cell receptors and antibodies better bind objects with regular and dense epitope arrangement characteristic of many pathogens. As a result, such epitope arrangement can be recognized as a pathogen-associated geometric pattern, but the conditions for such recognition depend on the isotype of membrane immunoglobulin and the degree of B cell maturity. Young B cells express membrane IgM, which is involved in B cell development and the selection of their repertoire. Receptors with IgM do not impose strict requirements on epitope location and can activate B cells even upon binding a monovalent antigen. Receptors with membrane IgD are expressed later and predominate on naive B cells before entering the immune response. These receptors are optimized for two-point antigen binding and strictly require this type of interaction to induce an activation signal. Before contact with antigen, B-cell receptors are grouped in discrete membrane zones — nanoclusters, due to close interactions with the actin cytoskeleton. Contact with the antigen leads to the detachment of receptors from the cytoskeleton, rise in their mobility and the combining nanoclusters into microclusters — large clusters enriched with signaling molecules. The most dynamic changes are observed upon contact with an antigen fixed on the membrane of adjacent cell. In this case, free actin moves to the periphery of the intercellular contact zone, where it forms the cytoskeleton of the processes carrying receptor clusters. The processes spread across the surface of the partner cell and then contract, moving the antigen-binding microclusters to the center of the contact zone. Finally, the microclusters combine into a central cluster of the immune synapse, the intensity of the activation signal drops, and the cell prepares for endocytosis of antigens grouped at the local site. Thus, the structure of B-cell receptors can contribute to the response of the B-lymphocyte to antigens with a characteristic spatial location, while the dynamic interaction between B-cell receptor apparatus and the cytoskeleton allows optimizing the binding of antigens presented on various carriers. Knowledge on spatial aspects of antigen recognition may be useful for the construction of vaccines based on virus-like particles or antigens on other artificial carriers.

Key words: B-cell receptor, antigen, epitope, activation, cytoskeleton, virus-like particles.

Введение

Согласно принятой научной парадигме, клетки иммунной системы идентифицируют потенциально опасные объекты по наличию определенных молекул. Клетки врожденного иммунитета ведут поиск инфекционных агентов с помощью наследуемых рецепторов, распознающих патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (ПАМП) — группы химических соединений, типичных для микромира, но не характерных для высших растений и животных [51]. Наряду с ПАМП врожденный иммунитет распознает эндогенные маркеры повреждений, вызванных инфекцией [49]. Распознавание этих чужеродных или эндогенных молекул стимулирует функции клеток врожденного иммунитета. В частности, у дендритных клеток и макрофагов это распознавание стимулирует эндоцитоз

и активирует продукцию цитокинов, частичный гидролиз собранного материала и презентацию полученных фрагментов Т-лимфоцитам для запуска адаптивного иммунного ответа. Следует отметить, что не только наличие определенных молекул, но и геометрические параметры чужеродных объектов, в частности, их размер и форма, могут оказывать влияние на эндоцитоз и презентацию поглощенного материала [2].

Клетки адаптивного иммунитета, то есть Т- и В-лимфоциты, также не лишены способности распознавать некоторые ПАМП, однако основным объектом распознавания для них являются отдельные участки (эпитопы) антигенов (АГ) — любых макромолекул, несущих признаки генетической чужеродности. Эти клетки разделены на множество клонов, каждый из которых снабжен уникальным АГ-распознающим рецептором, многообразие которых формируется

при реаранжировке генов в ходе лимфопоэза. Т-клетки распознают небольшие фрагменты молекул АГ, представленные на специализированных молекулах главного комплекса гистосовместимости (МНС). В-лимфоциты, подобно клеткам врожденного иммунитета, могут взаимодействовать непосредственно с чужеродными объектами, например, с макромолекулами, комплексами этих молекул и даже с целыми микроорганизмами, но поиск этих объектов они осуществляют с помощью АГ-распознающих В-клеточных рецепторов (BCR). Таким образом, основным признаком чужеродности для В-лимфоцита является наличие клоноспецифического эпитопа АГ, однако реакция В-клеток на АГ может существенно различаться в зависимости от количества и характера расположения эпитопов на чужеродном объекте. Так, В-клетки эффективно активируются вирусными частицами, по поверхности которых равномерно и достаточно плотно распределены одинаковые антигенные эпитопы [8]. Регулярное расположение АГ характерно для многих структур патогенов, и, по мнению Bachmann и Zinkernagel, иммунная система в ходе эволюции приобрела способность реагировать на эти структуры, как на своеобразные геометрические паттерны, ассоциированные с патогенами. Действительно, упорядоченное расположение эпитопов на поверхности объекта обеспечивает многовалентное взаимодействие с мультимерными молекулами иммунной системы, в частности, с пентамерным IgM, фактором комплемента C1q, пентраксинами, фиколинами и коллектинами [7]. Не менее очевидными представляются преимущества распознавания эпитопов двумя АГ-связывающими центрами мембранного иммуноглобулина (mIg) в составе каждого BCR. Для этого расстояние между эпитопами на чужеродном объекте должно соответствовать расстоянию между антигенсвязывающими центрами. Для IgG с учетом гибкости молекулы иммуноглобулина такое расстояние составляет от 10 до 15 нм. Известно, что двухточечное взаимодействие антител с АГ может многократно увеличивать avidность взаимодействия, а значит — стабильность комплекса АГ–антитело. В результате для нейтрализации патогена с достаточно плотным расположением эпитопов (например, вируса гриппа с расстоянием между белковыми шипами около 10 нм) могут потребоваться концентрации моноклональных антител изотипа IgG в сотни и даже тысячи раз меньшие, чем концентрации моновалентных Fab фрагментов тех же антител [58]. По аналогии с растворимыми антителами следует предположить, что связывание двух эпитопов молекулой mIg на мембране В-клетки увеличивает avidность взаимодействия, что должно существенно повлиять на реакцию В-клетки, од-

нако оказалось, что различия в реакции В-клетки при распознавании одного или двух эпитопов АГ сильно зависят от изотипа mIg (см. ниже). Также остается неясным, каким образом особенности функционирования BCR, их движение и распределение по поверхности В-лимфоцита влияют на оценку пространственного расположения АГ: вводят ли они дополнительные требования к некому шаблону «идеального» расположения эпитопов или обеспечивают В-клетке большую гибкость при взаимодействии с различными вариантами их пространственного расположения. Данные, касающиеся этих вопросов, мы попытались изложить в следующих разделах.

Структура и функции В-клеточного рецептора

BCR состоит из mIg и гетеродимера CD79a/CD79b (Ig α /Ig β). Связывание mIg с клоноспецифическим АГ вызывает конформационные изменения сигнального гетеродимера Ig α /Ig β и запускает выполнение двух ключевых функций BCR: передачу внутрь В-клетки активационного сигнала и рецептор-опосредованный эндоцитоз объектов, несущих АГ [14, 52, 87, 108]. АГ-индуцированная активация ведет к вовлечению В-клетки в иммунный ответ, а поглощение чужеродных объектов, их разрушение и презентация полученных пептидов на молекулах МНС II дает В-лимфоциту возможность когнатного взаимодействия с Т-хелпером, что во многом определяет характер участия В-клетки в иммунном ответе [1]. Так, набор АГ, эффективно активирующих В-клетки без помощи Т-хелперов, ограничен Т-независимыми АГ, и типичным результатом такой активации является созревание В-клеток в короткоживущие плазмоциты, которые обеспечивают быструю, но недолговечную продукцию антител с низкой аффинностью. Взаимодействие В-лимфоцита с Т-хелпером, распознанным презентуемым В-клеткой пептид, обеспечивает В-клетку дополнительной стимуляцией и позволяет ей включиться в полноценный Т-зависимый гуморальный иммунный ответ. При этом активированная В-клетка мигрирует в фолликул вторичного лимфоидного органа, где участвует в формировании зародышевого центра, пролиферирует и запускает рекомбинацию ДНК для переключения класса иммуноглобулинов, а также процесс соматических гипермутаций, который вносит случайные минимальные модификации в антигенсвязывающий центр иммуноглобулина [1]. Удачные модификации увеличивают аффинность связывания mIg со специфическим АГ и позволяют В-клетке эффективнее поглощать АГ, хранящийся на фолликулярных дендритных клетках, тогда как модификации, снижающие аффинность mIg, при-

водят В-лимфоцит к проигрышу в конкурентной борьбе за АГ. В конечном итоге В-лимфоциты с улучшенными модификациями mIg монополизируют возможность собирать и презентовать АГ, получают очередные раунды стимуляции от фолликулярных Т-хелперов, пролиферируют и созревают в В-клетки памяти и долгоживущие плазмциты, которые продуцируют высокоаффинные антитела различных изотипов — растворимые аналоги «удачных» вариантов модифицированных В-клеточных mIg [9, 77, 86, 108].

Как уже было отмечено, ключевую роль в запуске активационного сигнала от BCR играет гетеродимер Ig α /Ig β , цепи которого имеют цитоплазматические участки с характерными последовательностями из 4 аминокислот — мотивами активации иммунорецептора на основе тирозина (ITAM) [15, 87, 113]. Связывание АГ с mIg индуцирует внутрирецепторную передачу сигнала через взаимодействие трансмембранных доменов mIg, Ig α и Ig β , объединенных в одном пространстве внутри бислоя мембраны [68]. В результате конформационных изменений мотивы ITAM цитоплазматических доменов Ig α и Ig β становятся доступными для взаимодействия с тирозинкиназами Lyn (Lck/Yes p тирозинкиназа кожи) и Syk (тирозинкиназа селезенки) [22, 45, 60, 91, 95]. Эти ферменты фосфорилируют тирозин в ITAM, что ведет к стабилизации связи сигнальных тирозинкиназ с комплексом BCR [22, 45, 60, 91, 95]. BCR-ассоциированные тирозинкиназы фосфорилируют и активируют корецептор CD19, адаптерные белки Vav и сигнальные ферменты: фосфолипазу C γ [56, 60, 112] и фосфоинозитол-3-киназу [22, 113]. Фосфолипаза расщепляет фосфатидилинозитолы на вторичные сигнальные месенджеры: диацилглицерол, который способствует активации протеинкиназы C, и инозитолтрифосфат, который вызывает высвобождение Ca²⁺ в цитозоль и активацию различных внутриклеточных сигналов, регулируемых кальцием [61]. Перевод малых ГТФаз Ras и Rap1 в активное ГТФ-связанное состояние запускает каскады активации митоген-активируемых протеинтирозинкиназ JNK, Erk и p38, что, в конечном итоге, приводит к изменению экспрессии генов [12].

Следует обратить внимание, что приведенная выше максимально упрощенная схема рассматривает отдельные BCR как самодостаточные молекулярные инструменты, функционирующие независимо друг от друга. Очевидно, что это не вполне соответствует действительности и, в частности, не позволяет объяснить различий слабого действия растворимых моновалентных АГ и мощного активирующего эффекта поливалентных АГ. Интересно, что АГ, связанные с мембраной клетки, распознаются В-лимфоцитом при межклеточном взаимодействии еще эффективнее и имеют меньший

порог активации [6, 98, 109]. Это согласуется с преимущественным способом распознавания АГ в лимфоидных органах *in vivo*, где В-лимфоциты в ходе процесса, который можно называть МНС-независимой презентацией, обнаруживают АГ, хранящийся на поверхности фолликулярных дендритных клеток, обычных дендритных клеток и макрофагов [16, 38, 113].

Попытки анализа данных о распознавании различных АГ привели к созданию двух взаимоисключающих моделей, в которых ключевую роль в передаче сигнала играет изменение взаимодействия между отдельными BCR на мембране В-клетки: модели перекрестного связывания и модели активации диссоциацией [72, 74, 75, 99, 100, 116]. В первой гипотетической модели распознавание антигена вызывает сборку нескольких BCR в олигомеры более высокого порядка, которые эффективно рекрутируют и используют сигнальные молекулы, что позволяет инициировать передачу сигнала [67, 98]. Согласно второй модели в олигомеризованной форме существуют неактивные BCR, взаимно подавляющие сигнальные возможности друг друга, тогда как встреча клетки с АГ ведет к выходу отдельных BCR из состава олигомера, что повышает доступность их мотивов ITAM для цитозольных тирозинкиназ и обеспечивает передачу сигнала [57, 109, 115, 116]. Интересно, что по мнению авторов обеих моделей, столь разные механизмы иницируются одним и тем же процессом — взаимодействием BCR с поливалентным АГ. Однако в первой модели одинаковые эпитопы поливалентного АГ должны располагаться на строго определенном малом расстоянии, которое вызовет стягивание BCR на локальном участке мембраны, тогда как вторая модель не требует точного расстояния между эпитопами, но оно должно быть большим, чем в первой модели, для того чтобы распределить BCR по мембране так, чтобы они не могли образовывать олигомерные скопления [115]. Новые экспериментальные данные не позволяют принять или отвергнуть ни одну из указанных выше моделей, но создают более сложные представления о перемещениях BCR по поверхности клетки, их кластеризации, взаимодействии с корецепторами и цитоскелетом, особенностях функционирования BCR с разными изотипами mIg.

Различия взаимодействия мембранных IgM и IgD с моновалентными и поливалентными антигенами

Как известно, изотип mIg в составе BCR меняется по мере созревания В-клеток. У юных В-лимфоцитов (переходных В-клеток стадии T1 у мышей) антигенсвязывающий компонент BCR представлен «мономерной» (состоящей из двух

легких и двух тяжелых цепей) молекулой mIgM. На стадии созревания T2 наряду с mIgM на мембране появляется mIgD, который становится преобладающим изотипом на зрелых наивных В-клетках с соотношением mIgD к mIgM, равным, приблизительно, 65:35. Для синтеза mIgM и mIgD клетки используют варианты мРНК, образующиеся в результате альтернативного сплайсинга, при котором из единой молекулы-предшественника удаляется либо экзон IGHD (C δ), кодирующий константную область тяжелой цепи IgD, либо IGHM (C μ), кодирующий соответствующую область IgM. В результате, mIgM и mIgD на одной В-клетке отличаются константными доменами тяжелых цепей (CH), но обладают одинаковыми переменными доменами с идентичными антигенсвязывающими центрами [87, 108]. После встречи с антигеном В-клетка может инициировать рекомбинацию ДНК с удалением из генома последовательностей, кодирующих отдельные CH, в первую очередь C μ и C δ . В результате клетка безвозвратно утрачивает возможность синтезировать IgM и IgD и экспрессирует на своей мембране другой изотип mIg.

Как известно, CH не вступают в непосредственное взаимодействие с АГ, однако они влияют на процесс его обнаружения, определяя расстояние между сайтами связывания АГ и гибкость молекул Ig разных изотипов [18, 102, 105]. По этой причине различные изотипы mIg могут по-разному взаимодействовать с АГ в зависимости от валентности и плотности эпитопов у поливалентных АГ. Так, IgM имеет короткую шарнирную область CH между фрагментами Fab и Fc, тогда как IgD имеет длинную шарнирную область с заряженными остатками и O-гликозилированием [21, 44]. Эта область у IgD обладает большой гибкостью для ориентации антигенсвязывающих Fab-фрагментов, что облегчает связывание с двумя эпитопами поливалентного АГ [44, 90]. Однако BCR с mIgD (IgD-BCR) не только оптимизированы для двухточечного связывания с поливалентным АГ. Как показали эксперименты с экспрессией генетических конструкций, кодирующих различные изотипы Ig с заданной специфичностью, IgD-BCR при связывании моновалентного АГ не индуцирует активацию В-клетки, и для индукции активационного сигнала ему требуется связывание с АГ, объединенным в мультивалентные комплексы. В то же время IgM-BCR с той же антигенной специфичностью может активировать клетку при взаимодействии с АГ как в моновалентной, так и мультивалентной форме [106]. В том же исследовании было показано, что анергичные В-клетки с повышенным соотношением mIgD:mIgM не реагируют на моновалентные АГ, но полностью сохраняют чувствительность к поливалентным АГ.

Оценить вклад mIgM и mIgD в иммунный ответ помогают эксперименты с созданием селективного дефицита этих изотипов за счет удаления экзонов C μ или C δ . В-клетки мышей, лишенные IgM-BCR, экспрессируют в 1,5–2 раза больше IgD-BCR по сравнению с В-клетками дикого генотипа [82]. В-клетки краевых зон селезенки при дефиците IgM развиваются нормально, количество В-клеток фолликулов лимфатических узлов несколько увеличивается [71, 80, 82], тогда как количество В1-подобных клеток уменьшается [19]. Следует отметить, что В1-клетки часто относят к врожденному иммунитету из-за ограниченного репертуара Ig, и для своего развития они требуют сильной передачи сигналов через BCR [19]. Мыши, лишенные IgM, имеют дефект раннего переключения классов Ig, что приводит к нарушению генерации короткоживущих плазмочитов, продуцирующих IgG1, хотя количество непереключенных IgM⁺-плазмочитов не изменяется [82]. Таким образом, дефицит рецепторов с mIgM вызывает компенсаторный рост экспрессии mIgD, но, несмотря на это, проявляется в дефекте развития врожденных В-клеток и ранних событий гуморального иммунного ответа.

Дефицит IgD приводит к слабому росту экспрессии IgM-BCR и небольшому уменьшению количества фолликулярных В-клеток [80, 90], но вызывает изменение поздних событий первичного Т-зависимого ответа на белковые АГ: ведет к снижению титров антиген-специфических IgG1 и IgG2 у иммунизированных животных, а также вызывает 3–4-дневную задержку созревания аффинитета антител [80, 90].

Таким образом, IgM-BCR эффективно активируется как моновалентными, так и поливалентными АГ и используется для отбора и выживания незрелых В-клеток, а также функционирования врожденных В1-клеток. IgD-BCR не является необходимым для отбора и выживания незрелых В-клеток, хотя в отсутствие IgM-BCR может обеспечивать эти процессы при условии повышенной экспрессии. По-видимому, IgD-BCR необходим для эффективной функции зрелых В-клеток. Предполагается, что рост экспрессии mIgD при созревании В-клеток снижает исходно высокое количество IgM-BCR, тем самым устанавливая переменный диапазон экспрессии mIgM на В-клетках разных стадий созревания [82]. Поскольку IgD-BCR эффективно активируется только связыванием поливалентного АГ, частичное замещение IgM-BCR на IgD-BCR снижает чувствительность созревающих В-клеток к моновалентным АГ, что по мнению Maity с соавт. [73] является способом предотвращения гуморального ответа на аутоантигены, которые рецептируются В-лимфоцитами, преимущественно, как отдельные молекулы. Это предположение подтверждается данными об усилении

продукции аутоантител в моделях системных аутоиммунных реакций при их сочетании с нокаутом IgD [40, 82]. Несмотря на снижение чувствительности к моновалентным АГ, зрелые В-клетки сохраняют чувствительность к поливалентным АГ, представляющим собой характерный патоген-ассоциированный геометрический паттерн.

Исключением являются В1-клетки, которые обладают высокой поверхностной экспрессией mIgM и низкой экспрессией mIgD. В результате они легко вовлекаются в иммунный ответ на распространенные микробные АГ, но могут активироваться аутоантигенами. Однако предполагается, что аутореактивность В1-клеток используется для выполнения полезных функций, например, удаления клеточного мусора [73].

Расположение BCR на мембране полежащих В-клеток

Изучение топографии BCR стало возможным благодаря развитию микроскопии сверхвысокого разрешения, в частности, микроскопии прямой стохастической оптической реконструкции (dSTORM) [46, 62, 72, 76]. Этот метод позволяет добиться 10-кратного улучшения разрешения изображения по сравнению со стандартной флуоресцентной микроскопией и получить информацию о расположении молекул в нанометровом масштабе [64, 72, 76]. Наблюдение за движением одиночных частиц по мембране осуществляют с помощью флуоресцентной микроскопии полного внутреннего отражения (TIRFM), существенно улучшенной в последние годы [27, 67, 111].

На поверхности зрелой В-клетки экспрессировано более ста тысяч комплексов BCR [76] и их взаимное расположение различается у полежащих лимфоцитов и клеток, взаимодействующих с АГ. Следует отметить, что исследование молекулярной топографии полежащих клеток требует строгого отсутствия стимуляции. Окрашивание проводят на льду с использованием флуоресцентных зондов, которые эффективно связываются как с отдельными, так и с олигомеризованными BCR, но не вызывают их активации [33, 72]. Эксперименты с соблюдением этих условий и использованием TIRFM показали, что BCR на полежащих В-клетках не передвигаются свободно по наружной мембране, а собраны в дискретных зонах диаметром от 40 до 200 нм [97, 104]. Подвижность BCR в покое оказалась небольшой, и средний коэффициент диффузии, определенный для IgM-BCR, составил $0,03 \text{ мкм}^2/\text{с}$ [76, 98, 103]. Данные dSTORM и результаты двухмаркерной электронной микроскопии показали, что BCR на полежащих В-клетках объединены в нанокластеры или белковые островки [44, 62, 72, 75, 76]. Более того, IgM-BCR и IgD-BCR раздельно

формируют кластеры, различающиеся по размерам и количеству рецепторов [57, 72, 74, 76]. Нанокластеры, состоящие из IgD-BCR крупнее и содержат в среднем 48 BCR на участке мембраны с радиусом около 240 нм, тогда как нанокластеры IgM-BCR содержат 30 BCR и имеют радиус около 150 нм [44, 72, 76]. Следовательно, среднее расстояние между АГ-связывающими центрами соседних BCR в нанокластерах полежащих клеток больше расстояния между двумя центрами одного mIg и может составлять, в зависимости от ориентации mIg, от 46 до 58 нм в нанокластерах IgM-BCR и от 58 до 70 нм в нанокластерах IgD-BCR. Однако это расстояние рассчитано для плоского нанокластера, и оно может существенно уменьшаться на вогнутом участке мембраны при взаимодействии с мелким объектом с большой кривизной поверхности, например, капсидом вируса или жгутиком бактерии. Отдельные нанокластеры IgM-BCR и IgD-BCR разделяет расстояние около 300–350 нм [44, 72].

Свойства участков мембраны, на которых локализованы нанокластеры IgM-BCR и IgD-BCR, существенно отличаются. IgD-BCR расположены в области липидных рафтов и локализованы с гликозилфосфатидилинозитол-связанным белком CD52, GM1-ганглиозидами и рецептором CD19, тогда как IgM-BCR у полежащих В-клеток расположены на «обычных» участках мембраны и только после активации сближаются с CD19 — коактиватором передачи сигналов BCR [10, 23, 37, 44, 57, 74, 75, 76, 107,]. Также после активации IgM-BCR входит в контакт с рецепторной фосфатазой CD22, которая действует как ингибитор передачи сигналов BCR. До контакта В-клетки с АГ CD22 существует в отдельных предварительно сформированных нанокластерах [37, 79].

В нанокластерах вместе с IgD-BCR расположена молекула CXCR4, которая является рецептором хемокина CXCL12 [50, 53] и контролирует миграцию зрелых В-клеток во вторичные лимфоидные ткани [3, 28]. Интересно, что активация CXCR4 хемокином и последующая миграция В-клеток не зависит от наличия IgM-BCR, но требует наличия на мембране IgD-BCR [10], по-видимому, нуждаясь в сигнальных возможностях этих BCR и ассоциированных с ним молекул для передачи собственного сигнала.

Передвижения BCR при взаимодействии с АГ

В течение нескольких минут после контакта В-лимфоцита с АГ, связанным с мембраной клетки-партнера, происходит увеличение размеров нанокластеров BCR. Также увеличивается количество рецепторов в кластерах, хотя плотность их расположения снижается [62, 67].

Кроме того, увеличивается боковая подвижность BCR до $0,05 \text{ мкм}^2/\text{с}$ [98, 103], что приводит к столкновениям между нанокластерами и образованию микрокластеров BCR, в которые могут входить до 500 BCR, содержащих как mIgM, так и mIgD [36, 62]. В течение следующих 5–10 минут В-лимфоцит увеличивает площадь контакта с несущей АГ мембраной [34] и образует больше микроскоплений BCR. При этом микроскопления движутся к центру контакта [95] со средней скоростью $\sim 0,01 \text{ мкм}/\text{с}$ [34, 65]. Затем распластывание В-лимфоцита сменяется сжатием, и микроскопления образуют центральный надмолекулярный кластер активации — ядро иммунного синапса [17, 72, 92]. Когда микроскопления объединяются друг с другом, боковая подвижность отдельных молекул BCR в кластерах снижается до $0,02 \text{ мкм}^2/\text{с}$ [103]. Для сборки зрелого иммунного синапса требуется около 10 минут, после чего происходит интернализация АГ [96].

Многовалентный растворимый АГ может вызывать сходную динамику BCR, при этом центральный кластер BCR образуется на одном из полюсов клетки и вместо сжатия В-лимфоцита может наблюдаться только формирование в этой области выступающей структуры [66].

Предполагается, что функциональный смысл этих морфологических изменений заключается в следующем. Микрокластеры BCR эффективнее рекрутируют сигнальные молекулы и опосредуют трансдукцию сигнала, играя роль «микросигналом» [29, 95, 100, 112], а объединение микрокластеров в центральный кластер иммунного синапса оптимизирует эндоцитоз АГ [34]. В соответствии с этим, от образования микроскоплений и иммунного синапса зависит как степень активации В-клетки, так и количество АГ, представляемого Т-хелперам [92]. Также можно предположить, что активизация латерального передвижения кластеров BCR при контакте с АГ и их последующее стягивание в одну область иммунного синапса позволяет увеличить захват эпитопов АГ с различным исходным расположением на объекте. Различия образования микроскоплений BCR и иммунного синапса при ответе на разные АГ могут отражать процесс адаптации В-клеток к таким свойствам, как плотность, валентность, аффинность и подвижность эпитопов АГ, а также жесткость и топография несущих АГ субстратов [54, 55, 67, 93]. По-видимому, регуляцию этой адаптивной способности В-клеток осуществляет актиновый цитоскелет.

Взаимодействие BCR с цитоскелетом

В-лимфоциты имеют цитоскелет кортикального типа или клеточную кору, которая представляет собой тонкую сеть волокон филаментозного актина (F-актина), расположенную под

плазматической мембраной и соединенную с ней мембран-цитоскелетными линкерами: миозином 1 и тремя родственными белками ERM: эзрином, радиксином и моэзином [25, 85]. Наряду с F-актином клеточная кора содержит более ста актин-связывающих белков [25]. Натяжение коры создается миозином-2 [24, 69], а морфологические изменения клеток осуществляются с помощью изменения конфигурации цитоскелета за счет разборки старых и сборки новых актиновых филаментов под управлением актин-связывающих белков: нуклеаторов F-актина, регуляторов сборки и разборки актина и агентов, сшивающих актин [11, 25]. В частности, образование и рост линейного полимера F-актина инициируют нуклеаторы F-актина [70], а связанный с актином комплекс белка 2/3 способствует образованию разветвленного F-актина [13, 25]. Деполимеризация (разборка) F-актина ускоряется белками семейства кофилинов [11, 25, 48]. Комбинированные действия этих актин-связывающих белков регулируют образование различных выступающих структур клетки [30, 69, 83], таких как плоские ламеллиподии, скелет которых состоит из разветвленного F-актина, или тонкие филоподии, содержащие линейный F-актин [84, 114]. Динамические изменения актинового цитоскелета имеют решающее значение для адгезии и миграции В-клеток [4, 5, 66, 88], определяют их морфологию и подвижность BCR [63].

Как было указано выше, в покоящихся В-клетках подвижность BCR ограничена. Это ограничение подвижности зависит от цитоплазматического домена $\text{Ig}\beta$ и плотности расположения F-актина под плазматической мембраной, тогда как разрушение актиновой сети латрункулином А увеличивает латеральную подвижность BCR [37, 42, 104]. Кроме того, сеть из актина и эзрина, находящегося в активной конформации, связывает цитоскелет с интегральными мембранными белками, включая BCR, и участвует в сосредоточении этих рецепторов в пределах нанокластеров [41, 103].

Связывание BCR с АГ вызывает временную и, по-видимому, локальную разборку актинового цитоскелета, индуцированную кофилином, а также утрату связи между сетью F-актина и белками плазматической мембраны за счет дефосфорилирования (инактивации) эзрина [36, 103]. В результате как свободные, так и связавшие АГ рецепторы освобождаются от сети, удерживающей их цитоплазматические домены, и увеличивают свою подвижность [104]. Это позволяет нанокластерам BCR сталкиваться, образовывать микроскопления [103] и включать в них корецепторы CD19 [26, 37, 75, 96, 101].

Интересно, что активация кофилина и дополнительное увеличение подвижности BCR наблюдается при распознавании В-клеткой

липополисахарида или CpG ДНК с помощью паттерн-распознающих Toll-подобных рецепторов. В результате, сочетанное распознавание АГ и ПАМП усиливает передачу сигналов BCR и снижает порог активации В-клеток [35].

Вскоре после разборки цитоскелета вновь усиливается полимеризация актина в области сформированных микрокластеров BCR [47, 65, 66], причем этот процесс блокируется ингибиторами тирозинкиназы, а значит, зависит от активационного сигнала, индуцированного распознаванием АГ [104]. Структура вновь сформированного участка цитоскелета становится более динамичной и поляризованной, чем до контакта с АГ, однако она не тормозит, а способствует продолжению формирования микроскоплений BCR [20]. В частности, F-актин может перемещаться миозином в формируемые звездообразные структуры, что, по-видимому, может продвигать в кластеры белки, связанные с цитоскелетом [43, 59, 101]. Действительно, во время активации В-клеток наблюдаются линейные движения BCR в богатых актином областях, например на периферии филоподии [98].

Две фазы индуцированных АГ изменений цитоскелета могут влиять на локализацию BCR в липидных рафтах. Выше отмечалось, что нанокластеры IgM-BCR на покоящихся В-клетках находятся в обычных участках мембраны вне рафтов. В первой фазе дефосфорилирование эзрина приводит к отсоединению от актинового цитоскелета не только BCR, но и липидных рафтов, обогащенных сигнальными молекулами [42], что облегчает их взаимодействие со свободно передвигающимися BCR [41, 95]. Во второй фазе происходит повторная сборка актинового цитоскелета и рефосфорилирование эзрина [103], приводящее к стабилизации вновь возникших взаимодействий между BCR и сигнальными молекулами в пределах рафта [42, 103].

Связь динамических изменений цитоскелета с морфологией В-клеток наиболее ярко прослеживается при контакте с АГ, ассоциированным с поверхностью клетки-партнера. Первичный контакт с несущей АГ мембраной осуществляет филоподия В-лимфоцита. Наступает фаза распада кортикального цитоскелета и перераспределения актина [34, 36]. Затем F-актин накапливается в области контакта, особенно на периферии этой зоны, в результате чего образуются филоподии и ламеллоподии, которые удлиняются и сокращаются, «ощупывая» мембрану вокруг зоны первичного контакта [66]. Во время роста этих структур на их поверхности, часто на концах, образуются новые микроскопления BCR, которые контактируют с АГ, а во время сокращения отростков эти микроскопления передвигаются к центру зоны контакта [65, 66]. В дальнейшей агрегации микроскоплений BCR в централь-

ный кластер участвует сеть микротрубочек [94]. Этот процесс требует участия моторного белка динеина и каркасного белка IQGAP1 для связи микротрубочек с актиновым цитоскелетом [110]. Площадь контакта между В-клеткой и мембраной, несущей АГ, продолжает увеличиваться в течение нескольких минут [34], при этом содержание F-актина поддерживается на периферии области контакта, но уменьшается вблизи сливающихся кластеров BCR [36, 47, 66]. В то же время наблюдается снижение динамики мембран В-клеток с преобладанием сокращения над вытягиванием отростков, и наступает сжатие контактной зоны. При этом ретроградный поток актина и механическая сила, рожденная сжатием, приводит к агрегации микроскоплений и образованию центрального кластера BCR [34, 65]. Формирование центрального кластера сопровождается ослаблением активационного сигнала [65] и, по-видимому, готовит клетку к экстракции молекул АГ с поверхности клетки-партнера и их поглощению.

В-лимфоциты поглощают АГ клатрин-зависимым эндоцитозом. Для этого после связывания АГ цитоплазматические домены BCR взаимодействуют с клатрином, который полимеризуется, образуя плоскую сеть под кластером. Сеть взаимодействует с белками-индукторами искривления и начинает прогибать внутрь наружную мембрану, пока не образуется везикула, которая сливается с ранней эндосомой для сортировки поглощенного материала. При поглощении малых объектов (агрегаты молекул, вирусные частицы) формирование везикул диаметром 100–150 нм не требует участия цитоскелета, и актин используется лишь при внутриклеточной транспортировке везикулы. При росте количества BCR, связавших АГ, увеличивается площадь задействованного участка мембраны, и формирование крупной везикулы происходит с ранним участием актинового цитоскелета [32, 89].

Практическое значение обсуждаемой темы

Знания о функционировании BCR могут иметь не только теоретическое, но и практическое значение. Так, исследование взаимодействия BCR с корецепторами, сигнальными молекулами и цитоскелетом может помочь в поиске мишеней терапевтического воздействия для лечения иммунологически опосредованных заболеваний, а изучение связи между наноразмерной топографией АГ-содержащих структур и эффективностью их распознавания может оказаться полезным для повышения иммуногенности вакцин. Современные методы позволяют создавать искусственные объекты с упорядоченной организацией поверхности, состоящей из повто-

ряющихся точно ориентированных элементов. Примером таких искусственных объектов являются вирусоподобные частицы (ВПЧ). Их размеры, форма, набор и ориентация АГ могут быть такими же, как в капсидах или оболочках родительских вирионов или в субвирусных частицах. Наряду с этим, с помощью генно-инженерных методов или химического конъюгирования создаются химерные ВПЧ, в которых поверхность частиц из белков одного вируса покрывают АГ других возбудителей. ВПЧ лишены инфекционности, но могут эффективно индуцировать иммунный ответ на свои АГ и поэтому активно используются для разработки вакцин [7]. К настоящему времени десятки вакцин на основе ВПЧ находятся в процессе разработки и испытаний [78, 81], а ВПЧ-вакцины против гепатитов В и Е, папилломавирусов человека, *Plasmodium falciparum* [78, 81, 117] и ветеринарные вакцины против цирковируса свиней [39] разрешены к использованию. Однако копирование естественных вирусных оболочек не всегда является оптимальным способом дизайна вакцин, поскольку вирусы в ходе эволюции приобрели способность уклоняться от действия иммунной системы, в том числе затруднять взаимодействие своих эпитопов с антителами и ВСР. Пример такой стратегии уклонения демонстрирует вирус иммунодефицита человека, который постоянно изменяет большинство антигенных эпитопов, маскирует консервативные эпитопы, закрывая их при олигомеризации, пряча внутри недоступных для антител карманов или экранируя высоковариабельными гибкими петлями, а также имеет необычное расположение АГ. Крайне малое количество белковых шипов (от 4 до 35

по сравнению, например, с 450 шипами у вируса гриппа) размещено на его суперкапсиде практически неподвижно, но крайне неравномерно с расстоянием от 7 до 80 нм, что предотвращает двухточечное связывание антител с большинством шипов [58]. В связи с этим при конструировании ВПЧ-вакцин против некоторых вирусов будет целесообразно отступить от природного прототипа, используя сведения о распознавании В-лимфоцитами вариантов пространственного расположения АГ. Также эти сведения будут полезны при создании вакцин на основе АГ, размещенных на иных искусственных, синтетических носителях, а также АГ, соединенных с мембранами.

Заключение

В-клеточные рецепторы зрелых наивных В-лимфоцитов, готовых к вступлению в иммунный ответ, требуют двухточечного связывания эпитопов антигена для активации и оптимизированы для распознавания мультивалентных антигенов, например частиц с регулярным и достаточно плотным расположением одинаковых эпитопов или антигенов, фиксированных на мембране других клеток иммунной системы. При этом рецепторный аппарат В-лимфоцитов, благодаря динамической связи с актиновым цитоскелетом клетки, может адаптироваться к различным вариантам расположения антигенов для усиления активационного сигнала и повышения эффективности эндоцитоза антигенов. По нашему мнению, знание пространственных аспектов распознавания антигенов может быть полезно при конструировании вакцин.

Список литературы/References

1. Кудрявцев И.В., Головкин А.С., Тотолян А.А. Т-хелперы и их клетки-мишени при COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 3. С. 409–426. [Kudryavtsev I.V., Golovkin A.S., Totolian A.A. T helper cell subsets and related target cells in acute COVID-19 *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 3, pp. 409–426. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-THC-1882
2. Талаев В.Ю., Заиченко И.Е., Бабайкина О.Н., Светлова М.В., Воронина Е.В. Пути эндоцитоза вирусоподобных частиц и презентация поглощенных антигенов // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 2. С. 219–233. [Talayev V.Y., Zaichenko I.Y., Babaykina O.N., Svetlova M.V., Voronina E.V. Virus-like particle endocytosis pathways and presentation of captured antigens *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2023, vol. 13, no. 2, pp. 219–233. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-VPE-8045
3. Allen C.D., Ansel K.M., Low C., Lesley R., Tamamura H., Fujii N., Cyster J.G. Germinal center dark and light zone organization is mediated by CXCR4 and CXCR5. *Nat. Immunol.*, 2004, vol. 5, no. 9, pp. 943–952. doi: 10.1038/ni1100
4. Arana E., Vehlou A., Harwood N.E., Vigorito E., Henderson R., Turner M., Tybulewicz V.L.J., Batista F.D. Activation of the small GTPase Rac2 via the B cell receptor regulates B cell adhesion and immunological-synapse formation. *Immunity*, 2008, vol. 28, pp. 88–99. doi: 10.1016/j.immuni.2007.12.003
5. Arpin M., Chirivino D., Naba A., Zwaenepoel I. Emerging role for ERM proteins in cell adhesion and migration. *Cell Adh. Migr.*, 2011, vol. 5, no. 2, pp. 199–206. doi: 10.4161/cam.5.2.15081
6. Avalos A.M., Bilate A.M., Witte M.D., Tai A.K., He J., Frushicheva M.P., Thill P.D., Meyer-Wentrup F., Theile C.S., Chakraborty A.K., Zhuang X., Ploegh H.L. Monovalent engagement of the BCR activates ovalbumin-specific transnuclear B cells. *J. Exp. Med.*, 2014, vol. 211, no. 2, pp. 365–379. doi: 10.1084/jem.20131603
7. Bachmann M.F., Jennings G.T. Vaccine delivery: a matter of size, geometry, kinetics and molecular patterns. *Nat. Rev. Immunol.*, 2010, vol. 10, pp. 787–796. doi: 10.1038/nri2868
8. Bachmann M.F., Zinkernagel R.M. Neutralizing antiviral B cell responses. *Annu. Rev. Immunol.*, 1997, vol. 15, pp. 235–270. doi: 10.1146/annurev.immunol.15.1.235

9. Barr T.A., Gray M., Gray D. B cells: programmers of CD4 T cell responses. *Infect. Disord. Drug Targets*, 2012, vol. 12, pp. 222–231. doi: 10.2174/187152612800564446
10. Becker M., Hobeika E., Jumaa H., Reth M., Maity P.C. CXCR4 signaling and function require the expression of the IgD-class B-cell antigen receptor. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2017, vol. 114, pp. 5231–5236. doi: 10.1073/pnas.1621512114
11. Biro M., Romeo Y., Kroschwald S., Bovellan M., Boden A., Tcherkezian J., Roux P.P., Charras G., Paluch E.K. Cell cortex composition and homeostasis resolved by integrating proteomics and quantitative imaging. *Cytoskeleton*, 2013, vol. 70, no. 11, pp. 741–754. doi: 10.1002/cm.21142
12. Bos J.L. Linking rap to cell adhesion. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2005, vol. 17, no. 2, pp. 123–128. doi: 10.1016/j.ceb.2005.02.009
13. Bovellan M., Romeo Y., Biro M., Boden A., Chugh P., Yonis A., Vaghela M., Fritzsche M., Moulding D., Thorogate R., Jégou A., Thrasher A.J., Romet-Lemonne G., Roux P.P., Paluch E.K., Charras G. Cellular control of cortical actin nucleation. *Curr. Biol.*, 2014, vol. 24, pp. 1628–1635. doi: 10.1016/j.cub.2014.05.069
14. Busman-Sahay K., Drake L., Sitaram A., Marks M., Drake J.R. Cis and trans regulatory mechanisms control AP2-mediated B cell receptor endocytosis via select tyrosine-based motifs. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 1: e54938. doi: 10.1371/journal.pone.0054938
15. Cambier J.C. New nomenclature for the Reth motif (or ARH1/TAM/ARAM/YXXL). *Immunol. Today*, 1995, vol. 16, no. 2: 110. doi: 10.1016/0167-5699(95)80105-7
16. Carrasco Y.R., Batista F.D. B cells acquire particulate antigen in a macrophage-rich area at the boundary between the follicle and the subcapsular sinus of the lymph node. *Immunity*, 2007, vol. 27, pp. 160–171. doi: 10.1016/j.immuni.2007.06.007
17. Carrasco Y.R., Fleire S.J., Cameron T., Dustin M.L., Batista F.D. LFA-1/ICAM-1 interaction lowers the threshold of B cell activation by facilitating B cell adhesion and synapse formation. *Immunity*, 2004, vol. 20, pp. 589–599. doi: 10.1016/S1074-7613(04)00105-0
18. Casadevall A., Janda A. Immunoglobulin isotype influences affinity and specificity. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2012, vol. 109, pp. 12272–12273. doi: 10.1073/pnas.1209750109
19. Casola S., Otipoby K.L., Alimzhanov M., Humme S., Uyttersprot N., Kutok J.L., Carroll M.C., Rajewsky K. B cell receptor signal strength determines B cell fate. *Nat. Immunol.*, 2004, vol. 5, pp. 317–327. doi: 10.1038/ni1036
20. Chaudhuri A., Bhattacharya B., Gowrishankar K., Mayor S., Rao M. Spatiotemporal regulation of chemical reactions by active cytoskeletal remodeling specificity. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2011, vol. 108, pp. 14825–14830. doi: 10.1073/pnas.1100007108
21. Chen K., Cerutti A. The function and regulation of immunoglobulin D. *Curr. Opin. Immunol.*, 2011, vol. 23, pp. 345–352. doi: 10.1016/j.coi.2011.01.006
22. Cheng A.M., Rowley B., Pao W., Hayday A., Bolen J.B., Pawson T. Syk tyrosine kinase required for mouse viability and B-cell development. *Nature*, 1995, vol. 378, no. 6554, pp. 303–306. doi: 10.1038/378303a0
23. Cherukuri A., Cheng P.C., Sohn H.W., Pierce S.K. The CD19/CD21 complex functions to prolong B cell antigen receptor signaling from lipid rafts. *Immunity*, 2001, vol. 14, pp. 169–79. doi: 10.1016/S1074-7613(01)00098-X
24. Chugh P., Clark A.G., Smith M.B., Cassani A.D., Dierkes K., Ragab A., Roux P.P., Charras G., Salbreux G., Paluch E.K. Actin cortex architecture regulates cell surface tension. *Nat. Cell Biol.*, 2017, vol. 19, pp. 689–697. doi: 10.1038/ncb3525
25. Chugh P., Paluch E.K. The actin cortex at a glance. *J. Cell Sci.*, 2018, vol. 131, no. 14: jcs186254. doi: 10.1242/jcs.186254
26. Clark E.A., Giltiay N.V. CD22: a regulator of innate and adaptive B cell responses and autoimmunity. *Front. Immunol.*, 2018, vol. 9: 2235. doi: 10.3389/fimmu.2018.02235
27. Davey A., Liu W., Sohn H.W., Brzostowski J., Pierce S.K. Understanding the initiation of B cell signaling through live cell imaging. *Methods Enzymol.*, 2012, vol. 506, pp. 265–290. doi: 10.1016/B978-0-12-391856-7.00038-X
28. Davids M.S., Burger J.A. Cell trafficking in chronic lymphocytic leukemia. *Open J. Hematol.*, 2012, vol. 3: 3. doi: 10.13055/ojhmt.3.S1.03.120221
29. Depoil D., Fleire S., Treanor B.L., Weber M., Harwood N.E., Marchbank K.L., Tybulewicz V.L.J., Batista F.D. CD19 is essential for B cell activation by promoting B cell receptor-antigen microcluster formation in response to membrane-bound ligand. *Nat. Immunol.*, 2008, vol. 9, pp. 63–72. doi: 10.1038/ni1547
30. Diz-Munoz A., Romanczuk P., Yu W., Bergert M., Ivanovitch K., Salbreux G., Heisenberg C.-F., Paluch E.K. Steering cell migration by alternating blebs and actin-rich protrusions. *BMC Biol.*, 2016, vol. 14: 74. doi: 10.1186/s12915-016-0294-x
31. Dustin M.L., Chakraborty A.K., Shaw A.S. Understanding the structure and function of the immunological synapse. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2010, vol. 2: a002311. doi: 10.1101/cshperspect.a002311
32. El-Sayed A., Harashima H. Endocytosis of gene delivery vectors: from clathrin-dependent to lipid raft-mediated endocytosis. *Mol. Ther.*, 2013, vol. 21, no. 6, pp. 1118–1130. doi: 10.1038/mt.2013.54
33. Fiala G.J., Kaschek D., Blumenthal B., Reth M., Timmer J., Schamel W.W. Pre-clustering of the B cell antigen receptor demonstrated by mathematically extended electron microscopy. *Front. Immunol.*, 2013, vol. 4: 427. doi: 10.3389/fimmu.2013.00427
34. Fleire S.J., Goldman J.P., Carrasco Y.R., Weber M., Bray D., Batista F.D. B cell ligand discrimination through a spreading and contraction response. *Science*, 2006, vol. 312, pp. 738–741. doi: 10.1126/science.1123940
35. Freeman S.A., Jaumouillé V., Choi K., Hsu B.E., Wong H.S., Abraham L., Graves M.L., Coombs D., Roskelley C.D., Das R., Grinstein S., Gold M.R. Toll-like receptor ligands sensitize B-cell receptor signalling by reducing actin-dependent spatial confinement of the receptor. *Nat. Commun.*, 2015, vol. 6: 6168. doi: 10.1038/ncomms7168
36. Freeman S.A., Lei V., Dang-Lawson M., Mizuno K., Roskelley C.D., Gold M.R. Cofilin-mediated F-actin severing is regulated by the Rap GTPase and controls the cytoskeletal dynamics that drive lymphocyte spreading and BCR microcluster formation. *J. Immunol.*, 2011, vol. 187, pp. 5887–5900. doi: 10.4049/jimmunol.1102233
37. Gasparrini F., Feest C., Bruckbauer A., Mattila P.K., Muller J., Nitschke L., Bray D., Batista F.D. Nanoscale organization and dynamics of the siglec CD22 cooperate with the cytoskeleton in restraining BCR signalling. *EMBO J.*, 2016, vol. 35, pp. 258–280. doi: 10.15252/emboj.201593027
38. Gonzalez S.F., Pitcher L.A., Mempel T., Schuerpf F., Carroll M.C. B cell acquisition of antigen in vivo. *Curr. Opin. Immunol.*, 2009, vol. 21, pp. 251–257. doi: 10.1016/j.coi.2009.05.013
39. Guo J., Hou L., Zhou J., Wang D., Cui Y., Feng X., Liu J. Porcine circovirus type 2 vaccines: commercial application and research advances. *Viruses*, 2022, vol. 14, no. 9: 2005. doi: 10.3390/v14092005

40. Guo L., Tian J., Guo Z., Zheng B., Han S. The absence of immunoglobulin D B cell receptor-mediated signals promotes the production of autoantibodies and exacerbates glomerulonephritis in murine lupus. *Clin. Exp. Immunol.*, 2011, vol. 164, pp. 227–235. doi: 10.1111/j.1365-2249.2011.04332.x
41. Gupta N., Wollscheid B., Watts J.D., Scheer B., Aebersold R., DeFranco A.L. Quantitative proteomic analysis of B cell lipid rafts reveals that ezrin regulates antigen receptor-mediated lipid raft dynamics. *Nat. Immunol.*, 2006, vol. 7, no. 6, pp. 625–633. doi: 10.1038/ni1337
42. Hao S., August A. Actin depolymerization transduces the strength of B-cell receptor stimulation. *Mol. Biol. Cell*, 2005, vol. 16, no. 5, pp. 2275–2284. doi: 10.1091/mbc.e04-10-0881
43. Haviv L., Brill-Karniely Y., Mahaffy R., Backouche F., Ben-Shaul A., Pollard T.D., Bernheim-Groswasser A. Reconstitution of the transition from lamellipodium to filopodium in a membrane-free system. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2006, vol. 103, pp. 4906–4911. doi: 10.1073/pnas.0508269103
44. Hobeika E., Maity P.C., Jumaa H. Control of B cell responsiveness by isotype and structural elements of the antigen receptor. *Trends Immunol.*, 2016, vol. 37, no. 5, pp. 310–320. doi: 10.1016/j.it.2016.03.004
45. Hong J.J., Yankee T.M., Harrison M.L., Geahlen R.L. Regulation of signaling in B cells through the phosphorylation of Syk on linker region tyrosines. A mechanism for negative signaling by the Lyn tyrosine kinase. *J. Biol. Chem.*, 2002, vol. 277, pp. 31703–31714. doi: 10.1074/jbc.M201362200
46. Huang B., Babcock H., Zhuang X. Breaking the diffraction barrier: super-resolution imaging of cells. *Cell*, 2010, vol. 143, pp. 1047–1058. doi: 10.1016/j.cell.2010.12.002
47. Huang L., Zhang Y., Xu C., Gu X., Niu L., Wang J., Sun X., Bai X., Xuan X., Li Q., Shi C., Yu B., Miller H., Yang G., Westerberg L.S., Liu W., Song W., Zhao X., Liu C. Rictor positively regulates B cell receptor signaling by modulating actin reorganization via ezrin. *PLoS Biol.*, 2017, vol. 15: e2001750. doi: 10.1371/journal.pbio.2001750
48. Ichetovkin I., Grant W., Condeelis J. Cofilin produces newly polymerized actin filaments that are preferred for dendritic nucleation by the Arp2/3 complex. *Curr. Biol.*, 2002, vol. 12, pp. 79–84. doi: 10.1016/S0960-9822(01)00629-7
49. Iwasaki A., Medzhitov R. Control of adaptive immunity by the innate immune system. *Nat. Immunol.*, 2015, vol. 16, no. 4, pp. 343–353. doi: 10.1038/ni.3123
50. Jacobson O., Weiss I.D. CXCR4 chemokine receptor overview: biology, pathology and applications in imaging and therapy. *Theranostics*, 2013, vol. 3, no. 1, pp. 1–2. doi: 10.7150/thno.5760
51. Janeway C.A. Jr. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 1989, vol. 54, pt 1, pp. 1–13. doi: 10.1101/sqb.1989.054.01.003
52. Jang C., Machtaler S., Matsuuchi L. The role of Ig- α/β in B cell antigen receptor internalization. *Immunol. Lett.*, 2010, vol. 134, no. 1, pp. 75–82. doi: 10.1016/j.imlet.2010.09.001
53. Karpova D., Bonig H. Concise review: CXCR4/CXCL12 signaling in immature hematopoiesis — lessons from pharmacological and genetic models. *Stem Cells*, 2015, vol. 33, pp. 2391–2399. doi: 10.1002/stem.2054
54. Ketchum C., Miller H., Song W., Upadhyaya A. Ligand mobility regulates B cell receptor clustering and signaling activation. *Biophys. J.*, 2014, vol. 106, pp. 26–36. doi: 10.1016/j.bpj.2013.10.043
55. Ketchum C.M., Sun X., Suberi A., Fourkas J.T., Song W., Upadhyaya A. Subcellular topography modulates actin dynamics and signaling in B-cells. *Mol. Biol. Cell*, 2018, vol. 29, pp. 1732–1742. doi: 10.1091/mbc.E17-06-0422
56. Kim Y.J., Sekiya F., Poulin B., Bae Y.S., Rhee S.G. Mechanism of B-cell receptor-induced phosphorylation and activation of phospholipase C- γ 2. *Mol. Cell. Biol.*, 2004, vol. 24, pp. 9986–9999. doi: 10.1128/MCB.24.22.9986-9999.2004
57. Klasener K., Maity P.C., Hobeika E., Yang J., Reth M. B cell activation involves nanoscale receptor reorganizations and inside-out signaling by Syk. *Elife*, 2014, vol. 3: e02069. doi: 10.7554/eLife.02069
58. Klein J.S., Bjorkman P.J. Few and far between: how HIV may be evading antibody avidity. *PLoS Pathog.*, 2010, vol. 6, no. 5: e1000908. doi: 10.1371/journal.ppat.1000908
59. Koster D.V., Husain K., Iljazi E., Bhat A., Bieling P., Mullins R.D., Rao M., Mayor S. Actomyosin dynamics drive local membrane component organization in an in vitro active composite layer. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2016, vol. 113, no. 12, pp. 1645–1654. doi: 10.1073/pnas.1514030113
60. Kurosaki T., Hikida M. Tyrosine kinases and their substrates in B lymphocytes. *Immunol. Rev.*, 2009, vol. 228, pp. 132–148. doi: 10.1111/j.1600-065X.2008.00748.x
61. Kurosaki T., Shinohara H., Baba Y. B cell signaling and fate decision. *Ann. Rev. Immunol.*, 2010, vol. 28, pp. 21–55. doi: 10.1146/annurev.immunol.021908.132541
62. Lee J., Sengupta P., Brzostowski J., Lippincott-Schwartz J., Pierce S.K. The nanoscale spatial organization of B-cell receptors on immunoglobulin M- and G-expressing human B-cells. *Mol. Biol. Cell*, 2017, vol. 28, pp. 511–523. doi: 10.1091/mbc.e16-06-0452
63. Li J., Yin W., Jing Y., Kang D., Yang L., Cheng J., Yu Z., Peng Z., Li X., Wen Y., Sun X., Ren B., Liu C. The coordination between B Cell receptor signaling and the actin cytoskeleton during B cell activation. *Front. Immunol.*, 2019, vol. 9: 3096. doi: 10.3389/fimmu.2018.03096
64. Lillemeier B.F., Mörtelmaier M.A., Forstner M.B., Huppa J.B., Groves J.T., Davis M.M. TCR and Lat are expressed on separate protein islands on T cell membranes and concatenate during activation. *Nat. Immunol.*, 2010, vol. 11, pp. 90–96. doi: 10.1038/ni.1832
65. Liu C., Miller H., Hui K.L., Grooman B., Bolland S., Upadhyaya A., Song W. A balance of Bruton's tyrosine kinase and SHIP activation regulates B cell receptor cluster formation by controlling actin remodeling. *J. Immunol.*, 2011, vol. 187, pp. 230–239. doi: 10.4049/jimmunol.1100157
66. Liu C., Miller H., Orłowski G., Hang H., Upadhyaya A., Song W. Actin reorganization is required for the formation of polarized B cell receptor signalosomes in response to both soluble and membrane-associated antigens. *J. Immunol.*, 2012, vol. 188, pp. 3237–3246. doi: 10.4049/jimmunol.1103065
67. Liu W., Meckel T., Tolar P., Sohn H.W., Pierce S.K. Antigen affinity discrimination is an intrinsic function of the B cell receptor. *J. Exp. Med.*, 2010, vol. 207, pp. 1095–1111. doi: 10.1084/jem.20092123
68. Lockey C., Young H., Brown J., Dixon A.M. Characterization of interactions within the Ig α /Ig β transmembrane domains of the human B-cell receptor provides insights into receptor assembly. *J. Biol. Chem.*, 2022, vol. 298, no. 5: 101843. doi: 10.1016/j.jbc.2022.101843

69. Logue J.S., Cartagena-Rivera A.X., Baird M.A., Davidson M.W., Chadwick R.S., Waterman C.M. Erk regulation of actin capping and bundling by Eps8 promotes cortex tension and leader bleb-based migration. *Elife*, 2015, vol. 4: e08314. doi: 10.7554/eLife.08314
70. Lu Y., Zhang Y., Pan M.H., Kim N.H., Sun S.C., Cui X.S. Daam1 regulates fascin for actin assembly in mouse oocyte meiosis. *Cell Cycle*, 2017, vol. 16, pp. 1350–1356. doi: 10.1080/15384101.2017.1325045
71. Lutz C., Ledermann B., Kosco-Vilbois M.H., Ochsenbein A.F., Zinkernagel R.M., Kohler G., Brombacher F. IgD can largely substitute for loss of IgM function in B cells. *Nature*, 1998, vol. 393, pp. 797–801. doi: 10.1038/31716
72. Maity P.C., Blount A., Jumaa H., Ronneberger O., Lillemeier B.F., Reth M. B cell antigen receptors of the IgM and IgD classes are clustered in different protein islands that are altered during B cell activation. *Sci. Signal.*, 2015, vol. 8, no. 394: ra93. doi: 10.1126/scisignal.2005887
73. Maity P.C., Datta M., Nicolò A., Jumaa H. Isotype specific assembly of B cell antigen receptors and synergism with chemokine receptor CXCR4. *Front. Immunol.*, 2018, vol. 18, no. 9: 2988. doi: 10.3389/fimmu.2018.02988
74. Maity P.C., Yang J., Klaesener K., Reth M. The nanoscale organization of the B lymphocyte membrane. *Biochim. Biophys. Acta*, 2015, vol. 1853, pp. 830–840. doi: 10.1016/j.bbamcr.2014.11.010
75. Mattila P.K., Batista F.D., Treanor B. Dynamics of the actin cytoskeleton mediates receptor cross talk: an emerging concept in tuning receptor signaling. *J. Cell Biol.*, 2016, vol. 212, pp. 267–280. doi: 10.1083/jcb.201504137
76. Mattila P.K., Feest C., Depoil D., Treanor B., Montaner B., Otipoby K.L., Carter R., Justement L.B., Bruckbauer A., Batista F.D. The actin and tetraspanin networks organize receptor nanoclusters to regulate B cell receptor-mediated signaling. *Immunity*, 2013, vol. 38, pp. 461–474. doi: 10.1016/j.immuni.2012.11.019
77. Mitchison N.A. T-cell-B-cell cooperation. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004, vol. 4, pp. 308–312. doi: 10.1038/nri1334
78. Mohsen M.O., Bachmann M.F. Virus-like particle vaccinology, from bench to bedside. *Cell. Mol. Immunol.*, 2022, vol. 19, pp. 993–1011. doi: 10.1038/s41423-022-00897-8
79. Muller J., Obermeier I., Wohner M., Brandl C., Mrotzek S., Angermuller S., Maity P.C., Reth M., Nitschke L. CD22 ligand-binding and signaling domains reciprocally regulate B-cell Ca²⁺ signaling. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2013, vol. 110, pp. 12402–12407. doi: 10.1073/pnas.1304888110
80. Nitschke L., Kosco M.H., Kohler G., Lamers M.C. Immunoglobulin D-deficient mice can mount normal immune responses to thymus-independent and -dependent antigens. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1993, vol. 90, pp. 1887–1891. doi: 10.1073/pnas.90.5.1887
81. Nooraei S., Bahrololum H., Hoseini Z.S., Katalani C., Hajizade A., Easton A.J., Ahmadian G. Virus-like particles: preparation, immunogenicity and their roles as nanovaccines and drug nanocarriers. *J. Nanobiotechnology*, 2021, vol. 19, no. 1: 59. doi: 10.1186/s12951-021-00806-7
82. Noviski M., Mueller J.L., Satterthwaite A., Garrett-Sinha L.A., Brombacher F., Zikherman J. IgM and IgD B cell receptors differentially respond to endogenous antigens and control B cell fate. *Elife*, 2018, vol. 7: e35074. doi: 10.7554/eLife.35074
83. Paluch E.K., Raz E. The role and regulation of blebs in cell migration. *Curr. Opin. Cell. Biol.*, 2013, vol. 25, pp. 582–590. doi: 10.1016/j.ceb.2013.05.005
84. Peng J., Wallar B.J., Flanders A., Swiatek P.J., Alberts A.S. Disruption of the diaphanous-related formin Drf1 gene encoding mDial reveals a role for Drf3 as an effector for Cdc42. *Curr. Biol.*, 2003, vol. 13, pp. 534–545. doi: 10.1016/S0960-9822(03)00170-2
85. Ponuwei G.A. A glimpse of the ERM proteins. *J. Biomed. Sci.*, 2016, vol. 23: 35. doi: 10.1186/s12929-016-0246-3
86. Rajewsky K. Clonal selection and learning in the antibody system. *Nature*, 1996, vol. 381, pp. 751–758. doi: 10.1038/381751a0
87. Reth M. Antigen receptor tail clue. *Nature*, 1989, vol. 338, pp. 383–384. doi: 10.1038/338383b0
88. Ricker E., Chowdhury L., Yi W., Pernis A.B. The RhoA-ROCK pathway in the regulation of T and B cell responses. *F1000 Res.*, 2016, vol. 5: F1000. doi: 10.12688/f1000research.7522.1
89. Roberts A.D., Davenport T.M., Dickey A.M., Ahn R., Sochacki K.A., Taraska J.W. Structurally distinct endocytic pathways for B cell receptors in B lymphocytes. *Mol. Biol. Cell*, 2020, vol. 31, no. 25, pp. 2826–2840. doi: 10.1091/mbc.E20-08-0532
90. Roes J., Rajewsky K. Immunoglobulin D (IgD)-deficient mice reveal an auxiliary receptor function for IgD in antigen-mediated recruitment of B cells. *J. Exp. Med.*, 1993, vol. 177, pp. 45–55. doi: 10.1084/jem.177.1.45
91. Rolli V., Gallwitz M., Wossning T., Flemming A., Schamel W.W., Zurn C., Reth M. Amplification of B cell antigen receptor signaling by a Syk/ITAM positive feedback loop. *Mol. Cell*, 2002, vol. 10, no. 5, pp. 1057–1069. doi: 10.1016/s1097-2765(02)00739-6
92. Roman-Garcia S., Merino-Cortes S.V., Gardeta S.R., de Bruijn J.W., Hendriks R.W., Carrasco Y.R. Distinct roles for bruton's tyrosine kinase in b cell immune synapse formation. *Front. Immunol.*, 2018, vol. 9: 2027. doi: 10.3389/fimmu.2018.02027
93. Rostam H.M., Singh S., Vrana N.E., Alexander M.R., Ghaemmaghami A.M. Impact of surface chemistry and topography on the function of antigen presenting cells. *Biomater. Sci.*, 2015, vol. 3, pp. 424–441. doi: 10.1039/C4BM00375F
94. Schnyder T., Castello A., Feest C., Harwood N.E., Oellerich T., Urlaub H., Engelke M., Wienands J., Bruckbauer A., Batista F.D. B cell receptor-mediated antigen gathering requires ubiquitin ligase Cbl and adaptors Grb2 and Dok-3 to recruit dynein to the signaling microcluster. *Immunity*, 2011, vol. 34, pp. 905–918. doi: 10.1016/j.immuni.2011.06.001
95. Sohn H.W., Tolar P., Pierce S.K. Membrane heterogeneities in the formation of B cell receptor-Lyn kinase microclusters and the immune synapse. *J. Cell Biol.*, 2008, vol. 182, pp. 367–379. doi: 10.1083/jcb.200802007
96. Song W., Liu C., Upadhyaya A. The pivotal position of the actin cytoskeleton in the initiation and regulation of B cell receptor activation. *Biochim. Biophys. Acta*, 2014, vol. 1838, pp. 569–578. doi: 10.1016/j.bbamem.2013.07.016
97. Suzuki K., Ritchie K., Kajikawa E., Fujiwara T., Kusumi A. Rapid hop diffusion of a G-protein-coupled receptor in the plasma membrane as revealed by single-molecule techniques. *Biophys. J.*, 2005, vol. 88, pp. 3659–3680. doi: 10.1529/biophysj.104.048538
98. Tolar P., Hanna J., Krueger P.D., Pierce S.K. The constant region of the membrane immunoglobulin mediates B cell-receptor clustering and signaling in response to membrane antigens. *Immunity*, 2009, vol. 30, pp. 44–55. doi: 10.1016/j.immuni.2008.11.007
99. Tolar P., Pierce S.K. A conformation-induced oligomerization model for B cell receptor microclustering and signaling. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2010, vol. 340, pp. 155–169. doi: 10.1007/978-3-642-03858-7_8
100. Tolar P., Sohn H.W., Pierce S.K. The initiation of antigen-induced B cell antigen receptor signaling viewed in living cells by fluorescence resonance energy transfer. *Nat. Immunol.*, 2005, vol. 6, pp. 1168–1176. doi: 10.1038/ni1262
101. Tolar P. Cytoskeletal control of B cell responses to antigens. *Nat. Rev. Immunol.*, 2017, vol. 17, pp. 621–634. doi: 10.1038/nri.2017.67

102. Torres M., May R., Scharff M.D., Casadevall A. Variable-region-identical antibodies differing in isotype demonstrate differences in fine specificity and idiotype. *J. Immunol.*, 2005, vol. 174, pp. 2132–2142. doi: 10.4049/jimmunol.174.4.2132
103. Treanor B., Depoil D., Bruckbauer A., Batista F.D. Dynamic cortical actin remodeling by ERM proteins controls BCR micro-cluster organization and integrity. *J. Exp. Med.*, 2011, vol. 208, pp. 1055–1068. doi: 10.1084/jem.20101125
104. Treanor B., Depoil D., Gonzalez-Granja A., Barral P., Weber M., Dushek O., Bruckbauer A., Batista F.D. The membrane skeleton controls diffusion dynamics and signaling through the B cell receptor. *Immunity*, 2010, vol. 32, pp. 187–199. doi: 10.1016/j.immuni.2009.12.005
105. Tudor D., Yu H., Maupetit J., Drillet A.S., Bouceba T., Schwartz-Cornil I., Lopalco L., Tuffery P., Bomsel M. Isotype modulates epitope specificity, affinity, and antiviral activities of anti-HIV-1 human broadly neutralizing 2F5 antibody. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2012, vol. 109, pp. 12680–12685. doi: 10.1073/pnas.1200024109
106. Übelhart R., Hug E., Bach M.P., Wossning T., Duhren-von Minden M., Horn A.H., Tsiantoulas D., Kometani K., Kurosaki T., Binder C.J., Sticht H., Nitschke L., Reth M., Jumaa H. Responsiveness of B cells is regulated by the hinge region of IgD. *Nat. Immunol.*, 2015, vol. 16, pp. 534–543. doi: 10.1038/ni.3141
107. Van Zelm M.C., Smet J., Adams B., Mascart F., Schandene L., Janssen F., Ferster A., Kuo C., Levy S., van Dongen J.J.M., van der Burg M. CD81 gene defect in humans disrupts CD19 complex formation and leads to antibody deficiency. *J. Clin. Invest.*, 2010, vol. 120, pp. 1265–1274. doi: 10.1172/JCI39748
108. Venkitaraman A.R., Williams G.T., Dariavach P., Neuberger M.S. The B-cell antigen receptor of the five immunoglobulin classes. *Nature*, 1991, vol. 352, pp. 777–781. doi: 10.1038/352777a0
109. Volkmann C., Brings N., Becker M., Hobeika E., Yang J. Molecular requirements of the B-cell antigen receptor for sensing monovalent antigens. *EMBO J.*, 2016, vol. 35, pp. 2371–2381. doi: 10.15252/embj.201694177
110. Wang J.C., Bolger-Munro M., Gold M.R. Visualizing the actin and microtubule cytoskeletons at the B-cell immune synapse using stimulated emission depletion (STED) microscopy. *J. Visual Exp.*, 2018, vol. 134: 57028. doi: 10.3791/57028
111. Wasim L., Treanor B. Single-particle tracking of cell surface proteins. *Methods Mol. Biol.*, 2018, vol. 1707, pp. 183–192. doi: 10.1007/978-1-4939-7474-0_13
112. Weber M., Treanor B., Depoil D., Shinohara H., Harwood N.E., Hikida M., Kurosaki T., Batista F.D. Phospholipase C-gamma2 and Vav cooperate within signaling microclusters to propagate B cell spreading in response to membrane-bound antigen. *J. Exp. Med.*, 2008, vol. 205, pp. 853–868. doi: 10.1084/jem.20072619
113. Weiss A., Littman D.R. Signal transduction by lymphocyte antigen receptors. *Cell*, 1994, vol. 76, pp. 263–274. doi: 10.1016/0092-8674(94)90334-4
114. Welch M.D., DePace A.H., Verma S., Iwamatsu A., Mitchison T.J. The human Arp2/3 complex is composed of evolutionarily conserved subunits and is localized to cellular regions of dynamic actin filament assembly. *J. Cell Biol.*, 1997, vol. 138, pp. 375–384. doi: 10.1083/jcb.138.2.375
115. Yang J., Reth M. Oligomeric organization of the B-cell antigen receptor on resting cells. *Nature*, 2010, vol. 467, no. 7314, pp. 465–469. doi: 10.1038/nature09357
116. Yang J., Reth M. The dissociation activation model of B cell antigen receptor triggering. *FEBS Lett.*, 2010, vol. 584, pp. 4872–4877. doi: 10.1016/j.febslet.2010.09.045
117. Zepeda-Cervantes J., Ramírez-Jarquín J.O., Vaca L. Interaction between virus-like particles (VLPs) and pattern recognition receptors (PRRs) from dendritic cells (DCs): toward better engineering of VLPs. *Front. Immunol.*, 2020, vol. 11: 1100. doi: 10.3389/fimmu.2020.01100

Авторы:

Талаев В.Ю., д.м.н., профессор, зав. лабораторией клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;

Светлова М.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;

Заиченко И.Е., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;

Бабайкина О.Н., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;

Воронина Е.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;

Чистяков С.И., д.м.н., профессор, главный врач ГБУЗ НО Нижегородский областной центр крови им. Н.Я. Климовой, г. Нижний Новгород, Россия.

Authors:

Talayev V.Yu., DSc (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Cellular Immunology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Svetlova M.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Zaichenko I.Ye., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Babaykina O.N., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Voronina E.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Chistyakov S.I., DSc (Medicine), Professor, Chief Physician, Nizhny Novgorod Regional Blood Center named after N.Ya. Klimova, Nizhny Novgorod, Russian Federation.

ОТ КОРОНАВИРУСОВ К КОРОНАВИРУСАМ

И.В. Киселева¹, Т.Д. Мусаева²

¹ ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Официальная история открытия коронавирусов человека отсчитывается с 1965 г., когда на органной культуре трахеи человеческого эмбриона из назальных смывов больного острым респираторным заболеванием был выделен первый коронавирус B814, к настоящему времени утерянный. Однако эта дата может являться только промежуточным этапом на длинном эволюционном пути этого возбудителя. Исследования палеовирусологов показали, что коронавирусы могли появиться еще в каменном веке — в эпоху верхнего палеолита, и местом их происхождения называют Восточную Азию — регион, хорошо известный вирусологам как источник появления многих высокопатогенных вирусов гриппа и новых коронавирусов, таких как SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2. Это заставляет по-иному взглянуть на кажущуюся безобидность сезонных коронавирусов, циркулировавших до 2002 г., когда появился патогенный для человека вирус, вызывавший SARS — атипичную пневмонию. Сюда же укладывается и предположение о коронавирусной природе пандемии русского гриппа 1889 г. Сегодня известны 4 сезонных коронавируса и 3 новых, высокопатогенных для человека. 2 сезонных коронавируса (229E и NL63) относят к роду *Alphacoronavirus*, 2 других (OC43 и HKU1) и 3 новых коронавируса (SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2) — к роду *Betacoronavirus*. В настоящем обзоре мы остановились на «крайних точках» — сезонных коронавирусах и пандемическом SARS-CoV-2. Мы попытались провести аналогию между ними и выявить основные черты, их отличающие. С точки зрения эпидемиологии и клиники их объединяет только воздушно-капельный путь передачи, характерный для всех респираторных вирусов, и повсеместное распространение, на характер и интенсивность которого не оказывают существенного влияния ни эпидемии, ни пандемии гриппа. Сезонные коронавирусы циркулировали даже в пандемию COVID-19, когда значительная часть других респираторных вирусов практически исчезла. Значительные различия между сезонными коронавирусами и SARS-CoV-2 прослеживаются в симптомах, тяжести и патогенезе заболеваний, которые они вызывают, а на структурном уровне между ними очень много общего. Это таксономическая близость, морфология, строение, физико-химические свойства вирионов, организация генома, основные этапы репликации вируса и многое другое. Что же сделало SARS-CoV-2 настолько агрессивным? Те немногие выявленные к настоящему моменту различия в размерах вирусных частиц и вирусного генома, использование или нет гемагглютининэстеразы для проникновения вируса в чувствительную клетку, прикрепление к разным клеточным рецепторам не могут объяснить существенную разницу в тяжести течения инфекции, которая вызывается сезонным либо пандемическим коронавирусом. Скорее всего, эти различия имеют в своей основе тонкие молекулярные механизмы, о которых еще только предстоит узнать.

Ключевые слова: острые респираторные инфекции, респираторные вирусы, коронавирусы человека, сезонные коронавирусы, пандемический SARS-CoV-2, особенности циркуляции коронавирусов.

Адрес для переписки:

Мусаева Тамила Даировна
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 15/17,
ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России.
Тел.: 8 (911) 025-21-19.
E-mail: tamilamusaeva94@mail.ru

Contacts:

Tamila D. Musaeva
197376, Russian Federation, St. Petersburg, Prof. Popova str., 15/17,
Smorodintsev Research Institute of Influenza.
Phone: +7 (911) 025-21-19.
E-mail: tamilamusaeva94@mail.ru

Для цитирования:

Киселева И.В., Мусаева Т.Д. От коронавирусов к коронавирусам // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 822–840. doi: 10.15789/2220-7619-FCT-15641

Citation:

Kiseleva I.V., Musaeva T.D. From coronaviruses to coronaviruses // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 822–840. doi: 10.15789/2220-7619-FCT-15641

Исследования проведены в рамках выполнения плановых тем фундаментальных научных исследований (№ 223020201869-5 и № 121051900143-7 в ЕГИСУ)
The research was carried out within the framework of the planned topics of fundamental scientific research (No. 223020201869-5 and No. 121051900143-7 in the Unified State Information System of Accounting)

FROM CORONAVIRUSES TO CORONAVIRUSES

Kiseleva I.V.^a, Musaeva T.D.^b

^a *Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation*

^b *Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation*

Abstract. The official history of the discovery of human coronaviruses dates back to 1965, when the first coronavirus B814, which has now been lost, was isolated on the human embryonic tracheal organ culture from the nasal swabs of a patient with acute respiratory disease. However, this time point can only be an intermediate stage on its long evolutionary path. Paleovirological studies have shown that coronaviruses could have appeared as early as in the Stone Age — in the Upper Paleolithic era, and East Asia is considered as their place of origin — a region that is well known to virologists as the source of many highly pathogenic influenza viruses and new coronaviruses, such as SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2. This makes us take a different look at the seeming “innocence” of seasonal coronaviruses that circulated before 2002, when a human pathogenic virus appeared that caused SARS. This also fits well into the assumption about the coronavirus nature of the 1889 Russian flu pandemic. Today, four seasonal and three new, pathogenic for human coronaviruses are known. Two seasonal coronaviruses (229E and NL63) belong to the genus Alphacoronavirus, 2 others (OC43 and HKU1) and three new coronaviruses (SARS, MERS and SARS-CoV-2) belong to the genus Betacoronavirus. In this review, we have focused on the “extreme points” — seasonal coronaviruses and pandemic SARS-CoV-2. We attempted to draw an analogy between them and identify their main distinguishing features. From the viewpoint of epidemiology and clinic, common what they have is only the airborne transmission route, characteristic of all respiratory viruses, and the ubiquitous distribution, the nature and intensity of which were not markedly affected by the influenza epidemics/pandemics. Seasonal coronaviruses continued to circulate even during the COVID-19 pandemic, when the majority of other respiratory viruses had largely disappeared. Significant differences between seasonal coronaviruses and SARS-CoV-2 can be traced in the symptoms, severity and pathogenesis of the diseases they cause. At the structural level, they have a lot common features including taxonomic proximity, morphology, structure, physicochemical properties of virions, genome organization, the main stages of virus replication, etc. What made SARS-CoV-2 such aggressive? The few differences in the size of viral particles and viral genome that have been identified to date, the use or not of hemagglutinin esterase to penetrate into a sensitive cell, attachment to different cell receptors cannot underlie a prominent difference in severity of the infection caused by seasonal or pandemic coronavirus. Most likely, that these differences are based on delicate molecular mechanisms that have yet to be discovered.

Key words: *acute respiratory infections, respiratory viruses, human coronaviruses, seasonal coronaviruses, pandemic SARS-CoV-2, features of coronaviruses circulation.*

Введение

Возбудители острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) — это самая распространенная группа тропных к мерцательному эпителию дыхательных путей вирусов, объединяемых путем передачи возбудителя, «входными воротами» инфекции и клиническими симптомами. Таксономически они очень далеки друг от друга и включают в себя вирусы гриппа и парагриппа, респираторно-синцитиальный вирус, риновирус, метапневмовирус, коронавирус, аденовирус и целый ряд других возбудителей. В клинической практике диагноз ОРВИ ставится в основном по совокупности симптомов и только в сравнительно редких случаях для выявления конкретного возбудителя используются методы лабораторной диагностики. Различные возбудители ОРВИ вызывают более или менее сходную симптоматику, которая включает повышение температуры тела, головную боль, озноб, общее недомогание и пр., а клинически заболевание выражается в виде острого ринита, острого фарингита, острого тонзиллита, острого ларинготрахеита и остро-

го бронхита [137]. Тяжелым проявлением ОРВИ является бронхиолит, который возникает как правило у младенцев [84]. В процессе развития вирусное заболевание может осложняться вторичной бактериальной инфекцией [4, 31].

Чаще всего ОРВИ протекают в виде легкого заболевания и проходят самостоятельно. Однако если вирусам удастся проникнуть в нижние дыхательные пути, ОРВИ приобретает тяжелую форму, которая может привести к вирусной пневмонии, острому респираторному дистресс-синдрому и к обострению хронических заболеваний [36]. На фоне сопутствующей патологии, снижения иммунитета, а также при высокой вирулентности вируса и неадекватном лечении, ОРВИ могут осложняться синуситами, евстахиитами, отитами, мастоидитом, тонзиллитами (аденоидитами), менингитами и энцефалитами. Например, основным клиническим признаком риновирусной инфекции является ринит. Однако зачастую заболевание может осложняться риносинуситом, ринофарингитом, острым средним отитом [18, 22] и даже поражением нижних дыхательных путей (бронхиолит, пневмония и астма) [18, 43, 96].

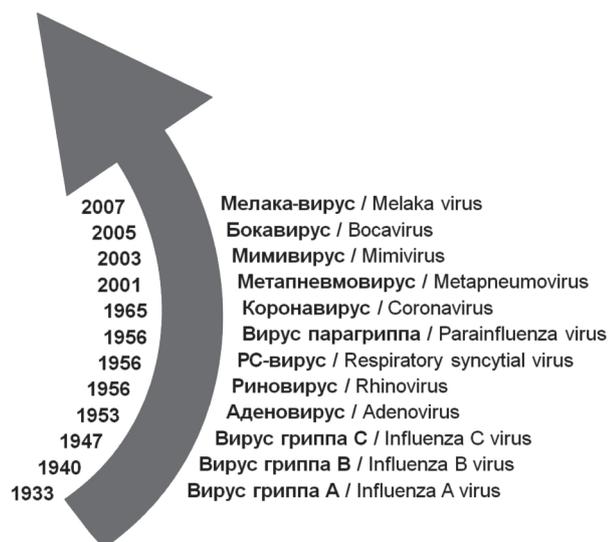


Рисунок 1. Хронология открытия основных сезонных респираторных вирусов человека (на основе [25, 26, 30, 40, 64, 65, 66, 85, 110, 113, 118, 125, 130, 132])

Figure 1. Chronology of discovery of major seasonal human respiratory viruses (based on [25, 26, 30, 40, 64, 65, 66, 85, 110, 113, 118, 125, 130, 132])

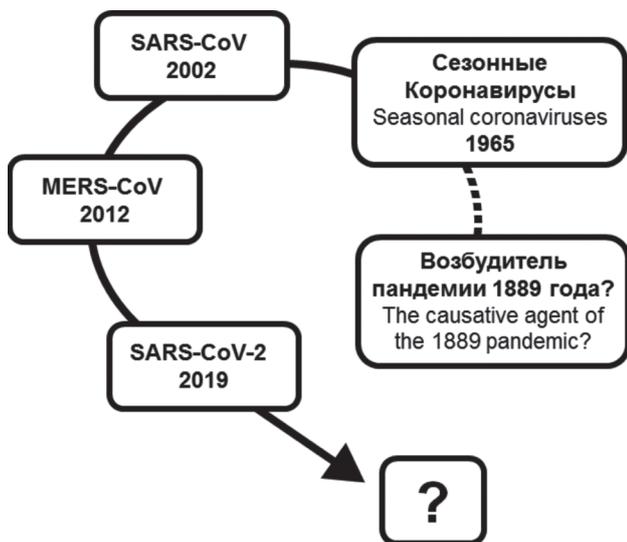


Рисунок 2. Хронология открытия коронавирусов человека

Figure 2. Timeline of discovery of human coronaviruses

История открытия респираторных вирусов человека берет начало с 1933 г., когда Smith с соавт. [118] выделил первый вирус гриппа А. Затем, с интервалом в несколько лет, были изолированы вирусы гриппа В (1940 г.) [46] и С (1947 г.) [125], аденовирус (1953 г.) [64, 113], риновирус (1956 г.) [110], респираторно-синциальный вирус (1956 г.) [25], вирус парагриппа (1956 г.) [26], коронавирус В814 (1965 г.) [65, 66, 130], метапневмовирус (2001 г.) [132] и бокавирус

(2005 г.) [12, 127] (рис. 1). В последние годы к официально признанным в качестве возбудителей ОРВИ вирусам добавились новые агенты: описанный в 2007 г. вирус Мелака [30] и гигантский мимивирус, первое упоминание о котором в научной литературе относится к 2003 г. [85] (рис. 1).

Группа респираторных вирусов постоянно пополняется новыми возбудителями. Не вызывает сомнений, что целый ряд вирусов, вызывающих сходные симптомы, до сих пор не идентифицирован.

В последнее время, в связи с распространением новых коронавирусов, значительно более патогенных для человека, чем обычные сезонные коронавирусы, они стали объектом пристального интереса исследователей. К сожалению, данных о циркуляции сезонных коронавирусов человека в период пандемии COVID-19 немного, но все говорит о том, что они не исчезали полностью из циркуляции во время экспансии SARS-CoV-2 [22, 80, 81], как это было со многими другими респираторными вирусами [27].

В настоящем обзоре мы попытались провести аналогию между двумя группами респираторных вирусов человека, двумя «крайними точками» — сезонными коронавирусами и вирусом SARS-CoV-2, внезапно появившимся в 2019 г. и мгновенно распространившимся по всему земному шару.

Хронология открытия и современная таксономия коронавирусов человека

Хронология открытия коронавирусов человека

Многие вирусы циркулируют в человеческой популяции на протяжении сотен и даже тысяч лет. Скорее всего, коронавирусы не составляют исключения и существуют гораздо дольше, чем нам об этом известно, но официально первый сезонный коронавирус человека (В814) был описан в 1965 г. Turgrell и Вупое [65, 66, 130] (рис. 2). К сожалению, он не сохранился до наших дней [3], также был утерян и целый ряд других сезонных коронавирусов человека [7].

Год спустя Hamge и Procknow [60] опубликовали результаты изоляции штамма 229Е от студента с симптомами ОРВИ, а в 1967 г. McIntosh с соавт. [98] сообщили о выделении целой серии штаммов, которые они обозначили как ОС1, ОС2 и т.д. Наибольшую известность из них получил штамм ОС43 [19], который, наряду с 229Е, до сих пор является модельным [78].

В 1968 г. первооткрыватели коронавирусов человека обратили внимание на сходство их электронных микрофотографий с солнечной короной в момент солнечного затмения [13], после чего название «коронавирус» прочно закрепилось за этим патогеном.

Известные в те годы коронавирусы человека считались настолько безопасными, что их даже пассировали на волонтерах [24, 130]. В 2002 г. ситуация кардинальным образом изменилась, когда новый бетакоронавирус был идентифицирован в Китае как возбудитель эпидемии атипичной пневмонии, или тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV, Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus) [139]. Предположительно люди заразились от промежуточного хозяина — гималайских цивет [57]. Детальное изучение SARS-CoV показало, что он является природно-очаговым вирусом, а его природный резервуар — летучие мыши [88, 99]. Вспышка атипичной пневмонии была достаточно локальной и не носила пандемический характер, но смертность от этой инфекции была достаточно высокой и приближалась к 10%. В 2004 г. вирус исчез также неожиданно, как появился и с тех пор не было зарегистрировано ни одного случая заражения людей [139].

Эпидемия атипичной пандемии, вызванная SARS-CoV, заставила по-новому взглянуть на кажущиеся безобидными коронавирусы и стимулировала активный исследовательский интерес ученых. Вскоре были обнаружены еще два сезонных коронавируса человека — в 2004 г. в Нидерландах был открыт альфакоронавирус NL63 [133], а через год в Гонконге от большого двусторонней пневмонией был выделен бетакоронавирус HKU1 [141].

Как было сказано выше, SARS-CoV исчез в 2004 г., но в 2012 г. в Саудовской Аравии зарегистрировали вспышку Ближневосточного респираторного синдрома (Middle East Respiratory Syndrome, MERS), вызванную новым бетакоронавирусом MERS-CoV [138]. Его природные очаги находятся на территории Аравийского полуострова, где в качестве резервуара вируса выступают рукокрылые [100, 120], которые могут заражать промежуточных хозяев, таких как верблюды. Предположительно, именно верблюды стали источником этого вируса для человека.

Ближневосточный респираторный синдром охватил более 25 стран, в основном Ближнего Востока, но были зарегистрированы случаи и за пределами Аравийского полуострова. Летальность составляла от 36 до 44% [138]. Затем эпидемия пошла на спад. Хотя в настоящее время MERS-CoV встречается реже, он продолжает вызывать спорадические локализованные вспышки в отдельных регионах мира, в первую очередь на Аравийском полуострове. Последний документированный случай был зарегистрирован 10 июля 2023 г. в Объединенных Арабских Эмиратах (ОАЭ). Это 94-й случай в ОАЭ, 12 случаев закончились летально [138]. В глобальном масштабе общее число подтвержденных случаев MERS, зарегистрированных

в ВОЗ с 2012 г., сегодня составляет 2605, включая 936 летальных исходов, которые связывают с этой инфекцией.

И наконец, в конце 2019 г. в Ухане (Китай) были зарегистрированы первые случаи летальной пневмонии неизвестной этиологии, которую позднее связали с новым коронавирусом 2019-nCoV, в настоящее время носящим официальное название SARS-CoV-2 [52]. Это был первый коронавирус, получивший пандемическую классификацию (рис. 2). Ученые предполагают его зооозное происхождение, но точный источник остается неизвестным [74]. Некоторые эксперты считают, что он передался людям от летучих мышей. Геном 2019-nCoV оказался гомологичен MERS-CoV на 50%, SARS-CoV — на 79%, а коронавирусу китайских подковоносов BtRsCoV — на 88%.

В хронологии открытия коронавирусов по-прежнему много неточностей и белых пятен [86]. Что касается завтрашнего дня, возможно, что эволюция SARS-CoV-2 на этом не остановится, и в обозримом будущем появится очередной коронавирус (рис. 2). Можно только надеяться, что он окажется не столь патогенным для человека. История знает примеры, когда несущие смертельную угрозу вирусы со временем постепенно становились менее опасными для человека. В частности — вирус гриппа А(Н1N1), вызвавший тяжелейшую пандемию «испанки» 1918 г., но постепенно ставший обычным сезонным вирусом. Существует теория, что и сезонный коронавирус человека OC43 первоначально обладал высоким смертельным потенциалом и, возможно, вызвал пандемию так называемого русского (азиатского) гриппа 1889 г. (см. ниже раздел «Происхождение русского гриппа 1889 г.»). Поэтому, оценивая перспективы эволюционного развития SARS-CoV-2, некоторые эксперты полагают, что он может стать менее смертоносным и более контактозным. Однако это не значит, что так и будет [34]. Все вирусы непредсказуемы, и невозможно предугадать, что принесет новый вариант SARS-CoV-2 в будущем.

Что же касается отдаленного прошлого, то не исключено, что официальная дата открытия первого сезонного коронавируса человека — 1965 год [130] — является только промежуточным этапом на эволюционном пути этого возбудителя, а история встреч человека с коронавирусами уходит в глубь гораздо более ранних времен [40, 42, 119]. Так, Souilmi с соавт. из Австралийского центра изучения древней ДНК [119] приводят доказательства происхождения вируса-возбудителя COVID-19 в Восточной Азии более 20–25 тыс. лет назад. Интересно, что данный факт ограничен одним восточноазиатским регионом и не был замечен в других частях мира.

Современная таксономия коронавируса человека

В 1971 г. Международный комитет по таксономии вирусов (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) признал имя *Coronavirus* в качестве названия рода [86], а в 1975 г. утвердил название семейства *Coronaviridae* [44]. В начале 2000-х гг. потребовался пересмотр таксономической структуры рода *Coronavirus* с целью повышение ранга таксонов, и в 9-м издании каталога «Virus Taxonomy Classification and Nomenclature of Viruses» ICTV [71] род *Coronavirus* приобрел статус подсемейства *Coronavirinae*, в которое, на основании гомологии последовательностей генома, вошли четыре рода (кластера) — *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* и *Deltacoronavirus*. Тогда же в роде *Betacoronavirus* стали различать четыре отдельные генетические линии: А, В, С и D [71].

Коронавирусы делятся на 4 рода на основании 90% идентичности аминокислотных последовательностей. Этот порог был предложен в качестве критерия разграничения видов внутри каждого рода и был определен на основе анализа парных аминокислотных расстояний в семи консервативных доменах репликазы [nsp3 ADPR, nsp5 (3CLpro), nsp12 (RdRp), nsp13 (Hel1), nsp14 (ExoN), nsp15 (NendoU), nsp16 (O-MT)] [70].

В 2017–2018 гг. таксономическая структура *Coronaviridae* в очередной раз была пересмотрена. Был произведен пересмотр ранговой структуры рода и введение нового ранга подрода [52]. Для этого количественно определяли вариации наиболее консервативных репликативных белков, закодированных в открытых рамках считывания 1a и 1b (ORF1a/1b) генома коронавируса, чтобы определить пороговые значения патристических дистанций, разграничивающих вирусные кластеры разного ранга. При этом утверждают, что пока нет единого мнения о точном таксономическом положении SARS-CoV-2 в подрode *Sarbecovirus* [52].

Согласно последней классификации ICTV от июля 2022 г., подтвержденной в марте 2023 г. [69], семейство *Coronaviridae* объединяет три подсемейства — *Letovirinae*, *Pitovirinae* и *Orthocoronavirinae*. Последнее, третье подсемейство в свою очередь включает четыре рода — *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Deltacoronavirus* и *Gammacoronavirus*. Сегодня название «коронавирус» используется для обозначения любого члена подсемейства *Orthocoronavirinae*. Многочисленные представители этого подсемейства поражают широкий круг животных, включая млекопитающих, птиц и земноводных; история их открытия подробно описана в обзоре [7]. Что касается человека, то на сегодняшний день, как отмечалось выше, известно семь коронавирусов [75]. Все они относятся к двум родам —

Alphacoronavirus (HCoV-229E и HCoV-NL63) и *Betacoronavirus* (HCoV-OC43, HCoV-NKU1, SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2) [34, 52, 91]. Аббревиатура «HCoV» была введена для обозначения коронавируса человека (human coronavirus, HCoV). Мы не касаемся в настоящем обзоре коронавирусов SARS-CoV, MERS-CoV, а ограничиваемся сравнением «крайних точек» — четырех классических сезонных коронавирусов с современным SARS-CoV-2.

Все пять рассматриваемых нами коронавирусов относятся к реалму *Riboviria*, царству *Orthornavirae*, типу (филуму) *Pisuviricota*, классу *Pisoniviricetes*, порядку *Nidovirales* и подпорядку *Cornidovirineae* [69]. В некоторых отечественных и зарубежных публикациях [6, 33, 76, 140] подпорядок *Cornidovirineae* обозначают как *Cornidovirinae*. Скорее всего, это просто распространенная опечатка, поскольку окончание «-пае» официально обозначает не подпорядок, а подсемейство.

Семейство *Coronaviridae* и подсемейство *Orthocoronavirinae* являются последними таксономическими единицами, включающими в себя все пять обсуждаемых сегодня вирусов. Различия между ними начинаются на уровне родов (рис. 3 и табл. 1). Как уже отмечалось выше, два сезонных коронавируса (HCoV-229E и HCoV-NL63), относятся к роду *Alphacoronavirus*, три остальных вируса, включая SARS-CoV-2 — к роду *Betacoronavirus*; внутри последнего выделены четыре отдельные генетические линии А, В, С и D [48, 71].

Известные на сегодняшний день бетакоронавирусы человека HCoV-OC43 и HCoV-NKU1 относятся к линии А, а SARS-CoV-2 — к линии В. Среди публикаций последних лет имеются некоторые разночтения в оценке принадлежности двух альфакоронавирусов — HCoV-229E и HCoV-NL63 к определенным генетическим линиям; в большей части публикаций последних лет не указываются их линии, деление на которые относится исключительно к бетакоронавирусам [48, 97]. Так, Fung и Liu [48] подчеркивают, что четыре линии А, В, С и D выделены в пределах рода *Betacoronavirus*; об альфакоронавирусах они пишут только, что к ним относятся сезонные вирусы HCoV-229E и HCoV-NL63. Однако в некоторых статьях авторы указывают на принадлежность альфакоронавирусов HCoV-229E и HCoV-NL63 к некоей «линии А» [121].

В ряде современных публикаций имеются определенные несоответствия и в определении видовой принадлежности HCoV-OC43. Одни авторы определяют его как вид HCoV-OC43, входящий (наряду с другим коронавирусом человека HKU1 и вирусом гепатита мышей) в род *Embecovirus* [67], другие относят его к подроду *Embecovirus* и виду *Betacoronavirus 1* [7, 48, 67],

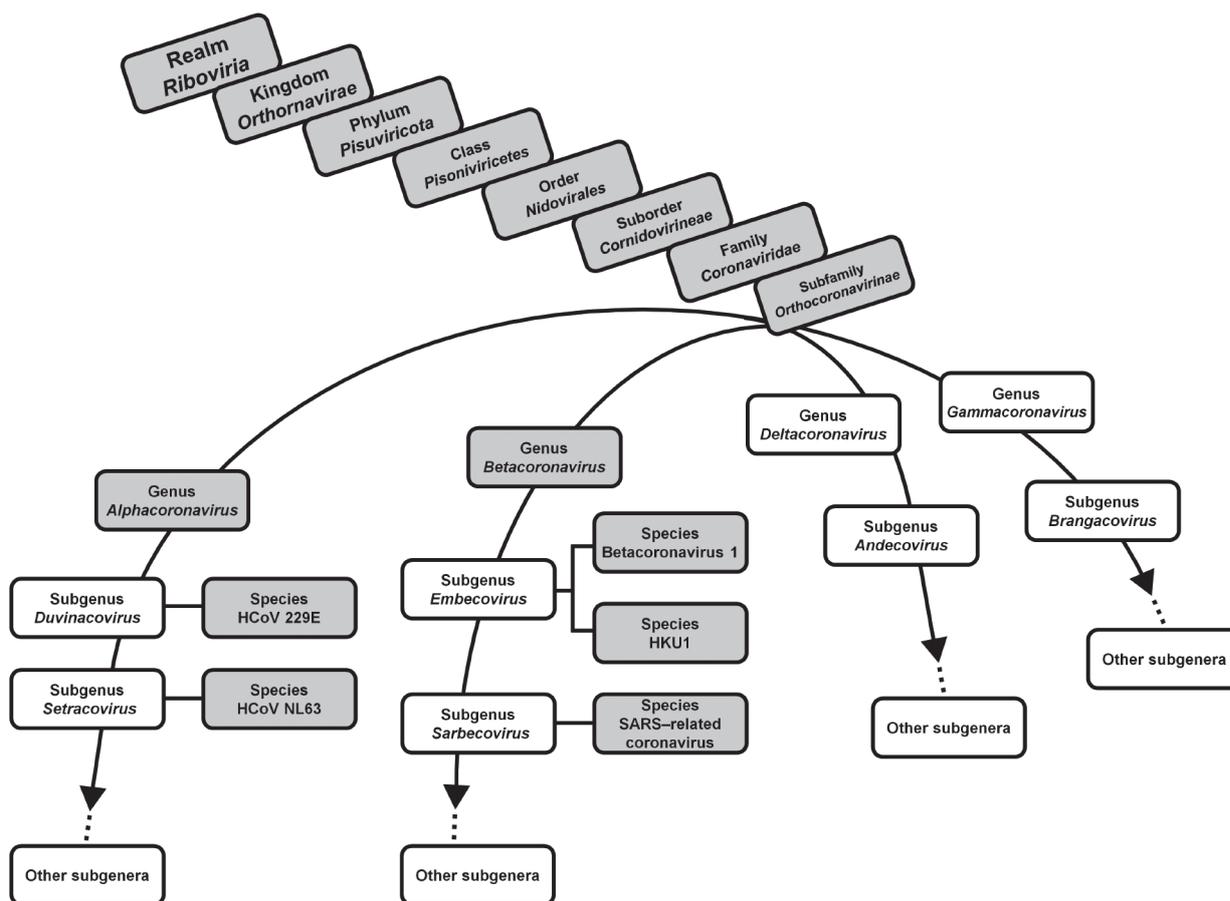


Рисунок 3. Таксономия сезонных и пандемических коронавирусов (на основе [48, 52, 67, 69, 121])

Figure 3. Taxonomy of seasonal and pandemic coronaviruses (based on [48, 52, 67, 69, 121])

а сам OC43 определяется как «прототипный штамм» [7] или «вирус» [52]. Если придерживаться действующей классификации ICTV [69], то вид *Betacoronavirus 1*, к которому относится HCoV-OC43, входит вместе с другим бетакоронавирусом HCoV-HKU1 в состав подрода *Embecovirus*. На самом деле в 2008 г. Комитет ICTV объединил HCoV-OC43, коронавирусы крупного рогатого скота, свиней, лошадей и собак в один вид — *Betacoronavirus 1*, так как идентичность аминокислотных последовательностей в ключевых доменах их репликазы 1ab (> 96%) значительно превышает порог разделения видов (90%) [70], поэтому в самых последних редакциях международной таксономии вирусов, начиная с 2008 г. вирус OC43 в качестве таксономической единицы отсутствует.

Что касается SARS-CoV-2, в 2020 г. группа Комитета ICTV по изучению представителей семейства *Coronaviridae* сообщила о решении, основанном на данных филогении и таксономии, что этот вирус образует сестринскую кладу прототипных коронавирусов тяжелого острого респираторного синдрома человека и летучих мышей (SARS-CoV), принадлежит к виду SARS-related coronavirus и должен обозначаться

как SARS-CoV-2 вместо старого названия 2019-nCoV [52]. В дальнейшем в решениях Комитета упоминаний о сестринской кладе не было.

Происхождение русского гриппа 1889 г.

История документированных пандемий гриппа, подтвержденных вирусологическими и молекулярно-генетическими методами, начинается с «испанки» [124, 129]. Однако еще до нее, в 1889 г., была зарегистрирована пандемия так называемого русского (азиатского) гриппа, происхождение которой до сих пор вызывает споры.

В 1999 г. в бюллетене ВОЗ было опубликовано предположение Dowdle с соавт. [37] о том, что пандемия 1889 г. была вызвана вирусом гриппа H3. Однако почти за 30 лет до этого, вскоре после гонконгской пандемии 1968 г., та же идея была высказана советскими учеными [1]. Предположение о близости возбудителя пандемии 1968 г. возбудителю пандемии 1889 г. мотивировали тем, что антитела к вирусам, подобным гонконгскому, были обнаружены в сыворотках людей старше 70 лет. По классификации, которая использовалась в те годы, гонконгский

Таблица 1. Таксономия сезонных коронавирусов и пандемического SARS-CoV-2 (на основе [52, 67, 69])

Table 1. Taxonomy of seasonal coronaviruses and pandemic SARS-CoV-2 (based on [52, 67, 69])

Таксономическая единица Taxon	Коронавирусы Coronaviruses				
	Сезонный (эндемичный) Seasonal (Endemic)				Пандемический Pandemic
	229E	NL63	OC43	HKU1	SARS-CoV-2
Реалм Realm	<i>Riboviria</i>	<i>Riboviria</i>	<i>Riboviria</i>	<i>Riboviria</i>	<i>Riboviria</i>
Царство Kingdom	<i>Orthornavirae</i>	<i>Orthornavirae</i>	<i>Orthornavirae</i>	<i>Orthornavirae</i>	<i>Orthornavirae</i>
Тип (филум) Phylum	<i>Pisuviricota</i>	<i>Pisuviricota</i>	<i>Pisuviricota</i>	<i>Pisuviricota</i>	<i>Pisuviricota</i>
Класс Class	<i>Pisoniviricetes</i>	<i>Pisoniviricetes</i>	<i>Pisoniviricetes</i>	<i>Pisoniviricetes</i>	<i>Pisoniviricetes</i>
Порядок Order	<i>Nidovirales</i>	<i>Nidovirales</i>	<i>Nidovirales</i>	<i>Nidovirales</i>	<i>Nidovirales</i>
Подпорядок Suborder	<i>Cornidovirineae</i>	<i>Cornidovirineae</i>	<i>Cornidovirineae</i>	<i>Cornidovirineae</i>	<i>Cornidovirineae</i>
Семейство Family	<i>Coronaviridae</i>	<i>Coronaviridae</i>	<i>Coronaviridae</i>	<i>Coronaviridae</i>	<i>Coronaviridae</i>
Подсемейство Subfamily	<i>Orthocoronavirinae</i>	<i>Orthocoronavirinae</i>	<i>Orthocoronavirinae</i>	<i>Orthocoronavirinae</i>	<i>Orthocoronavirinae</i>
Род Genus	<i>Alphacoronavirus</i>	<i>Alphacoronavirus</i>	<i>Betacoronavirus</i>	<i>Betacoronavirus</i>	<i>Betacoronavirus</i>
Подрод Subgenus	<i>Duvinacovirus</i>	<i>Setracovirus</i>	<i>Embecovirus</i>	<i>Embecovirus</i>	<i>Sarbecovirus</i>
Вид Species	Human coronavirus 229E	Human coronavirus NL63	Betacoronavirus 1	Human coronavirus HKU1	SARS-related coronavirus

вирус А(Н3N2) — А2-Гонконг — отнесли к новому тогда подтипу А2-3 (по современной классификации это вирусы с гемагглютинином Н3) и предположили, что возбудитель пандемии гриппа 1889 г. мог тоже относиться к А2-3, то есть нести гемагглютинин Н3. К сожалению, эта интересная и важная работа была опубликована на русском языке и только в сборнике трудов НИИ гриппа МЗ СССР, поэтому доступа к ней у мировой вирусологической общественности не было.

Была и другая версия — возбудителем русского гриппа долгое время считался вирус гриппа А подтипа Н2N2 [102]. А сравнительно недавно было установлено, что всему виной мог быть и вирус гриппа А подтипа Н3N8 [123, 131], то есть опять-таки вирус с гемагглютинином Н3, о котором говорили еще в 1970-х гг.

Кроме гриппозного происхождения пандемии русского гриппа 1889 г. рассматриваются и другие версии. Связь с коронавирусами таких тяжелых острых респираторных заболеваний, как SARS и MERS, документально подтверждена и не вызывает сомнений [35, 111, 143], но не исключено, что эти вселяющие беспокойство вспышки коронавирусных инфекций были далеко не первыми. Некоторые ученые находят

определенную связь между сезонными коронавирусами и неизвестным патогеном, вызвавшим загадочную пандемию русского гриппа 1889 г. [17, 20, 117, 135]. Так, Shaw и Gatherer [117] полагают, что современные сезонные коронавирусы очень похожи на возбудителя русского гриппа 1889 г. Они считают, что пандемия 1889 г., условно считающаяся пандемией гриппа, была вызвана появлением человеческого бетакоронавируса OC43, похожего на сегодняшний SARS-CoV-2, но перешедшего к людям не от летучих мышей, а от крупного рогатого скота (бычий коронавирус BCov).

С точки зрения клиницистов между нынешней пандемией COVID-19 и пандемией 1889 г. также имеется много общего. Так, клиническая картина русского гриппа была не совсем типична для гриппа. Наоборот, если бы в материалах тех лет название «русский грипп» заменить на «COVID-19», то эти отчеты напоминали бы то, с чем мир столкнулся в конце 2019 г., когда в китайском Ухане был впервые обнаружен коронавирус SARS-CoV-2. Наблюдатели русского гриппа отмечали более высокую частоту воздействия на центральную нервную систему, чем это было характерно для других известных вспышек гриппа. Некоторые больные утверж-

Таблица 2. Сравнительная характеристика сезонных коронавирусов и SARS-CoV-2: организация и репликация (на основе [9, 15, 71, 94, 106, 107, 114, 122, 128, 144])

Table 2. Comparative characteristics of seasonal coronaviruses and SARS-CoV-2: organization and replication (based on [9, 15, 71, 94, 106, 107, 114, 122, 128, 144])

Свойства Properties	Возбудитель Causative agent				
	Сезонный (эндемичный) Seasonal (Endemic)			Пандемический Pandemic	
	Альфакоронавирус Alphacoronavirus		Бетакоронавирус Betacoronavirus		
	229E	NL63	OC43	HKU1	SARS-CoV-2
Морфология вириона Virion morphology					
Размеры вириона (нм) Virion size (nm)	85–140			120–160	
Тип симметрии, форма вирионов Symmetry, shape	Икосаэдр, сферическая или плейоморфная форма Icosahedral symmetry, spherical or pleomorphic shape				
Структура вириона Virion structure					
Наличие капсида (оболочки) Capsid (coat protein, envelop)	Есть у всех коронавирусов All coronaviruses have				
Гликопротеиновые шипы Glycoprotein spike (S)	Есть у всех коронавирусов All coronaviruses have				
Полиосновной сайт расщепления Polybasic cleavage site	Есть у всех коронавирусов All coronaviruses have				
РНК-зависимая-РНК-полимераза RNA dependent RNA polymerase	Есть у всех коронавирусов All coronaviruses have				
Гемагглютиниэнстераза HA esterase glycoprotein	Отсутствует Absent		Есть Yes		
Физико-химические свойства Physicochemical properties					
Термостабильность Thermostability	Чувствительны к температуре окружающей среды Environmentally labile to temperature (heat-sensitive)				
Стабильность при высушивании Stability to drying	Разрушаются при высушивании Disrupted by drying				
Устойчивость к детергентам, растворителям и к pH (кислотам) Stability to detergents, solvents, acids	Разрушаются под воздействием детергентов, растворителей и кислот Disrupted by detergents, solvents and acids				
Организация генома Genome organization					
Полярность РНК Positive/negative-strand RNA	Положительная полярность РНК Positive-sense RNA				
Размер генома (kb) Genome size (kb)	~ 27,5	> 30	~ 29,9–30,0		
Тип молекулы РНК, форма спирали Type of RNA molecule, helix form	Линейная одноцепочечная РНК Linear single-stranded RNA				
Сегментированный геном Segmented genome	Несегментированный геном Nonsegmented genome				
Репликация вируса Viral replication					
Клеточный рецептор Cell receptor	APN*	ACE2**	9-O-Ac-Sia***	ACE2**	
Гликопротеин, ответственный за прикрепление и проникновение Glycoprotein responsible for binding and hostcell entry	Гликопротеиновый S-шип Glycoprotein spike (S)				
Способ проникновения в клетку Entry into the hostcell	Эндоцитоз или слияние плазматических мембран Endocytosis or at plasma membrane fusion				
От транскрипции до сборки вирионов From transcription to virion assembly	В цитоплазме Cytoplasm				
Высвобождение вириона Virion release	Экзоцитоз Exocytosis				

Примечание. *Аминопептидаза N, **Ангиотензинпревращающий фермент 2, ***9-O-ацетилсиаловая кислота.

Note. *Aminopeptidase N, **Angiotensin converting enzyme 2, ***9-O-acetyl sialic acid.

дали, что потеряли способность ощущать вкус и запах. Сообщалось о случаях стойкой усталости. Такие же симптомы были отличительной чертой нынешней пандемии COVID-19, когда многие люди теряли чувство вкуса или обоняния, а долгому периоду восстановления сопутствовало чувство хронической усталости.

Все это косвенно подкрепляет коронавиральную теорию происхождения возбудителя пандемии 1889 г. Тем не менее ее реальный источник до сих пор остается загадкой, поскольку пока еще нет убедительных научных доказательств того, что русский грипп был вызван именно коронавирусом; имеется только умозрительный сравнительный анализ сообщений того времени с текущей эпидемиологической ситуацией по COVID-19, а выводы, которые были сделаны на основе сероархеологических исследований, достаточно спекулятивны.

Строение и свойства сезонных коронавирусов человека и SARS-CoV-2

Коронавирусы — оболочечные вирусы с положительной несегментированной цепью РНК, представляют собой частицы сферической, иногда плейоморфной формы и икосаэдрической симметрии. По разным источникам размеры сезонных коронавирусов варьируют от 85 нм [71] до 118–140 нм [106] или несколько крупнее (150–160 нм) [15]. Что касается размеров генома, то у SARS-CoV-2 он составляет около 30 kb [107, 121], что чуть больше размера генома сезонных вирусов (26–32 kb по данным [71]). Также отмечают небольшие различия в размере генома и между двумя родами сезонных коронавирусов человека. В частности, размеры генома альфакоронавирусов 229E и NL63 составляют приблизительно 27,5 kb, у бетакоронавируса SARS-CoV-2 — около 29,9–30,0 kb, а у OC43 и HKU1 — более 30 kb [90] (табл. 2).

Геном коронавирусов содержит структуру 5'-кэпа и 3'-поли-А-хвост [149] и кодирует ряд структурных, неструктурных (nsr) и вспомогательных белков [148]. Белки nsr играют решающую роль в репликации вирусной РНК и уклонении от иммунитета, в то время как вспомогательные белки выполняют множество функций, которые способствуют вирусной инфекции, выживанию и передаче в клетках-хозяевах [53, 126, 144]. Структурные белки отвечают за сборку вируса и составляют зрелые вирусные частицы.

Есть две нетранслируемые области (UTR), расположенные на концах генома. Длина 5'-UTR составляет 292, 210, 286 и 205 нуклеотидов в 229E, C43, NL63 и HKU1, соответственно, а длина 3'-UTR составляет 462, 288, 287 и 281 нуклеотид в 229E, OC43, NL63 и HKU1 соответственно.

Ген репликазы HCoV занимает две трети генома и состоит из двух перекрывающихся открытых рамок считывания (ORF) — ORF1a и ORF1b. ORF1a транслируется непосредственно из генома РНК, продуцируя полипротеин pp1a; в то время как трансляция ORF1b требует запрограммированного сдвига рибосомальной рамки вблизи 3'-конца ORF1a, приводящего к продуцированию полипротеина pp1ab. Аутопротеолитическое расщепление pp1a и pp1ab приводит к образованию 16 неструктурных белков (nsr1–nsr16).

Оставшаяся треть генома кодирует в основном четыре структурных белка: шиповидный белок (S), оболочечный белок (E), мембранный белок (M) и нуклеокапсид (N). OC43 и HKU1 также кодируют белок гемагглютининэстеразы. Гемагглютининэстераза представляет собой гликопротеин с нейраминат-О-ацетилэстеразной активностью и активный сайт FGDS, расположенный ниже ORF1a/b и выше S гена. Белок S отвечает за характерную коронообразную форму и обеспечивает распознавание рецепторов и слияние с мембраной. У всех коронавирусов человека S-белок состоит из двух субъединиц: S1, содержащей рецептор-связывающий домен (RBD) и субъединицы S2, которая обеспечивает слияние вируса с мембраной клетки [68, 87]. Несмотря на структурное сходство, S-белки коронавирусов человека используют разнообразный набор рецепторов клетки-хозяина для входа; 229E связывается с аминопептидазой-N, NL63 и SARS-CoV-2 связываются с ACE2, а OC43 и HKU1 — с 9-О-Асиаловой кислотой [114] (табл. 2).

Белок E представляет собой небольшой гидрофобный интегральный мембранный белок, который играет важную роль для сборки вируса. Белок M связан с оболочкой. Белок N представляет собой неспецифический РНК-связывающий белок, образующий рибонуклеокапсид с вирусной геномной РНК [28, 142].

Все известные коронавирусы человека чувствительны к температуре окружающей среды, легко разрушаются при высушивании, а также под воздействием детергентов, растворителей и кислот.

Все основные этапы репликации коронавирусов человека, начиная от способа проникновения в клетку и транскрипции до сборки и высвобождения вирионов, практически одинаковы.

Таким образом, все характеристики, приведенные в табл. 2, идентичны для сезонных коронавирусов и SARS-CoV-2. Возможны минимальные различия в размерах вирусных частиц и в размерах генома, которые несколько больше у SARS-CoV-2, чем у сезонных коронавирусов. Хотя все пять рассмотренных в на-

стоящем обзоре коронавирусов экспрессируют гликопротеиновые шипы S, для проникновения в клетку они используют разные хозяйские рецепторы [114]. В механизме вторжения вируса в хозяйскую клетку принимает участие гемагглютининэстераза, разрушающая определенные рецепторы сиаловой кислоты [145] Она имеется у бетакоронавирусов, но отсутствует у альфакоронавирусов [90, 142, 147].

Собственно говоря, на этом установленные к настоящему моменту отличия на молекулярном уровне между пандемическим и сезонными коронавирусами заканчиваются.

Эпидемиология, клиника и патогенез сезонных коронавирусов человека и SARS-CoV-2

Оглядываясь далеко назад, можно полагать, что исторически происхождение коронавирусов человека так или иначе связано с рукокрыльями (NL63, 229E и SARS-CoV-2) или грызунами (OC43 и HKU1) [32, 34, 51, 58, 91, 122]. Но если говорить о современных сезонных коронавирусах человека, то их источник, скорее всего, не имеет недавнего зоонозного происхождения (табл. 3).

Таблица 3. Сравнительная характеристика сезонных коронавирусов и SARS-CoV-2: эпидемиология (на основе [16, 22, 23, 32, 38, 39, 41, 45, 49, 51, 58, 59, 72, 73, 89, 92, 93, 101, 104, 105, 108, 112, 115, 135])

Table 3. Comparative characteristics of seasonal coronaviruses and SARS-CoV-2: epidemiology (based on [16, 22, 23, 32, 38, 39, 41, 45, 49, 51, 58, 59, 72, 73, 89, 92, 93, 101, 104, 105, 108, 112, 115, 135])

Свойства Properties	Возбудитель Causative agent	
	Сезонный (эндемичный) Seasonal (Endemic)	Пандемический Pandemic
	229E, NL63, OC43, HKU1	SARS-CoV-2
Происхождение Origin	Скорее всего не связано с недавними зоонозными событиями Likely not arisen from a recent zoonotic event	Предполагается зоонозное происхождение Likely zoonotic origin
Передача (трансмиссивность) Transmission	Аэрозольным путем или прямым контактом при чихании или кашле от инфицированного человека Through the spread of droplets or direct contact by sneezing or coughing from an infected individual	
Глобальность распространения World distribution	По всему миру Worldwide	
Сезонность (циркуляция) Seasonality (circulation pattern)	Как правило, в холодное время года, но возможно круглый год Cold seasons, but is possible year-round	Пока нет убедительных доказательств. Возможно, в холодное время года No conclusive evidence yet. Possibly cold seasons
Уровень трансмиссивности Level of transmissibility	Умеренный Moderate	Высокий High
Заболееваемость/ смертность в мире (тыс. чел.) Annually infected/Annual death.Hospitalization rate (thds, global)	Глобальные данные отсутствуют. Постоянный надзор не ведется No global data available. No ongoing surveillance	~ 676 609 955/~ 6 881 955 Постоянный сбор информации прекращен в 2023 г. Collecting data has been stopped in 2023
Распространенность и частота случаев заболевания Prevalence and incidence of the disease	Локальные вспышки Local outbreaks	Пандемический характер Pandemic
Циркуляция вируса в период эпидемического сезона по гриппу Circulation during an influenza epidemic season	Не меняется Does not change	Превалирует Prevails
Циркуляция вируса в период пандемии COVID-19 Circulation during the COVID-19 pandemic	Не меняется Does not change	Превалирует Prevails

Если не вдаваться в детали поведения каждого из четырех циркулирующих сезонных коронавирусов, то их эпидемиологическая характеристика в сравнении с новым коронавирусом SARS-CoV-2 проявляется особенно четко (табл. 3). Фактически, есть только два основных момента, одинаковых для всех пяти рассматриваемых сегодня коронавирусов человека — это (1) путь передачи, характерный для всех респираторных вирусов (аэрозольный путь или прямой контакт с инфицированным человеком при чихании или кашле) и (2) повсеместная экспансия по всему миру.

Сезонные коронавирусы распространены очень широко и циркулируют повсеместно, вызывая локальные вспышки ОРВИ. 90–100% взрослого населения когда-то встречались с каждым из четырех эндемичных коронавирусов [54]. Их частота выявления приблизительно одинакова во всех странах, которые публикуют материалы своих эпидемиологических наблюдений [8, 47, 62, 63, 77, 134]. Интересно, что подавляющая часть исследований проводилась на детском контингенте, в то время как по данным [8, 77] средний возраст лиц, заразившихся сезонными коронавирусами, составляет 22–24 года. Что касается SARS-CoV-2, то, будучи пандемическим вирусом, его глобальное распространение является одним из его основных свойств.

Сезонные коронавирусы циркулируют ежегодно, их активность в северных широтах повышается в зимне-весенний период, тогда как в странах Азии и Ближнего Востока отмечен сдвиг активности на весенне-летнее время года [29, 47]. В Китае эти вирусы циркулируют круглый год [89]. Сведений об эпидемиологии COVID-19 все еще недостаточно, чтобы однозначно судить о сезонности этой инфекции. Предполагается, что без серьезных усилий со стороны органов здравоохранения SARS-CoV-2 продолжит распространяться летом, что, собственно, и наблюдается во многих странах мира, включая Россию. Тем не менее ожидают, что по мере формирования у населения коллективного иммунитета вирус станет более склонным к сезонным колебаниям [14, 16].

Постоянный эпидемиологический надзор за заболеваемостью и смертностью в мире от ОРВИ, включая и сезонную коронавирусную инфекцию, не ведется. Долгосрочные исследования циркуляции коронавирусов человека также не проводятся. Что касается COVID-19, известно, что этой новой коронавирусной инфекцией на сегодняшний день переболело 676 609 955 человек при 6 881 955 скончавшихся (данные Ресурсного центра Университета им. Джонса Хопкинса на 10 марта 2023 г.; после этого этот центр, так же, как и Центр по контролю за заболеваемостью в США, прекратил собирать информацию по COVID-19) [73].

Различия между сезонными коронавирусами и пандемическим SARS-CoV-2 четко прослеживаются в клинических проявлениях и тяжести заболеваний, которые они вызывают (табл. 4).

Клиническая картина классического COVID-19 значительно тяжелее, чем симптомы сезонной ОРВИ, вызванной эндемичными коронавирусами 229E, NL63, HKU1 и OC43. Инкубационный период у COVID-19 по разным данным колеблется от 4–7 дней [121] до 14 дней [55] при более коротком инкубационном периоде (от 2-х до 4–5 дней) у сезонных коронавирусов [90, 103]. Сезонные коронавирусы преимущественно связаны с легкой инфекцией верхних дыхательных путей [56], хотя, помимо симптомов простуды и гастроэнтерита, эндемичные респираторные коронавирусы человека могут вызывать простые и осложненные инфекции нижних дыхательных путей, средний отит, обострения астмы и некоторые системные осложнения [31, 50]. Тем не менее тяжесть этих осложнений не идет в сравнение с тяжестью течения COVID-19 и его осложнениями, зачастую очень длительными или отсроченными.

Особенности циркуляции сезонных коронавирусов человека до и во время пандемии COVID-19

В самом начале пандемии COVID-19 предполагались два основных сценария ее развития: (1) SARS-CoV-2 будет циркулировать параллельно с другими респираторными вирусами или (2) конкурентно вытеснит их из циркуляции [2, 79]. На тот момент казалось, что других вариантов нет. Однако пандемия пошла по третьему, смешанному сценарию — значительная часть респираторных вирусов была действительно вытеснена из своей среды обитания [27], но несколько возбудителей, таких как риновирусы, респираторно-синцитиальный вирус и сезонные коронавирусы, в той или иной степени продолжали циркулировать наряду с новым коронавирусом SARS-CoV-2 [80, 81]. Наиболее ярко это проявилось в ситуации с риновирусами [22]; однако и респираторно-синцитиальный вирус, и сезонные коронавирусы, хотя и несколько снизили свою активность, тем не менее провоцировали весомое число случаев ОРВИ [22].

Сезонные коронавирусы обнаруживались и обнаруживаются ежегодно; к 2020 г. они имели экспоненциальную динамику роста и осенне-весеннюю тенденцию с пиком заболеваемости в январе-феврале [5, 8]. Средняя продолжительность сезона циркуляции до 2020 г. составляла 88 дней. Сезон 2020–2021 гг. был длиннее среднего и составлял 119 дней. Преобладающий

Таблица 4. Сравнительная характеристика сезонных коронавирусов и SARS-CoV-2: клиника и патогенез (на основе [31, 50, 55, 56, 121])

Table 4. Comparative characteristics of seasonal coronaviruses and SARS-CoV-2: clinical manifestations and pathogenesis (based on [31, 50, 55, 56, 121])

Свойства Properties	Возбудитель Causative agent	
	Сезонный (эндемичный) Seasonal (Endemic)	Пандемический Pandemic
	229E, NL63, OC43, HKU1	SARS-CoV-2
Заболевание Disease	ОРВИ Common cold	Ковид COVID-19
«Входные ворота» инфекции “Entrance gate” of infection	Верхние дыхательные пути Upper respiratory tract	
Инфекция верхних дыхательных путей Upper respiratory tract infection	Как правило Common	
Инфекция нижних дыхательных путей Lower respiratory tract infection	Иногда Sometimes	Как правило Common
Репликация вируса при повышенных температурах Virus replication at high temperature	Иногда Sometimes	Как правило Common
Инкубационный период (дни) Incubation period (days)	1–3	2–14
Симптомы Symptoms	Плавное начало Smooth (gradual) onset	Внезапное или плавное начало Sudden (abrupt) or smooth onset
Насморк, выделения из носа, заложенность носа, чихание Running nose (rhinorrhea), nasal discharge, nasal congestion, sneezing	Как правило Common	
Потеря обоняния и вкуса, головная боль Loss of smell and taste, headache	Редко Rare	Как правило Common
Одышка Shortness of breath	Слабо выражена Mild	Как правило Common
Боль в горле Sore throat	Очень часто Very common	Иногда Sometimes
Кашель Cough	Часто (от легкого до умеренного) Common (mild to moderate)	Часто сухой кашель (до тяжелого) Common (dry cough, can be severe)
Боль в мышцах Muscle pain (body aches)	Иногда (незначительная) Sometimes (slight)	Очень часто и тяжело Very common (often severe)
Озноб или лихорадка Chilliness and fever	Редко у взрослых, чаще у детей Rare in adults, possible in children	Очень часто, возможен озноб Very common, may have chills
Недомогание, усталость, слабость Malaise, fatigue, weakness	Иногда Sometimes	Очень часто, может длиться неделями Very common (can last for weeks)
Потеря аппетита, диарея Loss of appetite, diarrhea	Редко/иногда Rare/Sometimes	Иногда Sometimes

тип коронавируса человека менялся от сезона к сезону, но не менее одного альфакоронавируса и одного бетакоронавируса циркулирует каждый сезон или раз в два года [61, 89, 116].

В умеренном климате сезонные коронавирусы человека циркулируют в течение всей зимы, что может быть связано с низкой температурой окружающей среды [11, 62, 104]. В южном полушарии сезонность более разнообразна и менее предсказуема [82, 83]. Считается, что более низкие температуры улучшают стабильность оболочечных вирусов [109], приводят к высыханию дыхательных путей и могут повышать восприимчивость хозяина к инфекции. Несмотря на это, сезонные коронавирусы человека регистрируются и летом [21].

В исследовании, проведенном в США, начало эпидемического сезона 2020–2021 гг. было отсрочено на 11 недель по сравнению с допандемическими сезонами. Сообщается, что из четырех сезонных коронавирусов человека наиболее распространенным является ОС43 [104]. В то же время в Московском регионе сезонные подъемы бетакоронавирусов не были сильно выражены по сравнению с альфакоронавирусами [8].

Многое в отношении эпидемиологии сезонных коронавирусов до сих пор неясно. Пока точно известно одно — ни эпидемии гриппа, ни пандемии гриппа или COVID-19 не оказывали существенного влияния на характер и интенсивность циркуляции сезонных коронавирусов человека (табл. 3).

Заключение

Хотя коронавирусы человека были впервые выявлены в середине XX века, они, вероятно, циркулировали в человеческой популяции в течение тысяч лет. Многие из них относительно безвредны и вызывают респираторные симптомы легкой и средней степени тяжести [42]. Однако некоторые коронавирусы, такие как SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2, приводят к более серьезным, иногда даже смертельным инфекциям.

Между «крайними точками», которые сегодня были рассмотрены в настоящем обзоре — классическими сезонными коронавирусами и SARS-CoV-2 — очень много общего. Это таксономическая близость, морфология, структура и физико-химические свойства вириона, организация

генома, основные этапы репликации вируса, путь передачи, входные ворота инфекции и многое другое. Что же сделало SARS-CoV-2 настолько агрессивным, что он приобрел статус пандемического вируса? Что вообще делает любой микроорганизм высокопатогенным? Островки патогенности у стрептококков, кливедж-сайт у H5 вируса птичьего гриппа, «испанка»... Что такого необычного есть у SARS-CoV-2, чего нет у классических сезонных коронавирусов? Известно, что пандемический потенциал вируса зиждется на «трех китах». Это (1) антигенная новизна, (2) вирулентность для хозяина, следствием которой является высокая смертность. И, наконец, (3) высокая контагиозность, то есть способность к неконтрольному распространению среди чувствительной популяции [95]. Всеми этими свойствами обладал уханьский вариант нового коронавируса. Как изменился SARS-CoV-2 спустя почти четыре года от начала пандемии, постепенно переходя в сезонную, менее вирулентную форму? Вопросов больше, чем ответов.

Те немногие выявленные к настоящему моменту различия в размерах вирусных частиц и вирусного генома, использование или нет гемагглютининэстеразы для проникновения вируса в чувствительную клетку, прикрепление к разным клеточным рецепторам не могут объяснить существенную разницу в тяжести течения инфекции, которая вызывается сезонным либо пандемическим коронавирусом.

Конечно же, четко определяемые различия в клинических симптомах и патогенезе инфекции, вызванной сезонным коронавирусом или SARS-CoV-2, имеют под собой в основе тонкие молекулярные механизмы, которые нам еще только предстоит узнать. Известны примеры, когда всего 1–2 мутации кардинальным образом меняют свойства вируса. Например, в линейке A/Калифорния/07/2009 (H1N1pdm09) — подобных вирусов гриппа резко выделяется один штамм, A/Южная Африка/3626/2013, который, обладая двумя уникальными заменами в генах, кодирующих полимеразный комплекс, проявляет патогенность для мышей, на несколько порядков превышающую таковую у других многочисленных представителей этой группы вирусов [10].

Пока еще «белых пятен» слишком много, чтобы делать какие-то однозначные выводы по этому поводу.

Список литературы/References

1. Иванова Н.А., Гринбаум Е.Б., Шадрин А.С., Олейникова Е.В., Попова Т.Л., Лузянина Т.Я., Маслова М.И. Новый вариант вируса А2-Гонконг — возбудитель эпидемии 1968 года в Ленинграде. В кн.: Этиология и диагностика вирусных острых респираторных заболеваний: сб. науч. работ. Ленинград: ВНИИ гриппа, 1971. С. 5–13. [Ivanova N.A., Grinbaum E.B., Shadrin A.S., Oleinikova E.V., Popova T.L., Luzyanina T.Ya., Maslova M.I. A new variant of the A2-Hong Kong virus is the causative agent of the 1968 epidemic in Leningrad. In: Etiology and diagnosis of viral acute respiratory diseases: collection of scientific works. Leningrad: Research Institute of Influenza, 1971, pp. 5–13. (In Russ.)]

2. Киселева И.В., Ларионова Н.В., Григорьева Е.П., Ксенафонтов А.Д., Аль Фаррух М., Руденко Л.Г. Особенности циркуляции респираторных вирусов в пред- и пандемические по гриппу и COVID-19 периоды // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 6. С. 1009–1019. [Kiseleva I.V., Larionova N.V., Grigorieva E.P., Ksenafontov A.D., Al Farroukh M., Rudenko L.G. Salient features of circulation of respiratory viruses in the pre- and pandemic influenza and COVID-19 seasons. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 6, pp. 1009–1019. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-SFO-1662
3. Кононенко А.А., Носков А.К., Водяницкая С.Ю., Подойницына О.А. Коронавирусы человека, способные вызывать чрезвычайные ситуации // Медицинский вестник Юга России. 2021. Т. 12, № 1. С. 14–23. [Kononenko A.A., Noskov A.K., Vodyanitskaya S.Yu., Podoynitsyna O.A. Human coronaviruses that can cause emergencies. *Meditsinskii vestnik Yuga Rossii = Medical Bulletin of the South of Russia*, 2021, vol. 12, no. 1, pp. 14–23. (In Russ.)] doi: 0.21886/2219-8075-2021-12-1-14-23
4. Смирнов В.С., Петленко С.В. Грипп и острые респираторные вирусные инфекции (характеристика, патогенез, профилактика и лечение); изд. 3-е, перераб. и доп. СПб.: Гиппократ, 2019. 248 с. [Smirnov V.S., Petlenko S.V. Influenza and acute respiratory viral infections (Characteristics, pathogenesis, prevention and treatment), 3rd ed. *St Petersburg: Hippocrates*, 2019. 248 p. (In Russ.)]
5. Тимченко В.Н., Суховецкая В.Ф., Чернова Т.М., Каплина Т.А., Субботина М.Д., Булина О.В., Писарева М.М. Результаты 5-летнего мониторинга за циркуляцией сезонных коронавирусов у госпитализированных детей в препандемическом периоде // Детские инфекции, 2021. Т. 20, № 1 (74). С. 5–11. [Timchenko V.N., Sukhovetskaya V.F., Chernova T.M., Kaplina T.A., Subbotina M.D., Bulina O.V., Pisareva M.M. Results of 5-year monitoring of the circulation of seasonal coronaviruses in hospitalized children in the pre-pandemic period. *Detskie Infektsii = Children Infections*, 2021, vol. 20, no. 1 (74), pp. 5–11. (In Russ.)] doi: 10.22627/2072-8107-2021-20-1-5-11
6. Хайтович А.Б. Коронавирусы (таксономия, структура вируса) // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. 2020. Т. 10, № 3. С. 69–81. [Khaitovich A.B. Coronaviruses (Taxonomy, virus structure). *Krymskii zhurnal eksperimental'noi i klinicheskoi meditsiny = Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 69–81. (In Russ.)] doi: 10.37279/2224-6444-2020-10-3-69-81
7. Шелканов М.Ю., Попова А.Ю., Дедков В.Г., Акимкин В.Г., Малеев В.В. История изучения и современная классификация коронавирусов (Nidovirales: Coronaviridae) // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 221–246. [Shchelkanov M.Yu., Popova A.Yu., Dedkov V.G., Akimkin V.G., Maleev V.V. History of investigation and current classification of coronaviruses (Nidovirales: Coronaviridae). *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 221–246. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-HOI-141
8. Яцышина С.Б., Мамошина М.В., Шипулина О.Ю., Подколзин А.Т., Акимкин В.Г. Анализ циркуляции коронавирусов человека // Вопросы вирусологии. 2020. Т. 65, № 5. С. 267–275. [Yatsyshina S.V., Mamoshina M.V., Shipulina O.Yu., Podkolzin A.T., Akimkin V.G. Analysis of human coronaviruses circulation. *Voprosy Virusologii = Problems of Virology*, 2020, vol. 65, no. 5, pp. 267–275. (In Russ.)] doi: 10.36233/0507-4088-2020-65-5-3
9. Akram A., Mannan N. Molecular Structure, pathogenesis and virology of SARS-CoV-2: a review. *Bangladesh J. Infect. Dis.*, 2020, vol. 7, no. suppl_1, pp. S36–S40. doi: 10.3329/bjid.v7i0.46799
10. Al Farroukh M., Kiseleva I., Bazhenova E., Stepanova E., Puchkova L., Rudenko L. Understanding the variability of certain biological properties of H1N1pdm09 influenza viruses. *Vaccines*, 2022, vol. 10, no. 3: 395. doi: 10.3390/vaccines10030395
11. Aldridge R.W., Lewer D., Beale S., Johnson A.M., Zambon M., Hayward A.C., Fragaszy E.B.; Flu Watch Group. Seasonality and immunity to laboratory-confirmed seasonal coronaviruses (HCoV-NL63, HCoV-OC43, and HCoV-229E): results from the Flu Watch cohort study. *Wellcome Open Res.*, 2020, vol. 5: 52. doi: 10.12688/wellcomeopenres.15812.2
12. Allander T., Tammi M.T., Eriksson M., Bjerkner A., Tiveljung-Lindell A., Andersson B. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2005, vol. 102, no. 36, pp. 12891–12896. doi: 10.1073/pnas.0504666102
13. Almeida J.D., Berry D.M., Cunningham C.H., Hamre D., Hofstad M.S., Mallucci L., McIntosh K. Virology: Coronaviruses. *Nature*, 1968, vol. 220, no. 5168: 650. doi: 10.1038/220650b0
14. Audi A., Alibrahim M., Kaddoura M., Hijazi G., Yassine H.M., Zaraket H. Seasonality of respiratory viral infections: will COVID-19 follow suit? *Front. Public Health*, 2020, vol. 8: 567184. doi: 10.3389/fpubh.2020.567184
15. Barupal T., Tak P., Meena M. COVID-19: morphology, characteristics, symptoms, prevention, clinical diagnosis and current scenario. *Coronaviruses*, 2020, vol. 1, no. 1, pp. 82–89. doi: 10.2174/2666796701999200617161348
16. Beams A.B., Bateman R., Adler F.R. Will SARS-CoV-2 become just another seasonal coronavirus? *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 5: 854. doi: 10.3390/v13050854
17. Berche P. The enigma of the 1889 Russian flu pandemic: a coronavirus? *Presse Med.*, 2022, vol. 51: 104111. doi: 10.1016/j.lpm.2022.104111
18. Bochkov Y.A., Watters K., Ashraf S., Griggs T.F., Devries M.K., Jackson D.J., Palmenberg A.C., Gern J.E. Cadherin-related family member 3, a childhood asthma susceptibility gene product, mediates rhinovirus C binding and replication. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2015, vol. 112, no. 17, pp. 5485–5490. doi: 10.1073/pnas.1421178112
19. Brucková M., McIntosh K., Kapikian A.Z., Chanock R.M. The adaptation of two human coronavirus strains (OC38 and OC43) to growth in cell monolayers. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1970, vol. 135, no. 2, pp. 431–435. doi: 10.3181/00379727-135-35068
20. Brüssow H., Brüssow L. Clinical evidence that the pandemic from 1889 to 1891 commonly called the Russian flu might have been an earlier coronavirus pandemic. *Microb. Biotechnol.*, 2021, vol. 14, no. 5, pp. 1860–1870. doi: 10.1111/1751-7915.13889
21. Cabeça T.K., Granato C., Bellei N. Epidemiological and clinical features of human coronavirus infections among different subsets of patients. *Influenza Other Respir. Viruses*, 2013, vol. 7, no. 6, pp. 1040–1047. doi: 10.1111/irv.12101
22. Calderaro A., De Conto F., Buttrini M., Piccolo G., Montecchin S., Maccari C., Martinelli M., Di Maio A., Ferraglia F., Pinardi F., Montagna P., Arcangeletti M.C., Chezzi C. Human respiratory viruses, including SARS-CoV-2, circulating in the winter season 2019–2020 in Parma, Northern Italy. *Int. J. Infect. Dis.*, 2020, vol. 102, pp. 79–84. doi: 10.1016/j.ijid.2020.09.1473
23. Callahan Z.Y., Smith T.K., Ingersoll C., Gardner R., Korgenski E.K., Sloan C.D. Comparative seasonal respiratory virus epidemic timing in Utah. *Viruses*, 2020, vol. 12, no. 3: 275. doi: 10.3390/v12030275

24. Callow K.A., Parry H.F., Sergeant M., Tyrrell D.A. The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. *Epidemiol. Infect.*, 1990, vol. 105, no. 2, pp. 435–446. doi: 10.1017/S0950268800048019
25. Chanock R., Roizman B., Myers R. Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA). Isolation, properties and characterization. *Am. J. Hyg.*, 1957, vol. 66, no. 3, pp. 281–290. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a119901
26. Chanock R.M. Association of a new type of cytopathogenic myxovirus with infantile croup. *J. Exp. Med.*, 1956, vol. 104, no. 4, pp. 555–576. doi: 10.1084/jem.104.4.555
27. Chen A.P., Chu I.Y., Yeh M.L., Chen Y.Y., Lee C.L., Lin H.H., Chan Y.J., Chen H.P. Differentiating impacts of non-pharmaceutical interventions on non-coronavirus disease-2019 respiratory viral infections: Hospital-based retrospective observational study in Taiwan. *Influenza Other Respir. Viruses*, 2021, vol. 15, no. 4, pp. 478–487. doi: 10.1111/irv.12858
28. Chen Y., Liu Q., Guo D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. *J. Med. Virol.*, 2020, vol. 92, no. 4, pp. 418–423. doi: 10.1002/jmv.25681
29. Chiu S.S., Chan K.H., Chu K.W., Kwan S.W., Guan Y., Poon L.L., Peiris J.S. Human coronavirus NL63 infection and other coronavirus infections in children hospitalized with acute respiratory disease in Hong Kong, China. *Clin. Infect. Dis.*, 2005, vol. 40, no. 12, pp. 1721–1729. doi: 10.1086/430301
30. Chua K.B., Crameri G., Hyatt A., Yu M., Tompang M.R., Rosli J., Mceachern J., Crameri S., Kumarasamy V., Eaton B.T., Wang L.F. A previously unknown reovirus of bat origin is associated with an acute respiratory disease in humans. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2007, vol. 104, no. 27, pp. 11424–11429. doi: 10.1073/pnas.0701372104
31. Cimolai N. Complicating infections associated with common endemic human respiratory coronaviruses. *Health Secur.*, 2021, vol. 19, no. 2, pp. 195–208. doi: 10.1089/hs.2020.0067
32. Contini C., Di Nuzzo M., Barp N., Bonazza A., De Giorgio R., Tognon M., Rubino S. The novel zoonotic COVID-19 pandemic: an expected global health concern. *J. Infect. Dev. Ctries.*, 2020, vol. 14, no. 3, pp. 254–264. doi: 10.3855/jidc.12671
33. Contrat M., Bigault L., Andraud M., Desdoutis M., Rocq S., Le Guyader F.S., Blanchard Y. Porcine epidemic diarrhea virus, surrogate for coronavirus decay measurement in French coastal waters and contribution to coronavirus risk evaluation. *Microbiol. Spectr.*, 2023, vol. 11, no. 4: e0184423. doi: 10.1128/spectrum.01844-23
34. Cui J., Li F., Shi Z.L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2019, vol. 17, no. 3, pp. 181–192. doi: 10.1038/s41579-018-0118-9
35. De Wit E., Van Doremalen N., Falzarano D., Munster V.J. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2016, vol. 14, no. 8, pp. 523–534. doi: 10.1038/nrmicro.2016.81
36. Desforges M., Le Coupance A., Dubeau P., Bourgouin A., Lajoie L., Dubé M., Talbot P.J. Human coronaviruses and other respiratory viruses: Underestimated opportunistic pathogens of the central nervous system? *Viruses*, 2020, vol. 12, no. 1: 14. doi: 10.3390/v12010014
37. Dowdle W.R. Influenza A virus recycling revisited. *Bull. World Health Organ.*, 1999, vol. 77, no. 10, pp. 820–828. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2557748/pdf/10593030.pdf>
38. Dyrdak R., Hodcroft E.B., Wahlund M., Neher R.A., Albert J. Interactions between seasonal human coronaviruses and implications for the SARS-CoV-2 pandemic: a retrospective study in Stockholm, Sweden, 2009–2020. *J. Clin. Virol.*, 2021, vol. 136: 104754. doi: 10.1016/j.jcv.2021.104754
39. Edridge A.W.D., Kaczorowska J., Hoste A.C.R., Bakker M., Klein M., Loens K., Jebbink M.F., Matser A., Kinsella C.M., Rueda P., Ieven M., Goossens H., Prins M., Sastre P., Deijns M., Van Der Hoek L. Seasonal coronavirus protective immunity is short-lasting. *Nat. Med.*, 2020, vol. 26, no. 11, pp. 1691–1693. doi: 10.1038/s41591-020-1083-1
40. Emerman M., Malik H.S. Paleovirology — modern consequences of ancient viruses. *PLoS Biol.*, 2010, vol. 8, no. 2: e1000301. doi: 10.1371/journal.pbio.1000301
41. Famoroti T., Sibanda W., Ndung'u T. Prevalence and seasonality of common viral respiratory pathogens, including Cytomegalovirus in children, between 0–5 years of age in KwaZulu-Natal, an HIV endemic province in South Africa. *BMC Pediatr.*, 2018, vol. 18: 240. doi: 10.1186/s12887-018-1222-8
42. Farhud D.D., Bahadori M., Zarif-Yeganeh M. Evidence of the ancestries of COVID-19 virus in East Asia, more than 20,000 years ago. *Iran J. Public Health*, 2021, vol. 50, no. 9, pp. i–v. doi: 10.18502/ijph.v50i9.7086
43. Fawkner-Corbett D.W., Khoo S.K., Duarte C.M., Bezerra P.G., Bochkov Y.A., Gern J.E., Le Souef P.N., Mcnamara P.S. Rhinovirus-C detection in children presenting with acute respiratory infection to hospital in Brazil. *J. Med. Virol.*, 2016, vol. 88, no. 1, pp. 58–63. doi: 10.1002/jmv.24300
44. Fenner F. Classification and nomenclature of viruses. Second report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Intervirology*, 1976, vol. 7, no. 1–2, pp. 1–115. doi: 10.1159/000149938
45. Finlayson G., Finlayson S., Finlayson C., Bensusan K., Guillem R., Holmes T., Giles Guzmán F., Carrión J., Belda C., Sawchuk L. Nocturnality, seasonality and the SARS-CoV-2 ecological niche. *ArXiv 2010.16167*, 2020, vol. 10, no. 19: 39. doi: 10.48550/arXiv.2010.16167
46. Francis T.J. A new type of virus from epidemic influenza. *Science*, 1940, vol. 92, no. 2392, pp. 405–408. doi: 10.1126/science.92.2392.405
47. Friedman N., Alter H., Hindiyeh M., Mendelson E., Shemer Avni Y., Mandelboim M. Human Coronavirus infections in Israel: Epidemiology, clinical symptoms and summer seasonality of HCoV-HKU1. *Viruses*, 2018, vol. 10, no. 10: 515. doi: 10.3390/v10100515
48. Fung T.S., Liu D.X. Human coronavirus: Host-pathogen interaction. *Annu. Rev. Microbiol.*, 2019, vol. 73, pp. 529–557. doi: 10.1146/annurev-micro-020518-115759
49. Gardinassi L.G., Marques S.P.V., Salomão J.B., Durigon E.L., Zanetta Trevisan D.M., Cordeiro J.A., Lacerda M.N., Rahal P., De Souza F.P. Seasonality of viral respiratory infections in southeast of Brazil: the influence of temperature and air humidity. *Braz. J. Microbiol.*, 2012, vol. 43, no. 1, pp. 98–108. doi: 10.1590/S1517-838220120001000011
50. Gaunt E.R., Hardie A., Claas E.C., Simmonds P., Templeton K.E. Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method. *J. Clin. Microbiol.*, 2010, vol. 48, no. 8, pp. 2940–2947. doi: 10.1128/jcm.00636-10

51. Ghareeb O., Ramadhan S. COVID-19 — a novel zoonotic disease: origin, prevention and control. *P. J. M. H. S.*, 2021, vol. 15, no. 1, pp. 221–223. URL: <https://www.researchgate.net/publication/350709607>
52. Gorbalenya A.E., Baker S.C., Baric R.S., De Groot R.J., Drosten C., Gulyaeva A.A., Haagmans B.L., Lauber C., Leontovich A.M., Neuman B.W., Penzar D., Perlman S., Poon L.L.M., Samborskiy D.V., Sidorov I.A., Sola I., Ziebuhr J. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat. Microbiol.*, 2020, vol. 5, no. 4, pp. 536–544. doi: 10.1038/s41564-020-0695-z
53. Gordon D.E., Jang G.M., Bouhaddou M., Xu J., Obernier K., White K.M., O'meara M.J., Rezeli V.V., Guo J.Z., Swaney D.L., Tummino T.A., Hüttenhain R., Kaake R.M., Richards A.L., Tutuncuoglu B., Foussard H., Batra J., Haas K., Modak M., Kim M., Haas P., Polacco B.J., Braberg H., Fabius J.M., Eckhardt M., Soucheray M., Bennett M.J., Cakir M., McGregor M.J., Li Q., Meyer B., Roesch F., Vallet T., Mac Kain A., Miorin L., Moreno E., Naing Z.Z.C., Zhou Y., Peng S., Shi Y., Zhang Z., Shen W., Kirby I.T., Melnyk J.E., Chorba J.S., Lou K., Dai S.A., Barrio-Hernandez I., Memon D., Hernandez-Armenta C., Lyu J., Mathy C.J.P., Perica T., Pilla K.B., Ganesan S.J., Saltzberg D.J., Rakesh R., Liu X., Rosenthal S.B., Calviello L., Venkataraman S., Liboyo-Lugo J., Lin Y., Huang X.P., Liu Y., Wankowicz S.A., Bohn M., Safari M., Ugur F.S., Koh C., Savar N.S., Tran Q.D., Shengjuler D., Fletcher S.J., O'neal M.C., Cai Y., Chang J.C.J., Broadhurst D.J., Klippsten S., Sharp P.P., Wenzell N.A., Kuzuoglu-Ozturk D., Wang H.Y., Trenker R., Young J.M., Cavero D.A., Hiatt J., Roth T.L., Rathore U., Subramanian A., Noack J., Hubert M., Stroud R.M., Frankel A.D., Rosenberg O.S., Verba K.A., Agard D.A., Ott M., Emerman M., Jura N., von Zastrow M., Verdin E., Ashworth A., Schwartz O., d'Enfert C., Mukherjee S., Jacobson M., Malik H.S., Fujimori D.G., Ideker T., Craik C.S., Floor S.N., Fraser J.S., Gross J.D., Sali A., Roth B.L., Ruggero D., Taunton J., Kortemme T., Beltrao P., Vignuzzi M., Garcia-Sastre A., Shokat K.M., Shoichet B.K., Krogan N.J. A SARS-CoV-2 protein interaction map reveals targets for drug repurposing. *Nature*, 2020, vol. 583, no. 7816, pp. 459–468. doi: 10.1038/s41586-020-2286-9
54. Gorse G.J., Patel G.B., Vitale J.N., O'connor T.Z. Prevalence of antibodies to four human coronaviruses is lower in nasal secretions than in serum. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2010, vol. 17, no. 12, pp. 1875–1880. doi: 10.1128/CVI.00278-10
55. GOV.UK. Guidance COVID-19: Epidemiology, virology and clinical features. Updated 17 May 2022. URL: <https://www.gov.uk/government/publications/wuhan-novel-coronavirus-background-information/wuhan-novel-coronavirus-epidemiology-virology-and-clinical-features>
56. Graham N.M. The epidemiology of acute respiratory infections in children and adults: a global perspective. *Epidemiol. Rev.*, 1990, vol. 12, no. 1, pp. 149–178. doi: 10.1093/oxfordjournals.epirev.a036050
57. Guan Y., Zheng B.J., He Y.Q., Liu X.L., Zhuang Z.X., Cheung C.L., Luo S.W., Li P.H., Zhang L.J., Guan Y.J., Butt K.M., Wong K.L., Chan K.W., Lim W., Shortridge K.F., Yuen K.Y., Peiris J.S., Poon L.L. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science*, 2003, vol. 302, no. 5643, pp. 276–278. doi: 10.1126/science.1087139
58. Guo Y.R., Cao Q.D., Hong Z.S., Tan Y.Y., Chen S.D., Jin H.J., Tan K.S., Wang D.Y., Yan Y. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak — an update on the status. *Mil. Med. Res.*, 2020, vol. 7, no. 1: 11. doi: 10.1186/s40779-020-00240-0
59. Guthmiller J.J., Wilson P.C. Remembering seasonal coronaviruses. *Science*, 2020, vol. 370, no. 6522, pp. 1272–1273. doi: 10.1126/science.abf48
60. Hamre D., Procknow J.J. A new virus isolated from the human respiratory tract. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1966, vol. 121, no. 1, pp. 190–193. doi: 10.3181/00379727-121-30734
61. Hawkes M.T., Lee B.E., Kanji J.N., Zelyas N., Wong K., Barton M., Mukhi S., Robinson J.L. Seasonality of respiratory viruses at Northern Latitudes. *JAMA Netw. Open*, 2021, vol. 4, no. 9: e2124650. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.24650
62. Heimdal I., Moe N., Krokstad S., Christensen A., Skanke L.H., Nordbø S.A., Døllner H. Human coronavirus in hospitalized children with respiratory tract infections: a 9-year population-based study from Norway. *J. Infect. Dis.*, 2019, vol. 219, no. 8, pp. 1198–1206. doi: 10.1093/infdis/jiy646
63. Heimdal I., Valand J., Krokstad S., Moe N., Christensen A., Risnes K., Nordbø S.A., Døllner H. Hospitalized children with common human coronavirus clinical impact of codetected respiratory syncytial virus and rhinovirus. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2022, vol. 41, no. 3, pp. e95–e101. doi: 10.1097/INF.0000000000003433
64. Hilleman M.R., Werner J.H. Recovery of new agent from patients with acute respiratory illness. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1954, vol. 85, no. 1, pp. 183–188. doi: 10.3181/00379727-85-20825
65. Hoorn B., Tyrrell D.A. A new virus cultivated only in organ cultures of human ciliated epithelium. *Arch. Gesamte Virusforsch.*, 1966, vol. 18, no. 2, pp. 210–225. doi: 10.1007/BF01241842
66. Hoorn B., Tyrrell D.A. On the growth of certain “newer” respiratory viruses in organ cultures. *Br. J. Exp. Pathol.*, 1965, vol. 46, no. 2, pp. 109–118.
67. Hu B., Guo H., Zhou P., Shi Z.L. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2021, vol. 19, no. 3, pp. 141–154. doi: 10.1038/s41579-020-00459-7
68. Huang Y., Yang C., Xu X.F., Xu W., Liu S.W. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential anti-virus drug development for COVID-19. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2020, vol. 41, no. 9, pp. 1141–1149. doi: 10.1038/s41401-020-0485-4
69. ICTV. 2022 virus taxonomy. URL: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy>
70. ICTV. Taxonomic proposal to the ICTV Executive Committee. New species: Betacoronavirus 1. 2008. URL: <https://ictv.global/ICTV/proposals/2008.085-122V.v4.Coronaviridae.pdf>
71. ICTV. Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. URL: https://www.academia.edu/8097730/Ninth_Report_of_the_International_Committee_on_Taxonomy_of_Viruses
72. Jeon J.H., Han M., Chang H.E., Park S.S., Lee J.W., Ahn Y.J., Hong D.J. Incidence and seasonality of respiratory viruses causing acute respiratory infections in the Northern United Arab Emirates. *J. Med. Virol.*, 2019, vol. 91, no. 8, pp. 1378–1384. doi: 10.1002/jmv.25464
73. JHU. COVID-19 dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU). 2023. URL: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>

74. Jo W.K., De Oliveira-Filho E.F., Rasche A., Greenwood A.D., Osterrieder K., Drexler J.F. Potential zoonotic sources of SARS-CoV-2 infections. *Transbound. Emerg. Dis.*, 2021, vol. 68, no. 4, pp. 1824–1834. doi: 10.1111/tbed.13872
75. Kesheh M.M., Hosseini P., Soltani S., Zandi M. An overview on the seven pathogenic human coronaviruses. *Rev. Med. Virol.*, 2022, vol. 32, no. 2: e2282. doi: 10.1002/rmv.2282
76. Khaitovich A., Sataieva T., Zukow W., Malygina V., Shevkopyas L., Logadyr T., Kirsanova M., Andronovskaya I., Soroka E. The biological diversity of coronaviruses: where will the new threat come from? *J. Educ. Health Sport*, 2022, vol. 12, no. 5, pp. 402–415. doi: 10.12775/JEHS.2022.12.05.032
77. Killerby M.E., Biggs H.M., Haynes A., Dahl R.M., Mustaquim D., Gerber S.I., Watson J.T. Human coronavirus circulation in the United States 2014–2017. *J. Clin. Virol.*, 2018, vol. 101, no. 1, pp. 52–56. doi: 10.1016/j.jcv.2018.01.019
78. Kim M.I., Lee C. Human coronavirus OC43 as a low-risk model to study COVID-19. *Viruses*, 2023, vol. 15, no. 2: 578. doi: 10.3390/v15020578
79. Kiseleva I., Grigorieva E., Larionova N., Al Farroukh M., Rudenko L. COVID-19 in light of seasonal respiratory infections. *Biology (Basel)*, 2020, vol. 9, no. 9: 240. doi: 10.3390/biology9090240
80. Kiseleva I., Ksenafontov A. COVID-19 shuts doors to flu but keeps them open to rhinoviruses. *Biology (Basel)*, 2021, vol. 10, no. 8: 733. doi: 10.3390/biology10080733
81. Kiseleva I., Musaeva T., Ksenafontov A. SARS-CoV-2 invasion: what happens to other respiratory viruses? *Open Microbiol. J.*, 2020, vol. 16, no. 1: e187428582206100. doi: 10.2174/18742858-v16-e2206100
82. Komabayashi K., Seto J., Matoba Y., Aoki Y., Tanaka S., Ikeda T., Matsuzaki Y., Itagaki T., Mizuta K. Seasonality of human coronavirus OC43, NL63, HKU1, and 229E infection in Yamagata, Japan, 2010–2019. *Jpn J. Infect. Dis.*, 2020, vol. 73, no. 5, pp. 394–397. doi: 10.7883/yoken.JJID.2020.525
83. Kong D., Zheng Y., Hu L., Chen J., Wu H., Teng Z., Zhou Y., Qiu Q., Lu Y., Pan H. Epidemiological and co-infection characteristics of common human coronaviruses in Shanghai, 2015–2020: a retrospective observational study. *Emerg. Microbes. Infect.*, 2021, vol. 10, no. 1, pp. 1660–1668. doi: 10.1080/22221751.2021.1965498
84. Kuypers J., Martin E.T., Heugel J., Wright N., Morrow R., Englund J.A. Clinical disease in children associated with newly described coronavirus subtypes. *Pediatrics*, 2007, vol. 119, no. 1, pp. 70–76. doi: 10.1542/peds.2006-1406
85. La Scola B., Audic S., Robert C., Jungang L., De Lamballerie X., Drancourt M., Birtles R., Claverie J.M., Raoult D. A giant virus in amoebae. *Science*, 2003, vol. 299, no. 5615: 2033. doi: 10.1126/science.1081867
86. Lalchandama K. The chronicles of coronaviruses: The bronchitis, the hepatitis and the common cold. *Sci. Vis.*, 2020, vol. 20, no. 1, pp. 43–53. doi: 10.33493/scivis.20.01.04
87. Li F. Structure, function, and evolution of coronavirus spike proteins. *Annu. Rev. Virol.*, 2016, vol. 3, no. 1, pp. 237–261. doi: 10.1146/annurev-virology-110615-042301
88. Li W., Shi Z., Yu M., Ren W., Smith C., Epstein J.H., Wang H., Cramer G., Hu Z., Zhang H., Zhang J., McEachern J., Field H., Daszak P., Eaton B.T., Zhang S., Wang L.F. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science*, 2005, vol. 310, no. 5748, pp. 676–679. doi: 10.1126/science.1118391
89. Li Y., Wang X., Nair H. Global seasonality of human seasonal coronaviruses: a clue for postpandemic circulating season of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2? *J. Infect. Dis.*, 2020, vol. 222, no. 7, pp. 1090–1097. doi: 10.1093/infdis/jiaa436
90. Liu D., Liang J., Fung T.S. Human Coronavirus-229E, -OC43, -NL63, and -HKU1. *Encyclopedia of Virology*, 2021, vol. 2, no. 1, pp. 428–440. doi: 10.1016/B978-0-12-809633-8.21501-X
91. Liu L., Wang T., Lu J. The prevalence, origin, and prevention of six human coronaviruses. *Virol. Sin.*, 2016, vol. 31, no. 1, pp. 94–99. doi: 10.1007/s12250-015-3687-z
92. Liu X., Huang J., Li C., Zhao Y., Wang D., Huang Z., Yang K. The role of seasonality in the spread of COVID-19 pandemic. *Environ. Res.*, 2021, vol. 195: 110874. doi: 10.1016/j.envres.2021.110874
93. Liu Y., Lam T.T.Y., Lai F.Y.L., Krajden M., Drews S.J., Hachette T.F., Fraaij P.L.A., Van Kampen J.J.A., Badarch D., Nymadawa P., Tee K.K., Lee H.K., Koay E.S.C., Jennings L., Koopmans M., Tang J.W. Comparative seasonalities of influenza A, B and “common cold” coronaviruses — setting the scene for SARS-CoV-2 infections and possible unexpected host immune interactions. *J. Infect.*, 2020, vol. 81, no. 2, pp. 62–64. doi: 10.1016/j.jinf.2020.04.032
94. Ljubin-Sternak S., Meštrović T., Lukšić I., Mijač M., Vraneš J. Seasonal coronaviruses and other neglected respiratory viruses: a global perspective and a local snapshot. *Front. Public Health*, 2021, vol. 9: 691163. doi: 10.3389/fpubh.2021.691163
95. Lowen A.C., Mubareka S., Tumpey T.M., Garcia-Sastre A., Palese P. The guinea pig as a transmission model for human influenza viruses. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2006, vol. 103, no. 26, pp. 9988–9992. doi: 10.1073/pnas.0604157103
96. Lu Q.B., Wo Y., Wang L.Y., Wang H.Y., Huang D.D., Zhang X.A., Liu W., Cao W.C. Molecular epidemiology of human rhinovirus in children with acute respiratory diseases in Chongqing, China. *Sci. Rep.*, 2014, vol. 4: 6686. doi: 10.1038/srep06686
97. Lv L., Li G., Chen J., Liang X., Li Y. Comparative genomic analyses reveal a specific mutation pattern between human coronavirus SARS-CoV-2 and Bat-CoV RaTG13. *Front. Microbiol.*, 2020, vol. 11: 584717. doi: 10.3389/fmicb.2020.584717
98. McIntosh K., Dees J.H., Becker W.B., Kapikian A.Z., Chanock R.M. Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1967, vol. 57, no. 4, pp. 933–940. doi: 10.1073/pnas.57.4.933
99. Menachery V.D., Yount B.L.Jr., Debbink K., Agnihothram S., Gralinski L.E., Plante J.A., Graham R.L., Scobey T., Ge X.Y., Donaldson E.F., Randell S.H., Lanzavecchia A., Marasco W.A., Shi Z.L., Baric R.S. A SARS-like cluster of circulating bat coronaviruses shows potential for human emergence. *Nat. Med.*, 2015, vol. 21, no. 12, pp. 1508–1513. doi: 10.1038/nm.3985
100. Mohd H.A., Al-Tawfiq J.A., Memish Z.A. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) origin and animal reservoir. *Virol. J.*, 2016, vol. 13, no. 1: 87. doi: 10.1186/s12985-016-0544-0
101. Moriyama M., Hugentobler W.J., Iwasaki A. Seasonality of respiratory viral infections. *Annu. Rev. Virol.*, 2020, vol. 7, no. 1, pp. 83–101. doi: 10.1146/annurev-virology-012420-022445
102. Mulder J., Masurel N., Hers J.F.P. The Asian influenza pandemic of 1957. *Ned. Tijdschr. Geneesk.*, 1958, vol. 102, no. 41, pp. 1992–1999.
103. Myint S.H. Human coronaviruses: a brief review. *Rev. Med. Virol.*, 1994, vol. 4, pp. 35–46. doi: 10.1002/rmv.1980040108

104. Nickbakhsh S., Ho A., Marques D.F.P., Mcmenamin J., Gunson R.N., Murcia P.R. Epidemiology of seasonal coronaviruses: Establishing the context for COVID-19 emergence. *J. Infect. Dis.*, 2020, vol. 222, no. 1, pp. 17–25. doi: 10.1093/infdis/jiaa185
105. Novak N., Cabanillas B. Viruses and asthma: the role of common respiratory viruses in asthma and its potential meaning for SARS-CoV-2. *Immunology*, 2020, vol. 161, no. 2, pp. 83–93. doi: 10.1111/imm.13240
106. Payne S. Family Coronaviridae. *Viruses*, 2017, pp. 149–158. doi: 10.1016/b978-0-12-803109-4.00017-9
107. Peng Y., Du N., Lei Y., Dorje S., Qi J., Luo T., Gao G.F., Song H. Structures of the SARS-CoV-2 nucleocapsid and their perspectives for drug design. *Embo J.*, 2020, vol. 39, no. 20: e105938. doi: 10.15252/embj.2020105938
108. Poole S., Brendish N.J., Clark T.W. SARS-CoV-2 has displaced other seasonal respiratory viruses: results from a prospective cohort study. *J. Infect.*, 2020, vol. 81, no. 6, pp. 966–972. doi: 10.1016/j.jinf.2020.11.010
109. Price R.H.M., Graham C., Ramalingam S. Association between viral seasonality and meteorological factors. *Sci. Rep.*, 2019, vol. 9, no. 1: 929. doi: 10.1038/s41598-018-37481-y
110. Price W.H. The isolation of a new virus associated with respiratory clinical disease in humans. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1956, vol. 42, no. 12, pp. 892–896. doi: 10.1073/pnas.42.12.892
111. Rabaan A.A., Al-Ahmed S.H., Haque S., Sah R., Tiwari R., Malik Y.S., Dhama K., Yattoo M.I., Bonilla-Aldana D.K., Rodriguez-Morales A.J. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV: a comparative overview. *Infez. Med.*, 2020, vol. 28, no. 2, pp. 174–184.
112. Rodgers L., Sheppard M., Smith A., Dietz S., Jayanthi P., Yuan Y., Bull L., Wotiz S., Schwarze T., Azondekon R., Hartnett K., Adjemian J., Kirking H.L., Kite Powell A. Changes in seasonal respiratory illnesses in the United States during the COVID-19 pandemic. *Clin. Infect. Dis.*, 2021, vol. 73, no. 1, pp. 110–117. doi: 10.1093/cid/ciab311
113. Rowe W.P., Huebner R.J., Gilmore L.K., Parrott R.H., Ward T.G. Isolation of a cytopathogenic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissue culture. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1953, vol. 84, no. 3, pp. 570–573. doi: 10.3181/00379727-84-20714
114. Sampson A.T., Heeney J., Cantoni D., Ferrari M., Sans M.S., George C., Di Genova C., Mayora Neto M., Einhauser S., Asbach B., Wagner R., Baxendale H., Temperton N., Carnell G. Coronavirus pseudotypes for all circulating human coronaviruses for quantification of cross-neutralizing antibody responses. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 8: 1579. doi: 10.3390/v13081579
115. Sermet I., Temmam S., Huon C., Behillil S., Gadjos V., Bigot T., Lurier T., Chrétien D., Backovick M., Moisan-Delaunay A., Donati F., Albert M., Foucaud E., Mesplées B., Benoist G., Fayes A., Duval-Arnould M., Crétolle C., Charbit M., Aubart M., Auriou J., Lorrot M., Kariyawasam D., Fertita L., Orliaguet G., Pigneur B., Bader-Meunier B., Briand C., Toubiana J., Guillemot T., van der Werf S., Leruez-Ville M., Eloit M. Prior infection by seasonal coronaviruses does not prevent SARS-CoV-2 infection and associated Multisystem Inflammatory Syndrome in children. *Euro Surveill.*, 2020, vol. 26, no. 13: 2001782. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2021.26.13.2001782
116. Shah M.M., Winn A., Dahl R.M., Kniss K.L., Silk B.J., Killerby M.E. Seasonality of common human coronaviruses, United States, 2014–2021. *Emerg. Infect. Dis.*, 2022, vol. 28, no. 10, pp. 1970–1976. doi: 10.3201/eid2810.220396
117. Shaw B., Gatherer D. Candidate historical events for the emergence of Human Coronavirus OC43: a critical reassessment of the molecular evidence. *PLoS One*, 2023, vol. 18, no. 5: e0285481. doi: 10.1371/journal.pone.0285481
118. Smith W., Andrewes C.H., Laidlaw P.P. A virus obtained from influenza patients. *Lancet*, 1933, vol. 222, no. 5732, pp. 66–68. doi: 10.1016/S0140-6736(00)78541-2
119. Souilmi Y., Lauterbur M.E., Tobler R., Huber C.D., Johar A.S., Moradi S.V., Johnston W.A., Krogan N.J., Alexandrov K., Enard D. An ancient viral epidemic involving host coronavirus interacting genes more than 20,000 years ago in East Asia. *Curr. Biol.*, 2021, vol. 31, no. 16, pp. 3504–3514. doi: 10.1016/j.cub.2021.05.067
120. St John S.E., Tomar S., Stauffer S.R., Mesecar A.D. Targeting zoonotic viruses: structure-based inhibition of the 3C-like protease from bat coronavirus HKU4 – the likely reservoir host to the human coronavirus that causes Middle East Respiratory Syndrome (MERS). *Bioorg. Med. Chem.*, 2015, vol. 23, no. 17, pp. 6036–6048. doi: 10.1016/j.bmc.2015.06.039
121. Tang D., Comish P., Kang R. The hallmarks of COVID-19 disease. *PLoS Pathog.*, 2020, vol. 16, no. 5: e1008536. doi: 10.1371/journal.ppat.1008536
122. Tang G., Liu Z., Chen D. Human coronaviruses: origin, host and receptor. *J. Clin. Virol.*, 2022, vol. 155, no. 1: 105246. doi: 10.1016/j.jcv.2022.105246
123. Taubenberger J.K., Morens D.M., Fauci A.S. The next influenza pandemic: can it be predicted? *JAMA*, 2007, vol. 297, no. 18, pp. 2025–2027. doi: 10.1001/jama.297.18.2025
124. Taubenberger J.K., Reid A.H., Krafft A.E., Bijwaard K.E., Fanning T.G. Initial genetic characterization of the 1918 “Spanish” influenza virus. *Science*, 1997, vol. 275, no. 5307, pp. 1793–1796. doi: 10.1126/science.275.5307.1793
125. Taylor R.M. Studies on survival of influenza virus between epidemics and antigenic variants of the virus. *Am. J. Public Health Nations Health.*, 1949, vol. 39, no. 2, pp. 171–178. doi: 10.2105/ajph.39.2.171
126. Thomas S. Mapping the nonstructural transmembrane proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *J. Comput. Biol.*, 2021, vol. 28, no. 9, pp. 909–921. doi: 10.1089/cmb.2020.0627
127. Toze S.J., Lambert S.B., Whiley D.M., Bialasiewicz S., Lyon M.J., Nissen M.D., Sloots T.P. Detection of human bocavirus in respiratory, fecal, and blood samples by real-time PCR. *J. Med. Virol.*, 2009, vol. 81, no. 3, pp. 488–493. doi: 10.1002/jmv.21409
128. Tsai S.C., Lu C.C., Bau D.T., Chiu Y.J., Yen Y.T., Hsu Y.M., Fu C.W., Kuo S.C., Lo Y.S., Chiu H.Y., Juan Y.N., Tsai F.J., Yang J.S. Approaches towards fighting the COVID-19 pandemic (Review). *Int. J. Mol. Med.*, 2021, vol. 47, no. 1, pp. 3–22. doi: 10.3892/ijmm.2020.4794
129. Tumpey T.M., Basler C.F., Aguilar P.V., Zeng H., Solorzano A., Swayne D.E., Cox N.J., Katz J.M., Taubenberger J.K., Palese P., Garcia-Sastre A. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Science*, 2005, vol. 310, no. 5745, pp. 77–80. doi: 10.1126/science.1119392
130. Tyrrell D.A., Bynoe M.L. Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures. *Br. Med. J.*, 1965, vol. 1, no. 5448, pp. 1467–1470. doi: 10.1136/bmj.1.5448.1467
131. Valleron A.J., Cori A., Valtat S., Meurisse S., Carrat F., Boëlle P.Y. Transmissibility and geographic spread of the 1889 influenza pandemic. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2010, vol. 107, no. 19, pp. 8778–8781. doi: 10.1073/pnas.1000886107

132. Van Den Hoogen B.G., De Jong J.C., Groen J., Kuiken T., De Groot R., Fouchier R.A., Osterhaus A.D. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat. Med.*, 2001, vol. 7, no. 6, pp. 719–724. doi: 10.1038/89098
133. Van der Hoek L., Pyrc K., Jebbink M.F., Vermeulen-Oost W., Berkhout R.J.M., Wolthers K.C., Wertheim-van Dillen P.M.E., Kaandorp J., Spaargaren J., Berkhout B. Identification of a new human coronavirus. *Nat. Med.*, 2004, vol. 10, no. 4, pp. 368–373.
134. Varghese L., Zachariah P., Vargas C., LaRussa P., Demmer R.T., Furuya Y.E., Whittier S., Reed C., Stockwell M.S., Saiman L. Epidemiology and clinical features of human coronaviruses in the pediatric population. *J. Pediatric Infect. Dis. Soc.*, 2018, vol. 7, no. 2, pp. 151–158. doi: 10.1093/jpids/pix027
135. Vijgen L., Keyaerts E., Moës E., Thoele I., Wollants E., Lemey P., Vandamme A.M., Van Ranst M. Complete genomic sequence of human coronavirus OC43: molecular clock analysis suggests a relatively recent zoonotic coronavirus transmission event. *J. Virol.*, 2005, vol. 79, no. 3, pp. 1595–1604. doi: 10.1128/JVI.79.3.1595-1604.2005
136. Waterlow N.R., Van Leeuwen E., Davies N.G., Flasche S., Eggo R.M. How immunity from and interaction with seasonal coronaviruses can shape SARS-CoV-2 epidemiology. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2021, vol. 118, no. 49: e2108395118. doi: 10.1073/pnas.2108395118
137. Wen C., Sun L., Zhao M.C., Duan S.X., Wang L., Cui X.W. Clinical study of human coronavirus NL63, OC43, 229E, HKU1 infections in hospitalized children from 2015 to 2020. *Infect. Drug. Resist.*, 2022, vol. 15, no. 1, pp. 1093–1101. doi: 10.2147/IDR.S357193
138. WHO. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). 2023. URL: https://www.who.int/health-topics/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-mers#tab=tab_1
139. WHO. Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS). 2023. URL: https://www.who.int/health-topics/severe-acute-respiratory-syndrome#tab=tab_1
140. Wong-Chew R.M., Fernández J.A.M. Generalities, clinical and prevention aspects of COVID-19: Mexico and Latin America. *Univ. Med.*, 2021, vol. 62, no. 3, pp. 97–114. doi: 10.11144/javeriana.umed62-3.gacp
141. Woo P.C., Lau S.K., Chu C.M., Chan K.H., Tsoi H.W., Huang Y., Wong B.H., Poon R.W., Cai J.J., Luk W.K., Poon L.L., Wong S.S., Guan Y., Peiris J.S., Yuen K.Y. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J. Virol.*, 2005, vol. 79, no. 2, pp. 884–895. doi: 10.1128/JVI.79.2.884-895.2005
142. Woo P.C.Y., Huang Y., Lau S.K.P., Yuen K.Y. Coronavirus genomics and bioinformatics analysis. *Viruses*, 2010, vol. 2, no. 8, pp. 1804–1820. doi: 10.3390/v2081803
143. Yin Y., Wunderink R.G. MERS, SARS and other coronaviruses as causes of pneumonia. *Respirology*, 2018, vol. 23, no. 2, pp. 130–137. doi: 10.1111/resp.13196
144. Yoshimoto F.K. The proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the cause of COVID-19. *Protein J.*, 2020, vol. 39, no. 3, pp. 198–216. doi: 10.1007/s10930-020-09901-4
145. Zeng Q., Langereis M.A., Van Vliet A.L., Huizinga E.G., De Groot R.J. Structure of coronavirus hemagglutinin-esterase offers insight into corona and influenza virus evolution. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2008, vol. 105, no. 26, pp. 9065–9069. doi: 10.1073/pnas.0800502105
146. Zeyaulah M., Alshahrani A.M., Muzammil K., Ahmad I., Alam S., Khan W.H., Ahmad R. COVID-19 and SARS-CoV-2 variants: current challenges and health concern. *Front. Genet.*, 2021, vol. 12: 693916. doi: 10.3389/fgene.2021.693916
147. Zhao X., Ding Y., Du J., Fan Y. 2020 update on human coronaviruses: one health, one world. *Med. Nov. Technol. Devices*, 2020, vol. 8: 100043. doi: 10.1016/j.medntd.2020.100043
148. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L., Zhang W., Si H.R., Zhu Y., Li B., Huang C.L., Chen H.D., Chen J., Luo Y., Guo H., Jiang R.D., Liu M.Q., Chen Y., Shen X.R., Wang X., Zheng X.S., Zhao K., Chen Q.J., Deng F., Liu L.L., Yan B., Zhan F.X., Wang Y.Y., Xiao G.F., Shi Z.L. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 2020, vol. 579, no. 7798, pp. 270–273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7
149. Zhu N., Zhang D., Wang W., Li X., Yang B., Song J., Zhao X., Huang B., Shi W., Lu R., Niu P., Zhan F., Ma X., Wang D., Xu W., Wu G., Gao G.F., Tan W. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N. Engl. J. Med.*, 2020, vol. 382, no. 8, pp. 727–733. doi: 10.1056/NEJMoa2001017

Авторы:

Киселева И.В., д.б.н., профессор, зав. лабораторией общей вирусологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия; профессор кафедры фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

Мусаева Т.Д., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии отдела этиологии и эпидемиологии ФГБУ НИИ гриппа МЗ РФ им. А.А. Смородинцева, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Kiseleva I.V., DSc (Biology), Professor, Head of the Laboratory of General Virology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation; Professor, Department of Fundamental Problems of Medicine and Medical technologies, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation;

Musaeva T.D., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Virology, Department of Etiology and Epidemiology, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 09.09.2023
Принята к печати 05.11.2023

Received 09.09.2023
Accepted 05.11.2023

МОЛЕКУЛЯРНАЯ МИМИКРИЯ И COVID-19

В.Н. Зорина

ФГБУ Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Значительная часть осложнений COVID-19 и проявлений постковидного синдрома связана с аутоиммунными реакциями, вызываемыми SARS-CoV-2. Ключевым механизмом реализации аутоиммунитета при COVID-19 является молекулярная мимикрия, задействованная в развитии цитокинового шторма, системного мультиорганный гипервоспаления, эндотелиальной дисфункции, а также являющаяся триггером развития аутоиммунных заболеваний (аутоиммунной тромбоцитопении, аутоиммунного васкулита, синдрома Гийена–Барре, синдрома Миллера–Фишера, аутоиммунной нейропатии, аутоиммунного тиреоидита, ревматоидного артрита и других) после перенесенного COVID-19. В целом выявлено 59 общих иммунных детерминант в 80 эпитопах спайк-белка SARS-CoV-2 с 53 противовоспалительными белками, рецепторами, регулирующими пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток, а также иммунный ответ. Обнаружено, что среди 37 белков вируса, только 8 не имеют иммуногенных участков, идентичных белкам человека. Перекрестное реагирование приводит к формированию более 15 отдельных типов аутоантител, включая антифосфолипидные антитела к кардиолипину и бета-2-гликопротеину I, антитела к трансмембранному рецептору аденозина A2b, адипонектину, фосфатидилсерин-протромбиновые аутоантитела, антинуклеарные антитела, антитела к митохондриям M2, аутоантитела против интерферонов I типа и других цитокинов, хемокинов, компонентов комплемента и белков клеточных мембран. Формирующиеся при COVID-19 аутоантитела реагируют с антигенами клеток щитовидной железы, сердечной и скелетных мышц, легкого, суставов, печени, почек, головного и костного мозга, периферической нервной системы, кожи и жировой ткани, желудочно-кишечного тракта, яичек, глаза, а также с антигенами митохондрий, опосредуя развитие тяжелых осложнений заболевания и постковидного синдрома. Наличие 24 гомологичных пентапептидов с *B. pertussis*, *C. diphtheriae*, *C. tetani*, *H. influenzae* и *N. meningitidis* создает риск развития неэффективного иммунного ответа при вакцинации на фоне повышенного риска аутоиммунных осложнений. Необходимо обязательно учитывать феномен молекулярной мимикрии при разработке новых подходов к реабилитации и лечению COVID-19, а также при разработке и тестировании вакцин против SARS-CoV-2.

Ключевые слова: молекулярная мимикрия, COVID-19, SARS-CoV-2, аутоиммунитет, постковидный синдром, поствакцинальные осложнения.

THE MOLECULAR MIMICRY AND COVID-19

Zorina V.N.

Golikov Research Clinical Center of Toxicology under the Federal Medical Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. A significant part of the complications of COVID-19 and manifestations of post-COVID syndrome is associated with autoimmune reactions caused by SARS-CoV-2. The key mechanism for enabling autoimmunity in COVID-19 results from molecular mimicry, which is involved in developing cytokine storm, systemic multiorgan hyperinflammation, endothelial dysfunction, also being a trigger for arising post-COVID-19 autoimmune diseases (autoimmune

Адрес для переписки:

Зорина Вероника Николаевна
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1,
ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России.
Тел.: 8 (812) 372-51-23.
E-mail: nilimmun@yandex.ru

Contacts:

Veronika N. Zorina
197376, Russian Federation, St. Petersburg,
Bekhtereva str., 1, Golikov Research Center of Toxicology.
Phone: +7 (812) 372-51-23.
E-mail: nilimmun@yandex.ru

Для цитирования:

Зорина В.Н. Молекулярная мимикрия и COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 841–852. doi: 10.15789/2220-7619-TMM-8878

Citation:

Zorina V.N. The molecular mimicry and COVID-19 // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 841–852. doi: 10.15789/2220-7619-TMM-8878

© Зорина В.Н., 2023

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-TMM-8878>

thrombocytopenia, autoimmune vasculitis, Guillain–Barré syndrome, Miller–Fisher syndrome, autoimmune neuropathy, autoimmune thyroiditis, rheumatoid arthritis, etc.). Overall, there have been identified 59 common immune determinants in 80 epitopes of the SARS-CoV-2 spike protein and 53 anti-inflammatory proteins, receptors regulating cell proliferation, differentiation and apoptosis as well as immune response. It was found that among the 37 viral proteins, only 8 of them bear no immunogenic regions identical to human proteins. Cross-reactivity results in emergence of more than 15 distinct types of autoantibodies including antiphospholipid antibodies against cardiolipin and beta-2-glycoprotein I, antibodies specific to transmembrane adenosine receptor A2b, adiponectin, phosphatidylserine-prothrombin, antinuclear antigens, mitochondrial M2, type I interferons, and other cytokines, chemokines, complement components and cell membrane proteins. Autoantibodies formed during COVID-19 react to antigens of cells located in the thyroid gland, cardiac and skeletal muscles, lung, joints, liver, kidneys, brain and bone marrow, peripheral nervous system, skin and adipose tissue, gastrointestinal tract, testicles, eyes as well as mitochondrial antigens, mediating development of severe disease-related complications and post-COVID syndrome. The presence of 24 homologous pentapeptides with those found in *B. pertussis*, *C. diphtheriae*, *C. tetani*, *H. influenzae* and *N. meningitidis* poses a risk of developing ineffective vaccination immune response paralleled with higher risk of autoimmune complications. It is imperative to take into account the phenomenon of molecular mimicry while proposing new approaches for rehabilitation and treatment of COVID-19 as well as in development and testing of vaccines against SARS-CoV-2.

Key words: *molecular mimicry, COVID-19, SARS-CoV-2, autoimmunity, post-COVID syndrome, post-vaccination complications.*

Особенности патогенеза SARS-CoV-2 и аутоиммунные проявления вирусной инфекции

За последние 20 лет выявлено три случая появления нового коронавируса, вызывающего тяжелый острый респираторный синдром: SARS-CoV в 2003 г., MERS-CoV в 2012 г. и, наконец, SARS-CoV-2, вызывавший COVID-19, в 2019 г. [9]. В период с декабря 2019 г. по сентябрь 2022 г. в мире зарегистрировано более 600 млн случаев заражения SARS-CoV-2, более 6 млн зараженных умерло от инфекции или осложнений. Клиническое течение COVID-19 отличается крайней изменчивостью: у некоторых людей заболевание протекает бессимптомно, в то время как у других наблюдаются лихорадка, сухой кашель, anosmia и потеря вкуса, повышенная утомляемость, головная боль, ассоциированная с гиперсинтезом цитокинов воспалительная реакция, нарушения свертываемости крови, эндотелиальная дисфункция, сердечная аритмия, диарея, нарушения функции печени и почек, пневмония, приводящая к острому респираторному дистресс-синдрому (ОРДС) и тяжелой дыхательной недостаточности [7, 8, 19, 26]. Первичная инфекция SARS-CoV-2 сопровождается системным высвобождением вирусной РНК (РНКемией), способствующей активации каскада реакций врожденного иммунного ответа и гиперактивации свертывания, приводящей к легочным и системным иммуноtromбозам, включая венозные локальные тромбозы [18].

Известно, что вирус SARS-CoV-2 взаимодействует с ангиотензинпревращающим ферментом-2 (ACE-2) и трансмембранной сериновой протеазой-2 (TMPRSS2), экспрессируемые пневмоцитами II типа и многими другими

типами клеток (в том числе сосудистого эндотелия), для того, чтобы обеспечить слияние оболочки с клеточной мембраной и проникнуть внутрь клетки. Кроме того, SARS-CoV-2 подавляет экспрессию ACE-2 в клетках-мишенях, прямо или опосредованно провоцируя избыточную выработку ангиотензина II, активацию воспалительной реакции, сужение просвета сосудов, избыточную пролиферацию клеток, разрыхление плотности стенок капилляров и экссудацию, что способствует распространению инфекции и приводит к развитию легочного фиброза [8].

COVID-19 ассоциирован с изменениями в субпопуляциях циркулирующих лейкоцитов и с массивным увеличением концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке крови, особенно IL-6, IL-1 β , IL-10, IL-17, TNF α , GM-CSF (с так называемым «цитокиновым штормом») [7, 8]. У пациентов с тяжелой формой COVID-19 также зафиксировано повышение уровней IL-2, IL-7, MIP-1 α , IP-10, MCP-1, IFN γ [32]. Спровоцированный SARS-CoV-2 гиперсинтез цитокинов индуцирует выработку хемокинов, провоспалительных белков и активирует неконтролируемую воспалительную реакцию, что в конечном итоге может приводить к смерти от полиорганной недостаточности [7, 8].

Изменения наблюдаются и в клеточном звене иммунного ответа: значительно снижается количество NK и T-клеток при тяжелом COVID-19, выявляется меньше наивных T-клеток и индуцированных T-регуляторных (iTreg) клеток (CD45⁺CD3⁺CD4⁺CD25⁺CD127^{low+}), способных подавить гипервоспаление, то есть в целом развивается вирус-индуцированный вторичный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз [32]. Выявлена активация экстрафолликулярных B-клеток у пациентов в критическом состоянии [15]. Отмечено нарушение субпопуляцион-

ного состава, изменения соотношения «регуляторных» и «провоспалительных» Tfh-клеток, а также снижение контроля за антителопродуцирующими В-клетками, аналогичное наблюдаемому при аутоиммунной патологии [2].

Способность SARS-CoV-2 вызывать гиперстимуляцию иммунной системы провоцирует формирование разнообразных антител с триггерными эффектами [8]. Очевидно, что далеко не все клинические проявления системного заболевания COVID-19 можно объяснить исключительно последствиями взаимодействия S-белка SARS-CoV-2 с клеточными мембранами тканей, экспрессирующих ACE-2. В частности, развитие диссеминированной внутрисосудистой коагулопатии часто сопровождается повышенными уровнями аутоантител к кардиолипину и β 2-гликопротеину, что свидетельствует об участии аутоиммунной реактивности в патогенезе COVID-19. Многие клинические проявления поражений ЦНС, кожи, желудочно-кишечного тракта и других органов также связаны не с прямым воздействием SARS-CoV-2, а с аутоиммунными реакциями [19, 30].

Известно, что помимо генетической предрасположенности, значительную роль в развитии аутоиммунных заболеваний играют внешние триггеры, в том числе вирусная инфекция [9]. Среди вирусов, описанных в качестве триггеров аутоиммунных заболеваний: парвовирус В19, вирус Эпштейна–Барр (EBV), цитомегаловирус (CMV), вирус герпеса 6 типа, Т-лимфотропный вирус человека (HTLV-1), вирус гепатита А и С, а также возбудители краснухи, кори и эпидемического паротита. Установлено, что данные вирусы провоцируют развитие аутоиммунных заболеваний, включая ревматоидный артрит (РА), системную красную волчанку (СКВ), синдром Шегрена, первичный билиарный холангит, рассеянный склероз, полимиозит, увеит, пурпуру Шенлейна–Геноха, системный ювенильный идиопатический артрит, тиреоидит Хашимото, аутоиммунный гепатит, сахарный диабет 1 типа и другие [8, 9, 19]. Известно, что ВИЧ, HTLV-1 и вирусный гепатит С вызывают аутоиммунные реакции, способствуя образованию аутоантител класса G (анти-Ro52, анти-Ro60 и других), антиядерных антител, анти-ДНК, анти-Sm-D и многих других [8]. Установлено, что как минимум два распространенных человеческих коронавируса (HCoV-229E и HCoV-OC43) ассоциированы с развитием рассеянного склероза; сообщалось о перекрестной иммунной реактивности Т-клеток с эпитопами миелина и с антигенами HCoV-229E [19]. При этом коронавирусы в принципе обладают чрезвычайно нейроинвазивными характеристиками и способны вызывать прямое повреждение центральной нервной системы через Т-клетки или активацию комплемента [30].

Ранее было высказано предположение, что тромбоцитопения, возникавшая у пациентов после заражения предыдущим эпидемическим коронавирусом (SARS-CoV-1), имеет иммунную природу. Были отмечены случаи перекрестной реактивности — у пациентов с аутоиммунными заболеваниями (СКВ, синдром Шегрена, РА и другие) выявлен положительный результат при тестировании на наличие антител к антигену SARS-CoV-1, несмотря на отсутствие данной инфекции в анамнезе [19].

Установлено, что SARS-CoV-2 способствует возникновению аутоиммунных процессов даже в большей степени, чем другие вирусы. Описано множество случаев развития аутоиммунной гемолитической анемии, аутоиммунной тромбоцитопении, аутоиммунного васкулита, синдрома Гийена–Барре и синдрома Миллера–Фишера, синдрома активации макрофагов, аутоиммунной нейропатии, аутоиммунного тиреоидита, аутоиммунной тромбоцитопенической пурпуры, РА, СКВ и рассеянного склероза у переболевших COVID-19 [8, 14, 19, 32].

Известно, что многие вирусные инфекции могут вызывать аутоиммунные реакции через реализацию целого ряда механизмов, включая так называемое «распространение эпитопов», «активацию свидетеля», реакции перекрестного реагирования (молекулярная мимикрия), а также реакции на ранее скрытые антигенные детерминанты [32]. Согласно мнению ряда исследователей, в индукции аутоиммунного ответа SARS-CoV-2 ключевым механизмом является молекулярная мимикрия [8, 19].

Помимо специфического цитопатического эффекта, многие вирусы могут индуцировать реакции гиперчувствительности типа II и IV, и SARS-CoV-2, очевидно, не является исключением. Ныне описано множество теорий о том, как именно данный вирус опосредует гипертрофическое состояние. К примеру, предполагается, что повреждение сосудов за счет отложения иммунных комплексов может приводить к антителозависимому усилению репликации вируса в экспрессирующих Fc-рецептор клетках [32].

Не последнюю роль в патогенезе COVID-19 играет и выраженная нейтрофилия. Активация и высвобождение нейтрофильных внеклеточных ловушек (NET), или нетоз, сопровождаемый выделением сети внеклеточных волокон (преимущественно состоящих из ДНК и хроматина), может также служить источником аутоантигенов, приводящих к аутоиммунным состояниям. Экскретируемая эластаза дополнительно провоцирует высвобождение пептидиларгининдеиминазы (PAD), усиливающих цитруллинирование собственных белков (в том числе гистонов), делая их аутореактивными [8].

Многочисленные данные демонстрируют вероятность формирования у больных COVID-19 более 15 отдельных типов аутоантител. У многих пациентов с тяжелым течением COVID-19, сопровождавшимся образованием тромбов в различных органах, обнаружены антифосфолипидные антитела: у каждого второго обследованного выявлены связанные с фосфолипидным синдромом аутоантитела к кардиолипину (aCL) и бета-2-гликопротеину I (β 2GPI). Фосфатидилсерин-протромбиновые аутоантитела (PS-PT) также связаны с более высокой частотой тромбозов и выявлялись у каждого четвертого больного. У 10% больных с тяжелой пневмонией на фоне COVID-19 были обнаружены нейтрализующие аутоантитела против интерферонов I типа [8]. Помимо антифосфолипидных антител, у пациентов с COVID-19 выявлены антинуклеарные антитела (ANA), антитела к аннексину A2, цитокинам (GM-CSF, IL-6, IL-10), хемокинам, компонентам комплемента и белкам клеточных мембран, включая белки глии [15, 19]. Особую озабоченность вызывает способность формирующихся при COVID-19 аутореактивных антител преодолевать гематоэнцефалический барьер [14].

После успешной элиминации вируса SARS-CoV-2 из организма часто наблюдается ряд тяжелых осложнений, обусловленных вирус-индуцированным аутоиммунным ответом, сохраняющимся после острой фазы COVID-19, в виде персистирующих аутореактивных Т-клеток и антител [14]. Точного определения постковидного синдрома нет, но наиболее распространенными симптомами являются повышенная утомляемость (как результат дисфункции вегетативной нервной системы) и одышка, сохраняющиеся в течение нескольких месяцев после острого COVID-19. Через 3 месяца у переболевших фиксируются рентгенологические отклонения в 71% случаев и нарушения функции легких в 25% случаев, притом что только 10% больных перенесли тяжелую пневмонию [33], что свидетельствует о реализации патологических процессов уже после острой вирусной инфекции. Другие стойкие симптомы могут сохраняться до шести месяцев и включают когнитивные и психические нарушения, боли в груди и суставах, учащенное сердцебиение, миалгию, нарушения обоняния и вкуса, кашель, головную боль, выпадение волос, бессонницу, свистящее дыхание, ринорею, мокроту, желудочно-кишечные и сердечные заболевания. Реже встречаются: озноб, приливы, боли в ушах и нарушения зрения. Описаны случаи структурных и метаболических нарушений головного мозга, ассоциированных со стойкими неврологическими симптомами, такими как потеря памяти, anosmia и утомляемость, при этом первоначальная тяжесть COVID-19 не играет суще-

ственной роли [33]. Появление множественных неврологических нарушений после COVID-19, включая хроническую усталость или двигательные расстройства, во многом напоминают так называемый «летаргический энцефалит», от которого пострадало более миллиона человек во время пандемии «испанки» 1918 г. [14].

Таким образом, явления аутореактивности играют ключевую роль в патогенезе COVID-19 и постковидного синдрома. Невозможно объяснить развитие аутоиммунных процессов только повышением доступности ранее «забарьерных» антигенов или изменениями состава циркулирующей крови в процессе развития массивного воспалительного процесса. Однако перекрестная реактивность, возникающая при гомологии аминокислотной последовательности эпитопов SARS-CoV-2 с тканевыми белками человека, остается не только важнейшим, но и наименее изученным фактором патогенеза COVID-19 и постковидного синдрома [30].

Роль молекулярной мимикрии в патогенезе COVID-19 и синдрома пост-COVID

Феномен молекулярной мимикрии описан еще в 60-х гг. прошлого века, когда было высказано предположение о том, что микроорганизмы могут ускользать от иммунного надзора, поскольку их поверхностные белки по структуре сходны с белками клеток «хозяина». В дальнейшем было установлено, что многие антитела к эпитопам микроорганизмов и антиген-специфические Т-лимфоциты способны перекрестно реагировать с белками клеток «хозяина», приводя к повреждению тканей и запуская активацию других звеньев иммунной системы [3]. В целом, молекулярная мимикрия возникает, когда рецептор лимфоцитов распознает собственный белок как антиген чужеродного патогена из-за сходства структуры, что приводит к перекрестной иммунной реактивности. При неизбежно развивающемся после подобной реакции воспалении нарушаются барьерные функции организма и иммунные клетки получают доступ к ранее недоступным им аутоантигенам, что провоцирует дальнейшее развитие аутоиммунных процессов [12, 19].

Известно, что многие вирусы используют молекулярную мимикрию, что приводит к развитию аутоиммунного воспаления и повреждению тканей при формировании антител. В частности, антитела к ядерному антигену-1 вируса Эпштейна–Барр (EBNA-1) перекрестно реагируют с основным белком миелина, белок оболочки ретровирусов человека (HERV) имеет сходную последовательность с тремя миелиновыми белками [21].

SARS-CoV-2 тоже использует молекулярную мимикрию для своей защиты: выявлено, что формирующиеся у больных COVID-19 аутоантитела к IFN (α , ω) нейтрализуют способность интерферонов блокировать вирус [19]. Установлено, что аутоантитела к IFN α есть и у здоровых людей, однако выявляются в 2 раза реже, чем у больных COVID-19 (8,8% против 18%) и в значительно меньшей концентрации (до 12,0 нг/мл и ниже против 26,8 и выше) [4].

Предполагается, что при COVID-19 механизмы молекулярной мимикрии задействованы в развитии цитокинового шторма, системного мультиорганного гипервоспаления, синдрома активации макрофагов, ферритинемии, эндотелиальной дисфункции [12]. Выявлены многочисленные случаи структурного сходства антигенов вируса SARS-CoV-2 и человека. В частности, описано более 30 гептапептидов, линейная последовательность которых является общей для SARS-CoV-2 и человеческого протеома (авторы предполагают, что при формировании вторичной и третичной структур белков возможны дополнительные совпадения) [8]. Проведенный другой группой исследователей математический анализ выявил уже более 50 структурных аналогий между белками SARS-CoV-2 и пептидами человека, в том числе представляющими собой рецепторы, участвующие в клеточных сигнальных путях и регулирующие такие важные процессы, как пролиферация, дифференцировка, апоптоз и иммунный ответ. Значительная часть общих для вируса и человека иммунореактивных пентапептидов обнаруживалась в 80 эпитопах гликопротеина «шипов» SARS-CoV-2: выявлено 59 общих иммунных детерминант с 53 противовоспалительными человеческими белками, которые могут стать мишенями или изменяться/инактивироваться аутоиммунными перекрестными реакциями [12]. В исследовании, посвященном выявлению потенциально иммуногенных эпитопов у белков SARS-CoV-2, обнаружено, что из 37 белков вируса только 8 не имеют иммуногенных участков, а у остальных, за исключением одного нуклеопротеина, все эпитопы имеют последовательности, идентичные белкам человека. Некоторые из иммуногенных последовательностей распознаны как В-клеточные эпитопы, сообщалось о некоторых потенциальных Т-клеточных эпитопах [19].

При изучении перекрестных реакций 55 антител против SARS-CoV-2 с применением человеческих моноклональных антител к спайк-белку, нуклеопротеину и кроличьих поликлональных антител к белкам оболочки и мембраны вируса установлено, что 28 антител реагируют с тканевыми антигенами, представляющими различные группы тканей, включая антигены клеток щитовидной железы, сердеч-

ной и скелетных мышц, легкого, суставов, печени, почек, головного и костного мозга, периферической нервной системы, кожи и жировой ткани, желудочно-кишечного тракта, яичек, глаза, а также антигены митохондрий. Высокая степень гомологии иммуногенных эпитопов SARS-CoV-2 с человеческими белками и антигенами различных тканей может быть одной из основных причин системного поражения организма при COVID-19. Обширная иммунная перекрестная реактивность между антителами к SARS-CoV-2, несомненно, влияет на тяжесть COVID-19, может ускорять дебют или утяжеление аутоиммунных заболеваний [30].

В числе перекрестно-реагирующих белков при COVID-19 идентифицирован рецептор аденозина A2b (AA2BR) — трансмембранный рецептор, регулирующий реакции врожденного иммунитета на метаболический стресс и повреждение клеток. Перекрестные реакции, затрагивающие AA2BR, снижают продукцию цАМФ с последующим повышением уровня провоспалительного TNF α , IL-17 и других цитокинов. Учитывая, что данный рецептор активно экспрессируется и осуществляет регуляторные функции не только в сосудистой сети многих органов (включая селезенку, легкие, толстую кишку и почки), но и на альвеолярных эпителиальных клетках II типа, продуцирующих и секретирующих легочный сурфактант, а также влияет на количество регуляторных Т-клеток (Tregs), воздействующих на уровень противовоспалительных цитокинов IL-10, IL-35 и трансформирующего фактора роста, аутореактивность только на AA2BR способна объяснить наличие острого респираторного синдрома и системного мультиорганного гипервоспаления при инфицировании SARS-CoV-2 [12].

Установлено, что антитела против SARS-CoV-2 перекрестно реагируют с белком «мусорщиком» (скавенджером) C163A, связывающим комплекс Hb—гаптоглобин и опосредующим его поглощение макрофагами. Изменения уровня C163A нарушают защиту от окислительного стресса, вызывают внутрисосудистое накопление железа с тяжелыми патологическими последствиями, включая запуск экспрессии металлопротеиназы ADAM17, утяжеляющей окислительный стресс, провоцирующей развитие лимфаденопатии, цитопении и сепсис-подобного состояния [12].

Еще одной мишенью перекрестно-реагирующих антител является адипонектин, модулирующий эндотелиальные молекулы адгезии [12]. Опубликованы сообщения о гомологии фрагментов SARS-CoV-2 с фрагментами шаперонов, а именно белков теплового шока (БТШ-60 и БТШ-90) [16]. Выявлено, что при COVID-19 антитела перекрестно реагируют

с IL-10, IL-35 (цитокины с выраженными противовоспалительными функциями), CREB1 (фактор транскрипции, повышающий выживаемость макрофагов, Т- и В-лимфоцитов), MY18A (преимущественно экспрессируется в альвеолярных макрофагах и играет важную роль в защите легкого) [12]. Необходимо учитывать, что высокоаффинные антитела, нейтрализующие SARS-CoV-2, обычно имеют низкий уровень соматических гипермутаций, меньшее количество циклов созревания аффинности увеличивает риск аутореактивности образующихся антител [14].

У пациентов с COVID-19 выявлены антинуклеарные антитела (ANA), антитела к экстрагируемому ядерному антигену (ENA) и к двухцепочечной ДНК, антицитоплазматические нейтрофильные антитела (ANCA) аутоантитела к актину и к митохондриям, а также антифосфолипидные (APL) аутоантитела, приводящие к жизнеугрожающим коагулопатиям [16, 30, 31]. В серии экспериментов установлено, что моноклональное антитело против спайк-белка SARS-CoV-2 активно взаимодействует с нейрофиламентом (NFP) митохондриальным M2 (входит в состав пируватдегидрогеназного комплекса), декарбоксилазой глутаминовой кислоты (GAD-65), нуклеарным антигеном (NA). Выявлена умеренная активность реакции с тиреопероксидазой (ТПО) микросомами печени [30]. Другие авторы продемонстрировали взаимодействие антител к SARS-CoV-2 с трансглутаминазами (tTG2, tTG3, tTG6), выявлены ANA и ENA, взаимодействие с основным белком миелина (MBP), митохондриями, α -миозином, тиреопероксидазой (ТПО), коллагеном, клаудинами 5 и 6, а также с кальций-связывающим белком глиальных клеток S100B [31]. В эксперименте *in vitro* продемонстрировано, что человеческое моноклональное антитело к нуклеопротеину SARS-CoV-2 активно взаимодействует с антигенами митохондрий M2, инсулином-R, окклюдином и зонулином (барьерными белками-мишенями легких, кишечника и гематоэнцефалического барьера), реакции с ферментом GAD-65 и актином были умеренными. Поликлональные кроличьи антитела к белкам оболочки SARS-CoV-2 перекрестно реагируют с антигенами M2 и эпителиальных клеток кишечника, и, в меньшей степени, с актином, альфа-миозином и фосфолипидами. Поликлональные антитела к мембранным белкам SARS-CoV-2 реагируют с 18 антигенами, сильнее всего с M2 и NFP. Селективное картирование эпитопов с помощью BLAST продемонстрировало гомологию антигенов спайк-белка, нуклеопротеина и других белков SARS-CoV-2 с антигенами тканей человека, в том числе митохондрий M2 (50–78%), F-актином (58–63%) и ТПО (50–70%).

Установлено, что последовательность актина «SIL-ASLSTF» перекрестно реагирует с последовательностью «SVLYNSASFSTF» в цепях А, В, С и Е спайк-белка SARS-CoV-2, а также с цепью Е домена связывания рецептора шипа SARS-CoV-2. Очевидно, что антитела, перекрестно реагирующие с ТПО, могут спровоцировать развитие аутоиммунного тиреоидита, гомология фрагментов вируса с F-актином может быть одной из причин развития кардиомиопатий, перекрестные реакции антител против SARS-CoV-2 с белками-мишенями центральной нервной системы (NFP, GAD-65, бета-амилоид и другие) ассоциированы с неврологическими осложнениями при COVID-19 и повышают риск развития рассеянного склероза или болезни Альцгеймера после перенесенного заболевания [30]. По данным ряда авторов, развитие неврологической симптоматики (миоклонус, судороги, делирий, энцефалопатия), дисфункция гематоэнцефалического барьера и повреждение нейронов при COVID-19 спровоцированы высокими уровнями нейтрализующих высокоаффинных аутоантител к эпитопам SARS-CoV-2 в спинномозговой жидкости, перекрестными реакциями с эпитопами эндотелиальных, глиальных и нейрональных клеток [14].

Особую настороженность в плане развития осложнений в отдаленной перспективе вызывают выявленные гомологичные последовательности между SARS-CoV-2 и белками-супрессорами злокачественных опухолей. Установлено, что 29 пентапептидов, общих для шиповидного антигена gp и 19 белков-супрессоров опухолей, встречаются и повторяются в 150 эпитопах SARS-CoV-2, каталогизированных как высокоиммуногенные эпитопы вируса. Очевидно, что данная гомология значительно повышает риск развития Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза, олигодендроглиомы, рака молочной железы/яичников, саркомы, злокачественной мезотелиомы, В-клеточного хронического лимфоцитарного лейкоза, клеточной карциномы в отдаленной перспективе [13]. Долговременные нарушения в процессах созревания и дифференцировки NK-клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов, наличие на их поверхности ингибиторных рецепторов также могут снижать эффективность противоопухолевого иммунитета при COVID-19 [2].

Дополнительной проблемой, ассоциированной с молекулярной мимикрией, является выявленная перекрестная реакция антител к эпитопам SARS-CoV-2 с другими вирусами [26]. По некоторым данным, SARS-CoV-2-реактивные CD4⁺ Т-клетки обнаруживаются у 40–60% не подвергавшихся воздействию вируса людей, что указывает на перекрестно-реактивное распознавание Т-клеток между

циркулирующими коронавирусами, вызывающими «обычную» ОРВИ и SARS-CoV-2. То есть наблюдается «активация свидетеля», при которой инфекция может привести к активации Т-клеток, которые, в свою очередь, могут активировать препримированные аутореактивные Т-клетки. Предполагается, что возникавшие ранее иммунные ответы на другие патогены (*B. pertussis*, *C. tetani*, *C. diphtheriae*, *H. influenzae* и/или *N. meningitidis*) могут усиливать иммунный ответ на SARS-CoV-2. Следовательно, первичный ответ на вирус может трансформироваться во вторичный (или даже третичный) ответ на ранее встреченные патогены, о которых иммунная система сохранила память. Это означает, что преобладающим может быть анамнестический и, по определению, чрезвычайно мощный ответ против ранее существовавших иммунных детерминант патогенов, в то время как иммунный ответ против последнего обнаруженного патогена, то есть SARS-CoV-2, может быть слабым или безуспешным. При этом атака на ранее сенсibilizировавшие патогены невозможна, поскольку они более не присутствуют в организме. В результате анамнестический, высокоаффинный, высокоavidный и чрезвычайно мощный вторичный иммунный ответ, вызванный последним встреченным патогеном, то есть SARS-CoV-2, и направленный на перенесенные ранее инфекции, будет поражать единственные доступные мишени, то есть иммунные детерминанты противовоспалительных и других белков человека. В соответствии с этой высоковероятной последовательностью событий молекулярная мимикрия и иммунологическая память могут опосредовать различное патологическое бремя аутоиммунных реакций (от нулевых или легких симптомов до тяжелых и даже летальных) после контакта с SARS-CoV-2 [12].

Молекулярная мимикрия при поствакцинальных осложнениях

Общеизвестно, что применение вакцин против вирусов (папилломы человека, гепатита В, гриппа и других) может вызывать дебют или обострение аутоиммунных заболеваний [7]. Еще в конце 1970-х гг. обнаружено, что вакцинация против свиного гриппа в 4–8 раз повышает риск развития синдрома Гийена–Барре за счет перекрестной реактивности формирующихся антител с антигенами человека. Ранее выявлены перекрестные реакции между антигенами миелина и компонентами вакцины против гепатита В, повышающие риск развития рассеянного склероза, а также перекрестные реакции между компонентами вируса папилломы человека и ядерными белками, повышающие

риск развития системной красной волчанки. В 2009 г. вакцина, разработанная для профилактики пандемии H1N1 (на основе инактивированных частиц расщепленного вируса A/SO3), приводила к развитию нарколепсии из-за перекрестной реактивности [30, 31]. Результаты доклинического исследования вакцин против коронавируса SARS-CoV-1 и ближневосточного респираторного синдрома ассоциировались с риском увеличения тяжести заболевания при повторном воздействии вируса дикого типа после вакцинации. В числе предполагаемых патогенетических механизмов назывались усиление индуцированной антителами клеточной цитотоксичности, дисфункция системы комплемента и aberrантная активация врожденного и приобретенного иммунитета [6].

При экстренной разработке вакцин против SARS-CoV-2, параллельно конструировалось до 60 различных вариантов более чем в 40 странах мира. При этом применялось четыре основных подхода: 1) использование цельного вируса (инактивированного или ослабленного), например КовиВак (ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»), Covaxin (Bharat Biotech), WIBP-CoV (Sinopharm), CoronaVac (Sinovac); 2) использование вирусного вектора (реплицирующегося или нереплицирующегося), преимущественно генетически модифицированного аденовируса, например «Спутник V» (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи»), ChAdOx1 nCoV-19 (AstraZeneca), Ad26.COV2.S (Johnson & Johnson), Convidecia (CanSino Biologics); 3) использование нуклеиновых кислот (РНК, ДНК), например BNT162b2 на основе РНК (Pfizer/BioNTech), mRNA-1273 (Moderna); 4) использование белков (фрагментов вирусных белков, белковых субъединиц, вирусоподобных частиц), например RBD-Dimer (Anhui Zhifei Longcom), NVX-CoV2373 (Novavax), ЭпиВакКорона (ГНЦ ВБ «Вектор»). При этом, если ранее вакцины создавались и тестировались в течение 10–15 лет, то сейчас срок разработки сократился до 1–2 лет [29].

В 2021 г. Европейское агентство по лекарственным средствам одобрило четыре вакцины на основе рандомизированных слепых контролируемых испытаний: две вакцины на основе матричной РНК — BNT162b2 (Pfizer/BioNTech) и mRNA-1273 (Moderna), которые кодируют белковый антиген SARS-CoV-2; ChAdOx1 nCoV-19 (AstraZeneca), рекомбинантный аденовирусный вектор шимпанзе, кодирующий шиповидный гликопротеин SARS-CoV-2, и Ad26.COV2.S (Johnson & Johnson/Janssen), рекомбинантный аденовирусный вектор типа 26, кодирующий шиповидный гликопротеин SARS-CoV-2 [11]. В России первой зарегистрированной вакциной стала комбинированная векторная вакцина «Гам-КОВИД-Вак» («Спутник V») [1].

Быстрое одобрение и последующее глобальное внедрение вакцин против SARS-CoV-2 неизбежно привело к массовым сообщениям о побочных эффектах после вакцинации. Большинство описанных нежелательных явлений были связаны с рисками, аналогичными фоновым, и не вызывали опасений. Агентство по регулированию лекарственных средств и товаров медицинского назначения Великобритании (MHRA) и Европейское агентство по лекарственным средствам (EMA) публично заявили о чрезвычайно благоприятном соотношении риска и пользы для вакцин против SARS-CoV-2, но, тем не менее, признали наличие риска развития венозной тромбоэмболии после вакцинации [25].

Технологии разработки цельновирионных вакцин достаточно традиционны и риск их применения, в целом, аналогичен перечисленным выше, возникающим при применении вакцин против других вирусов. Однако наличие в структуре SARS-CoV-2 большого количества антигенов, гомологичных антигенам человека, вызывает опасения в плане повышенного риска развития аутоиммунной патологии в долгосрочной перспективе при активной ревакцинации.

В вакцинах Moderna и Pfizer/BioNTech используется новая стратегия применения искусственной информационной РНК (мРНК), генерирующей синтез специфических вирусных белков здоровыми клетками ткани. Концентрация вирусного белка достигает пика через 24–48 ч, затем снижается в результате распада молекулы мРНК [8]. Механизм действия векторной вакцины против SARS-CoV-2 от AstraZeneca также принципиально отличается от «традиционных» вакцин: в организм вводится нереплицирующий аденовирус шимпанзе, кодирующий S-белок SARS-CoV-2, генерирующий после формирования комплементарной информационной РНК выработку вирусного белка организмом. В состав вакцины «Спутник V» входит два вектора на основе аденовирусов человека, содержащие ДНК S-белка. Подобные новые разработки направлены на повышение безопасности вакцин. Однако высокая способность SARS-CoV-2 к молекулярной мимикрии и в этом случае может способствовать развитию аутоиммунного ответа на применение вакцины. Все чаще сообщается о новых случаях аутоиммунных осложнений после вакцинации против COVID-19 (иммунная тромбоцитическая тромбоцитопения, аутоиммунные заболевания печени, синдром Гийена–Барре, IgA-нефропатия, РА и СКВ). По мнению исследователей, молекулярная мимикрия, гиперпродукция аутоантител и дополнительная стимуляция аутоиммунных реакций адьювантами вакцин вносят существенный вклад в патологические процессы [6, 7].

Описаны случаи индуцированной вакциной иммунной тромбоцитической тромбоцитопении (VITT) после вакцинации ChAdOx1 nCoV-19 (AstraZeneca) [5, 11, 25, 28]. VITT проявлялась через 5–20 дней после вакцинации в виде тромбоцитопении, тромбоэмболии, признаков ДВС-синдрома. Добавление донорских тромбоцитов к сыворотке пациента в отсутствие гепарина подтверждало наличие активации тромбоцитов. При этом у молодых людей с острой тромбоцитопенией и церебральным венозным тромбозом через 6–24 дня после введения первой дозы ДНК-вакцины были отрицательные результаты ПЦР-теста и серологического теста на антитела к белку нуклеокапсида SARS-CoV-2, что исключало возможность влияния бессимптомной инфекции на развитие тромбозов. В целом VITT имеет много общих черт с аутоиммунной гепарин-индуцированной тромбоцитопенией [5, 11, 19, 28]. По некоторым данным, риск образования тромбов после введения вакцины от AstraZeneca составляет около 1:250 000 в общей популяции, но намного выше среди молодых людей (20–29 лет) 1,1:100 000 [5]. Во всех исследованиях отмечалось значительное повышение уровня антител класса G к тромбоцитарному фактору 4 (PF4), обнаруживался повышенный уровень D-димера. Известно, что от 5 до 7% здоровых доноров также имеют антитела к PF4-гепарину, но в низких или следовых концентрациях [24]. Безусловно, инфекция SARS-CoV-2 сама по себе ассоциирована с тромбоэмболическими явлениями, однако они отличаются от выявленных у вакцинированных [25].

По результатам еще одного исследования, у ряда медицинских работников в возрасте от 32 до 54 лет в течение 10 дней после первой иммунизации ChAdOx1 nCoV-19 (AstraZeneca) развились тромбозы необычных локализаций и тяжелая тромбоцитопения, у нескольких — обширное кровоизлияние в мозг. У всех пострадавших были выявлены IgG к комплексам PF4–полианион, повышенные уровни D-димера, у некоторых отмечалось снижение содержания фибриногена и умеренное повышение уровня С-реактивного белка, компонентов комплемента (C1q, C4 и C3) и продуктов их активации (sC5b-9). При сравнении функциональной активности сыворотки больного с типичной гепарин-индуцированной тромбоцитопенией и пострадавших, тромбоциты пациента с гепарин-индуцированной тромбоцитопенией не активировались, если не добавлялись низкие уровни гепарина, а агрегация тромбоцитов эффективно снижалась при высоких уровнях гепарина. И напротив, тромбоциты в сыворотке пострадавших явно активировались в отсутствие добавления гепарина [24]. Аналогичные данные получены при обследовании 28 пациентов в Германии

и Австрии с осложнениями после вакцинации (с 5-го по 16-й день), давших положительный результат при скрининговом анализе на PF4–гепарин [11]. В целом тромботические побочные эффекты вакцинации напоминают проявления COVID-19, однако проявления заболевания опосредованы одноцепочечным РНК-вирусом, в то время как вакциноассоциированный иммунотромбоз был связан с ДНК-вакциной на основе аденовируса, соответственно патогенетические механизмы различались [18]. Известно, что положительно заряженные комплексы PF4–ДНК стимулируют выраженный интерфероновый ответ посредством взаимодействия с рецептором TLR9, а ДНК в принципе является мощным адьювантом, способным нарушать иммунную толерантность. Соответственно, любая ДНК-вакцина с аденовирусным вектором может вызывать развитие аутоиммунной ВИТТ у восприимчивых людей. Механизмы молекулярной мимикрии контаминантов (вакцинных белков) и аденовирусных векторных белков, по мнению исследователей, вторичны, ведущую роль играют электрохимические взаимодействия ДНК–PF4 и взаимодействия PF4–гепарин [5, 18]. Тем не менее в опубликованных результатах клинических испытаний вакцины «Спутник V» описано только 2 случая иммунотромбоза [17].

Механизмы действия ДНК- и РНК-вакцин различны. В частности, РНК-вакцины используют несколько рецепторов распознавания образцов патогенности, в том числе TLR7, тогда как ДНК-вакцины почти исключительно используют TLR9, связанный с развитием гуморального и клеточного иммунитета против спайк-белка. Согласно опубликованным данным, зарегистрированные случаи иммунотромбозов при использовании РНК-вакцин единичны [18], однако при их применении наблюдается повышенный риск других осложнений аутоиммунной природы.

В частности, к середине 2021 г. в США было зафиксировано более 1200 сообщений о случаях миокардита/перикардита, 67% из которых было выявлено на 2–3 день после получения второй дозы РНК-вакцины. Большинство пострадавших (79%) — мужчины в возрасте до 30 лет, наибольшее количество пострадавших — мужчины в возрасте 16–18 лет. Дополнительный анализ данных выявил повышенный риск развития миокардита/перикардита (12,6 случаев на миллион) среди лиц в возрасте от 12 до 39 лет при получении второй дозы мРНК-вакцины против COVID-19 (в течение 7 дней после введения вакцины), по сравнению с невакцинированными лицами или лицами, получавшими вакцины против COVID-19, не содержащие мРНК. По данным группы исследователей, распространенность миокардита составила

1/20 000 в группе от 16 до 30 лет по сравнению с 1/100 000 в общей популяции, получавшей ту же вакцину [6].

При изучении различий между векторными вакцинами и вакцинами на основе мРНК обследовали 281 вакцинированных, из которых 143 человека (50,9%) получили вакцину BNT162b2 (Pfizer/BioNTech), а 138 человек (49,1%) — вакцину ChAdOx1 nCoV-19 (AstraZeneca). Антитела против PF4 выявлены в 5,6 и 8,0% соответственно (в среднем аутоантитела обнаружены у 6,8% вакцинированных). При COVID-19 данные антитела выявляются у 6,3% пациентов отделения интенсивной терапии и у 17,2% после 10 дней интенсивной терапии [28].

Вызывает опасения информация о влиянии вакцинации на репродуктивную функцию. На небольших выборках пациентов выявлено негативное влияние вакцинации от COVID-19 на сперматогенез у мужчин, гормональный профиль и исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) у женщин, предположительно аутоиммунной природы. При изучении влияния вакцины «Спутник V» на беременных женщин, выявлено транзитное повышение средних уровней антиовариальных антител, частота выявления IgG-аутоантител к двуспиральной ДНК была выше после вакцинации [1]. В многоцентровом исследовании BNT162b2 (Pfizer/BioNTech) обнаружено селективное временное снижение концентрации сперматозоидов и общего количества подвижных клеток через 3 месяца после вакцинации. Авторы заявляют о последующем восстановлении функции [10], однако влияние многократных реиммунизаций не оценивалось.

Необходимо особо акцентировать внимание на том, что риск развития вышеперечисленных тяжелых аутоиммунных осложнений после вакцинации невелик, и, при высокой эффективности вакцины, польза всегда значительно перевешивает вред от ее применения. Безопасность разрабатываемых вакцин всегда подтверждается результатами доклинических и клинических исследований до внедрения в клиническую практику. Однако очень быстрое внедрение принципиально новых подходов к разработке вакцин против SARS-CoV-2 неизбежно сопряжено с потенциальными рисками развития осложнений аутоиммунной природы в отдаленной перспективе, особенно при регулярной ревакцинации.

Следует учитывать, что многие аутоиммунные заболевания проявляются только спустя годы после начала образования аутоантител. Соответственно, существует вероятность того, что заболеваемость как в результате заражения SARS-CoV-2, так и после активной ревакцина-

ции может значительно возрасти в ближайшее десятилетие. Развитие аутоиммунной патологии при COVID-19 у детей (болезнь Kawasaki, диабет 1 типа, аутоиммунная гемолитическая анемия), основанное на реализации механизмов молекулярной мимикрии, может быть спровоцировано и регулярной вакцинацией при наличии индивидуальной предрасположенности и перекрестно-реагирующих эпитопов в составе вакцины или факторов, выработку которых стимулирует вакцинация [8]. Обсуждается вопрос возможности участия перекрестно-реагирующих антител к SARS-CoV-2 в развитии нежелательных неврологических симптомов у вакцинированных людей [14]. По некоторым данным, иммунизация антигенами SARS-CoV может вызвать пневмонию [12], выявленная гомология 13 из 24 изученных пентапептидов спайк-белка с белками легочного сурфактанта свидетельствует о риске развития перекрестных реакций и при вакцинации [30]. Установлено, что болезнь Грейвса (аутоиммунный тиреозит) может развиваться как после перенесенной коронавирусной инфекции, так и после вакцинации [20]. Описаны случаи развития синдрома Гийена–Барре после вакцинации. Подобное осложнение встречается редко, однако в мире зарегистрировано уже более 250 случаев [27]. Поскольку SARS-CoV-2 имеет гомологичные последовательности высокоиммуногенных эпитопов с 19 белками-супрессорами злокачественных опухолей, вакцинация может приводить к выраженному снижению их эффективности. Наличие 24 гомологичных пентапептидов с *B. pertussis*, *C. diphtheriae*, *C. tetani*, *H. influenzae* и *N. meningitidis* создает риск развития неэффективного иммунного ответа при вакцинации на фоне повышенного риска аутоиммунных осложнений [13]. В целом очень сложно дать однозначный ответ на вопрос, может ли именно перекрестная реактивность между антигенами COVID-19 и тканей человека привести к развитию аутоиммунного заболевания в результате вакцинации, поскольку развитие большинства аутоиммунных заболеваний занимает от 3 до 18 лет [30].

Отдельным, до сих пор малоизученным вопросом является реакция организма на многократную ревакцинацию после перенесенного COVID-19. Установлено, что после вакцинации РНК-вакцинами у ранее переболевших формируется гибридный иммунитет с увеличенной шириной и нейтрализующей способностью спектра циркулирующих антител, продуцируется больше специфичных для SARS-CoV-2 RBD В-клеток памяти (CD21⁺CD27⁺ и CD21⁻CD27^{+/-}) и специфичных антител (IgG и IgA), а также формируется отдельная популяция экспрессирующих IFN γ и IL-10 специфичных для спайк-белка CD4⁺ Т-клеток памяти. При этом

ландшафт иммунной памяти у переболевших отличается от иммунной памяти людей, ранее не инфицированных SARS-CoV-2. Авторы исследования предполагают, что праймирующая среда, вызванная инфекцией SARS-CoV-2, формирует иммунную память с множеством факторов усиленного противовирусного иммунитета 1 типа, способствующих усилению защиты, но не полностью восстанавливающихся при повторной вакцинации. Продемонстрировано, что более длительные интервалы между вакцинациями приводят к большему количеству нейтрализующих антител и большему количеству В-клеток, специфичных для SARS-CoV-2. Снижение выраженности иммунного ответа на третью вакцинацию предполагает, что дальнейшие гомологичные вакцины вряд ли будут укреплять клеточную иммунную память к SARS-CoV-2. Соответственно, по мере возникновения новых вариантов вируса, направленных на дальнейшее отклонение от иммунной памяти, будущие стратегии вакцинации, по мнению авторов, должны быть сосредоточены на расширении пула клеток памяти, специфичных для SARS-CoV-2, и увеличении титров антител, нейтрализующих варианты вируса [22]. Однако идея задействовать более широкий репертуар иммунных клеток и перекрестных реакций напрямую сопряжена с повышением риска возникновения осложнений.

Безусловно, вышеперечисленные риски не отменяют необходимости разработки и применения эффективных и безопасных вакцин. Однако необходимо с большой осторожностью подходить к разработке новых и углубленному тестированию ныне существующих вакцин, учитывая все возможные риски. Степень молекулярной мимикрии между SARS-CoV-2 и протеомом человека должна быть тщательно проанализирована в качестве обязательного шага перед разработкой состава вакцины или решения о ее применении [9]. Поскольку возникавшие ранее иммунные ответы на другие патогены могут усиливать иммунный ответ на SARS-CoV-2, необходимо учитывать историю инфекций/вакцинаций конкретного человека [12]. Результаты мониторинга аутореактивных антител и изучения аутоиммунных реакций у больных COVID-19 должны учитываться при разработке и испытании вакцин. Испытания разрабатываемых вакцин обязательно должны включать исследования риска индукции аутореактивных тканеспецифичных антител и связанных с ними клинических признаков [9, 14]. Все выявленные случаи молекулярной мимикрии с наиболее важными регуляторными белками и пептидами необходимо учитывать при разработке вакцин для гарантии их безопасности, все последовательности мРНК, кодирующие пептиды, гомологичные

человеческим, должны быть удалены из структуры вакцин [8, 30, 31]. Только пептидные последовательности, однозначно принадлежащие вирусу, могут служить основой для безопасных и специфических протоколов вакцинации [9]. Необходимо очень тщательно изучить, увеличивается ли количество перекрестно-реагирующих антител после активной реиммунизации. Очень важно выявление наличия высокоаффинных, высокоавидных аутоиммунных перекрестных реакций при разработке вакцин против SARS-CoV-2 [12]. Особенности структуры SARS-CoV-2 и обнаруженные множественные перекрестные реакции с белками и тканями человека обосновывают необходимость очень тщательно исследовать все разработанные и разрабатываемые вакцины, а также стратегии их применения для обеспечения безопасности максимальному количеству вакцинируемых.

Выводы

1. Множественные случаи молекулярной мимикрии между антигенами SARS-CoV-2 и тканей человека опосредуют тяжелое течение COVID-19.

2. Наличие большого количества гомологичных человеческим последовательностей у антигенов SARS-CoV-2 повышает риск развития аутоиммунной патологии и тяжелого постковидного синдрома, что обосновывает необходимость разработки новых терапевтических подходов к лечению и реабилитации переболевших.

3. Необходимо тщательно проверять разрабатываемые вакцины на отсутствие перекрестных реакций с антигенами человека в целях минимизации риска развития тяжелых поствакцинальных осложнений непосредственно после вакцинации и в отдаленной перспективе.

Список литературы/References

1. Довгань А.А., Драпкина Ю.С., Долгушина Н.В., Менжинская И.В., Инвиева Е.В., Вторушина В.В., Кречетова Л.В., Сухих Г.Т. Влияние вакцинации от COVID-19 на иммунный статус и профиль аутоантител у женщин репродуктивного возраста // Медицинская иммунология. 2022. Т. 24, № 5. С. 979–992. [Dovgan A.A., Drapkina Yu.S., Dolgushina N.V., Menzhinskaya I.V., Inviyeva E.V., Vtorushina V.V., Krechetova L.V., Sukhikh G.T. Effect of COVID-19 vaccination on the immune status and autoantibody profile in women of reproductive age. *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2022, vol. 24, no. 5, pp. 979–992. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-EOC-2515
2. Кудрявцев И.В., Головкин А.С., Тотолян Арег А. Т-хелперы и их клетки-мишени при COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 3. С. 409–426. [Kudryavtsev I.V., Golovkin A.S., Totolian Areg A. T helper cell subsets and related target cells in acute COVID-19. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 3, pp. 409–442. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-THC-1882
3. Москалец О.В. Роль инфекции в развитии аутоиммунных заболеваний // Казанский медицинский журнал. 2017. Т. 98, № 4. С. 586–591. [Moskalets O.V. Role of infections in autoimmune disease development. *Kazanskii meditsinskii zhurnal = Kazan Medical Journal*, 2017, vol. 98, no. 4, pp. 586–591. (In Russ.)] doi: 10.17750/KMJ2017-586
4. Петриков С.С., Боровкова Н.В., Попугаев К.А., Сторожева М.В., Квасников А.М., Годков М.А. Аутоантитела к интерферону альфа и их значение при COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 2. С. 279–287. [Petrikov S.S., Borovkova N.V., Popugaev K.A., Storozheva M.V., Kvasnikov A.M., Godkov M.A. Anti-interferon alpha autoantibodies and their significance in COVID-19. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 2, pp. 279–287. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-AAA-1789
5. Alam W. COVID-19 vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia: a review of the potential mechanisms and proposed management. *Sci. Prog.*, 2021, vol. 104, no. 2, pp. 1–13. doi: 10.1177/00368504211025927
6. Bozkurt B., Kamat I., Hotez P.J. Myocarditis with COVID-19 mRNA vaccines. *Circulation*, 2021, vol. 144, no. 6, pp. 471–484. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.121.056135
7. Chen Y., Xu Z., Wang P., Li X.M., Shuai Z.W., Ye D.Q., Pan H.F. New-onset autoimmune phenomena post-COVID-19 vaccination. *Immunology*, 2022, vol. 165, no. 4, pp. 386–401. doi: 10.1111/imm.13443
8. Dotan A., Muller S., Kanduc D., David P., Halpert G., Shoenfeld Y. The SARS-CoV-2 as an instrumental trigger of autoimmunity. *Autoimmun. Rev.*, 2021, vol. 20, no. 4: 102792. doi: 10.1016/j.autrev.2021.102792
9. Ehrenfeld M., Tincani A., Andreoli L., Cattalini M., Greenbaum A., Kanduc D., Alijotas-Reig J., Zinserling V., Semenova N., Amital H., Shoenfeld Y. Covid-19 and autoimmunity. *Autoimmun. Rev.*, 2020, vol. 19, no. 8: 102597. doi: 10.1016/j.autrev.2020.102597
10. Gat I., Kedem A., Dviri M., Umanski A., Levi M., Hourvitz A., Baum M. Covid-19 vaccination BNT162b2 temporarily impairs semen concentration and total motile count among semen donors. *Andrology*, 2022, vol. 10, no. 6, pp. 1016–1022. doi: 10.1111/andr.13209
11. Greinacher A., Thiele T., Warkentin T.E., Weisser K., Kyrle P.A., Eichinger S. Thrombotic thrombocytopenia after ChAdOx1 nCov-19 vaccination. *N. Engl. J. Med.*, 2021, vol. 384, no. 22, pp. 2092–2101. doi: 10.1056/NEJMoa2104840
12. Kanduc D. From anti-SARS-CoV-2 immune response to the cytokine storm via molecular mimicry. *Antibodies*, 2021, vol. 10, no. 36, pp. 1–13. doi: 10.3390/antib10040036
13. Kanduc D. From anti-Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 immune response to cancer onset via molecular mimicry and cross-reactivity. *Glob. Med. Genet.*, 2021, no. 8, pp. 176–182. [doi:10.1055/s-0041-1735590
14. Kreye J., Reincke S.M., Prüss H. Do cross-reactive antibodies cause neuropathology in COVID-19? *Nat. Rev. Immunol.*, 2020, vol. 20, no. 11, pp. 645–646. doi: 10.1038/s41577-020-00458-y
15. Lee E., Oh J.E. Humoral immunity against SARS-CoV-2 and the impact on COVID-19 pathogenesis. *Mol. Cells*, 2021, vol. 44, no. 6, pp. 392–400. doi: 10.14348/molcells.2021.0075

16. Liu Y., Sawalha A.H., Lu Q. COVID-19 and autoimmune diseases. *Curr. Opin. Rheumatol.*, 2021, no. 33, pp. 155–162. doi: 10.1097/BOR.0000000000000776
17. Logunov D.Y., Dolzhenkova I.V., Shcheblyakov D.V., Tukhvatulin A.I., Zubkova O.V., Dzharullaeva A.S., Kovyrschina A.V., Lubenets N.L., Grousova D.M., Erokhova A.S., Botikov A.G., Izhaeva F.M., Popova O., Ozharovskaya T.A., Esmagambetov I.B., Favorskaya I.A., Zrelkin D.I., Voronina D.V., Shcherbinin D.N., Semikhin A.S., Simakova Y.V., Tokarskaya E.A., Egorova D.A., Shmarov M.M., Nikitenko N.A., Gushchin V.A., Smolyarchuk E.A., Zyryanov S.K., Borisevich S.V., Naroditsky B.S., Gintsburg A.L., Gam-COVID-Vac Vaccine Trial Group. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *Lancet*, 2021, vol. 397, no. 10275, pp. 671–681. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00234-8
18. McGonagle D., De Marco G., Bridgewood C. Mechanisms of immunothrombosis in vaccine-induced thrombotic thrombocytopenia (VITT) compared to natural SARS-CoV-2 infection. *J. Autoimmun.*, 2021, vol. 121, no. 102662, pp. 1–7. doi: 10.1016/j.jaut.2021.102662
19. Moody R., Wilson K., Flanagan K.L., Jaworowski A., Plebanski M. Adaptive immunity and the risk of autoreactivity in COVID-19. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22, no. 8965, pp. 1–13. doi: 10.3390/ijms22168965
20. Pujol A., Gómez .L.A., Gallegos C., Nicolau J., Sanchís P., González-Freire M., López-González Á.A., Dotres K., Masmiquel L. Thyroid as a target of adjuvant autoimmunity/inflammatory syndrome due to mRNA-based SARS-CoV-2 vaccination: from Graves' disease to silent thyroiditis. *J. Endocrinol. Invest.*, 2022, vol. 45, no. 4, pp. 875–882. doi: 10.1007/s40618-021-01707-0
21. Ramasamy R., Mohammed F., Meier U.C. HLA DR2b-binding peptides from human endogenous retrovirus envelope, Epstein–Barr virus and brain proteins in the context of molecular mimicry in multiple sclerosis. *Immunol. Lett.*, 2020, no. 217, pp. 15–24. doi: 10.1016/j.imlet.2019.10.017
22. Rodda L.B., Morawski P.A., Fahning M.L., Howard C.A., Franko N., Logue J., Eggenberger J., Stokes C., Golez I., Hale M., Gale M., Chu H.Y., Campbell D.J., Pepper M. Imprinted SARS-CoV-2-specific memory lymphocytes define hybrid immunity. *Cell*, 2022, no. 185, pp. 1–14. doi: 10.1016/j.cell.2022.03.018
23. Roghani A. The influence of COVID-19 vaccination on daily cases, hospitalization, and death rate in Tennessee, United States: case study. *JMIRx Med.*, 2021, vol. 2, no. 3: e29324. doi: 10.2196/29324
24. Schultz N.H., Sørvoll I.H., Michelsen A.E., Munthe L.A., Lund-Johansen F., Ahlen M.T., Wiedmann M., Aamodt A.H., Skattør T.H., Tjønnfjord G.E., Holme P.A. Thrombosis and thrombocytopenia after ChAdOx1 nCoV-19 vaccination. *N. Engl. J. Med.*, 2021, vol. 384, no. 22, pp. 2124–2130. doi: 10.1056/NEJMoa2104882
25. Scully M., Singh D., Lown R., Poles A., Solomon T., Levi M., Goldblatt D., Kotoucek P., Thomas W., Lester W. Pathologic antibodies to platelet factor 4 after ChAdOx1 nCoV-19 vaccination. *N. Engl. J. Med.*, 2021, vol. 384, no. 23, pp. 2202–2211. doi: 10.1056/NEJMoa2105385
26. Shrock E., Fujimura E., Kula T., Timms R.T., Lee I.H., Leng Y., Robinson M.L., Sie B.M., Li M.Z., Chen Y., Logue J., Zuiani A., McCulloch D., Lelis F.J.N., Henson S., Monaco D.R., Travers M., Habibi S., Clarke W.A., Caturegli P., Laeyendecker O., Piechocka-Trocha A., Li J.Z., Khatri A., Chu H.Y.; MGH COVID-19 Collection & Processing Team; Villani A.C., Kays K., Goldberg M.B., Hacohen N., Filbin M.R., Yu X.G., Walker B.D., Wesemann D.R., Larman H.B., Lederer J.A., Elledge S.J. Viral epitope profiling of COVID-19 patients reveals cross-reactivity and correlates of severity. *Science*, 2020, vol. 370, no. 6520: eabd4250. doi: 10.1126/science.abd4250
27. Thant H.L., Morgan R., Paese M.M., Persaud T., Diaz J., Hurtado L. Guillain-Barré syndrome after Ad26.COV2.S vaccination. *Am. J. Case. Rep.*, 2022, no. 23: e935275. doi: 10.12659/AJCR.935275
28. Thiele T., Ulm L., Holtfreter S., Schönborn L., Kuhn S.O., Scheer C., Warkentin T.E., Bröker B.M., Becker K., Aurich K., Selleng K., Hübner N.O., Greinacher A. Frequency of positive anti-PF4/polyanion antibody tests after COVID-19 vaccination with ChAdOx1 nCoV-19 and BNT162b2. *Blood*, 2021, vol. 138, no. 4, pp. 299–303. doi: 10.1182/blood.2021012217
29. Velikova T., Georgiev T. SARS-CoV-2 vaccines and autoimmune diseases amidst the COVID-19 crisis. *Rheumatol. Int.*, 2021, vol. 41, no. 3, pp. 509–518. doi: 10.1007/s00296-021-04792-9
30. Vojdani A., Vojdani E., Kharrazian D. Reaction of human monoclonal antibodies to SARS-CoV-2 proteins with tissue antigens: implications for autoimmune diseases. *Front. Immunol.*, 2021, vol. 11, no. 617089, pp. 1–16. doi: 10.3389/fimmu.2020.617089
31. Vojdani A., Kharrazian D. Potential antigenic cross-reactivity between SARS-CoV-2 and human tissue with a possible link to an increase in autoimmune diseases. *Clin. Immunol.*, 2020, vol. 217, no. 108480, pp. 1–2. doi: 10.1016/j.clim.2020.108480
32. Yazdanpanah N., Rezaei N. Autoimmune complications of COVID-19. *J. Med. Virol.*, 2022, vol. 94, no. 1, pp. 54–62. doi: 10.1002/jmv.27292
33. Yong S.J. Long COVID or post-COVID-19 syndrome: putative pathophysiology, risk factors, and treatments. *Infect. Dis. (Lond.)*, 2021, vol. 53, no. 10, pp. 737–754. doi: 10.1080/23744235.2021.1924397

Автор:

Зорина В.Н., д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории прикладной токсикологии и фармакологии отдела токсикологии ФГБУ Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия.

Author:

Zorina V.N., DSc (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Applied Toxicology and Pharmacology, Toxicology Department, Golikov Research Clinical Center of Toxicology, Federal Medical Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 27.04.2023
Принята к печати 28.08.2023

Received 27.04.2023
Accepted 28.08.2023

РЕАКЦИЯ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ ПСЕВДОВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ ВИРУСНЕЙТРАЛИЗУЮЩИМИ АНТИТЕЛАМИ КАК БИОАНАЛИТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВАКЦИНЫ САЛНАВАК®

Е.В. Зуев¹, О.А. Маркова¹, С.В. Кулемзин², Д.А. Потеряев¹, Н.А. Литвинова¹,
И.А. Короткевич¹, Т.В. Григорьева¹, Р.А. Хамитов¹

¹АО «ГЕНЕРИУМ», пгт. Вольгинский, Петушинский район, Владимирская область, Россия

²ООО «ИМГЕН+», г. Новосибирск, Россия

Резюме. *Введение.* Пандемия коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2, явилась серьезным испытанием для всех областей медицинской науки, вызвав всплеск новых разработок в различных сферах, начиная от диагностических методик, заканчивая терапевтическими и профилактическими подходами. Интраназальная вакцинация является инновационным подходом к иммунизации против SARS-CoV-2, к которому приковано внимание многих разработчиков препаратов. Одним из объективных параметров оценки иммунологической эффективности является изучение динамики накопления вируснейтрализующих антител (ВНА) в крови переболевших COVID-19 или получивших вакцинопрофилактику здоровых добровольцев, и требуют соблюдения высоких стандартов выполнения биоаналитической методики в рамках проведения клинических исследований. Представлены результаты промежуточного анализа данных иммуногенности, полученных в рамках рандомизированного двойного слепого многоцентрового клинического исследования 3 фазы двухкомпонентных препаратов Салнавак® (интраназально) и Гам-КОВИД-Вак® (внутримышечно). Целью исследования была оценка иммуногенности и безопасности интраназальной и внутримышечной форм комбинированной векторной вакцины против COVID-19 с помощью реакции нейтрализации с применением псевдовиральных частиц и культуры клеток НЕК293Т-hACE2. *Материалы и методы.* Всего 137 здоровых добровольцев с исходным уровнем анти-RBD IgG не выше 100 ВАУ/мл были иммунизированы двухкомпонентной (на основе Ad26 и Ad5) вакциной с интраназальным или внутримышечным способом введения в день 1 и день 21. Оценка иммуногенности проводилась на основании данных количественного определения ВНА с использованием реакции нейтрализации с применением псевдовиральных частиц и культуры клеток НЕК293Т-hACE2 и IgG-антител к рецептор-связывающему домену S-белка (анти-RBD) SARS-CoV-2 на 21 и 42 дни после введения компонента I. *Результаты.* Средний геометрический титр ВНА к SARS-CoV-2 в день 42 составил $238,34 \pm 3,93$ и $616,94 \pm 3,73$ в группах Салнавак® и Гам-КОВИД-Вак® соответственно. Учитывая данные о высоком уровне протективности при титре ВНА более 100 при применении метода псевдовиральной нейтрализации, полученные результаты свидетельствуют о достаточной иммунологической эффективности как внутримышечной, так и интраназальной вакцины. Среднее геометрическое значение уровня анти-RBD IgG в день 42 составило $131,22 \pm 3,91$ и $782,03 \pm 3,04$ в группах

Адрес для переписки:

Зуев Евгений Васильевич
123112, Россия, Москва, ул. Тестовская, 10, АО «ГЕНЕРИУМ».
Тел.: 8 916 641-96-98.
E-mail: evzuev@generium.ru

Contacts:

Evgeniy V. Zuev
123112, Russian Federation, Moscow, Testovskaya str., 10,
JSC "GENERIUM".
Phone: +7 916 641-96-98.
E-mail: evzuev@generium.ru

Для цитирования:

Зуев Е.В., Маркова О.А., Кулемзин С.В., Потеряев Д.А., Литвинова Н.А., Короткевич И.А., Григорьева Т.В., Хамитов Р.А. Реакция нейтрализации псевдовиральных частиц вируснейтрализующими антителами как биоаналитическая часть клинического исследования вакцины Салнавак® // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 853–863. doi: 10.15789/2220-7619-VNA-8054

Citation:

Zuev E.V., Markova O.A., Kulemzin S.V., Poteryaev D.A., Litvinova N.A., Korotkevich I.A., Grigoryeva T.V., Khamitov R.A. Virus neutralizing antibodies in pseudovirus particle neutralization reaction as a bioanalytical part of a Salnavac® vaccine clinical trial // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 853–863. doi: 10.15789/2220-7619-VNA-8054

Салнавак® и Гам-КОВИД-Вак® соответственно. Показана прямая умеренная корреляция ВНА и анти-RBD IgG. **Выводы.** При проведении исследования для определения титра ВНА была успешно валидирована и использована реакция нейтрализации с применением псевдовиральных частиц. По итогам проведения промежуточного анализа данных была показана меньшая, чем у внутримышечного препарата, но достаточно высокая напряженность гуморального иммунитета после применения интраназальной вакцины Салнавак®.

Ключевые слова: COVID-19, иммунизация, вакцина, коронавирусная инфекция, иммуногенность, SARS-CoV-2.

VIRUS NEUTRALIZING ANTIBODIES IN PSEUDOVIRUS PARTICLE NEUTRALIZATION REACTION AS A BIOANALYTICAL PART OF A SALNAVAC® VACCINE CLINICAL TRIAL

Zuev E.V.^a, Markova O.A.^a, Kulemzin S.V.^b, Poteryaev D.A.^a, Litvinova N.A.^a, Korotkevich I.A.^a, Grigoryeva T.V.^a, Khamitov R.A.^a

^a JSC "GENERIUM", Volginsky, Petushinsky District, Vladimir Region, Russian Federation

^b LLC "IMGEN+", Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. Introduction. The SARS-CoV-2 coronavirus pandemic has been a major challenge for all areas of medical science, causing a surge of new developments in various fields ranging from diagnostic techniques to therapeutic and preventive approaches. Intranasal vaccination is an innovative approach to immunization against SARS-CoV-2, which has attracted the attention of many drug developers. Dynamics of blood virus-neutralizing antibodies (VNAs) in recovered COVID-19 patients or vaccinated healthy volunteers is one of the objective parameters for assessing vaccine immunological efficacy, which requires high standards of bioanalytical techniques within the framework of clinical trials. Immunogenicity data on the two-component Salnavac® (intranasal) and Gam-COVID-Vac® (intramuscular) vaccination obtained in randomized double-blind multicenter phase 3 clinical trial interim analysis are presented. The objective of the study was to assess immunogenicity of intranasal and intramuscular vaccination against COVID-19 using a neutralization reaction with pseudoviral particles and HEK293T-hACE2 cell culture. **Materials and methods.** A total of 137 healthy volunteers with a baseline anti-RBD IgG level not exceeding 100 BAU/ml received immunization by a two-component (Ad26 and Ad5 based) intranasal or intramuscular vaccine administered on day 1 and day 21. Immunogenicity level based on VNA quantitative analysis using a neutralization reaction with pseudoviral particles and a HEK293T-hACE2 cell culture as well as to SARS-CoV-2 S-protein receptor-binding domain (anti-RBD) IgG antibodies on days 21 and 42 after administration of component I was assessed. **Results.** The geometric mean VNA titer against SARS-CoV-2 on day 42 was 238.34 ± 3.93 and 616.94 ± 3.73 in the Salnavac® and Gam-COVID-Vac® groups, respectively. Trial data shows sufficient immunological efficacy of both intramuscular and intranasal vaccines based on a high protection level at VNA titer of more than 100 while using the pseudoviral neutralization method. The geometric mean of the anti-RBD IgG level by day 42 was 131.22 ± 3.91 and 782.03 ± 3.04 in the Salnavac® and Gam-COVID-Vac® groups, respectively. A direct moderate correlation was shown between VNA and anti-RBD IgG. **Conclusion.** Neutralization reaction using pseudoviral particles was successfully validated and used to determine the VNA titer during clinical trial. Trial interim data revealed that intranasal vaccine Salnavac® vs intramuscular vaccine Gam-COVID-Vac® resulted in lower but sufficient stringency of humoral immunity.

Key words: COVID-19, immunization, vaccine, coronavirus infection, immunogenicity, SARS-CoV-2.

Введение

За последние два десятилетия в мире было зафиксировано несколько крупных вспышек инфекционных заболеваний, обусловленных представителями семейства *Coronaviridae*, а именно коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV) и коронавирусом ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV) [14, 18]. Однако одним из главных событий последних нескольких лет стала объявленная ВОЗ в марте 2020 г. пандемия новой коронавирусной инфекции, вызванная еще одним вариантом коронавируса — SARS-CoV-2 [19]. Впервые появившаяся в китайском городе Ухань в декабре 2019 г. [17], эта инфекция вследствие высокой контагиозности и воздушно-капельного пути передачи быстро распространилась по всему земному шару.

ВОЗ координирует группу экспертов по разработке вакцины против COVID-19. Так, на сегодняшний день в разработке находится 366 вакцин, из них 169 препаратов проходят клинические испытания и 198 — доклиническую разработку [20].

Разработка мукозальных вакцин является многообещающим направлением профилактики SARS-CoV-2. Слизистые оболочки дыхательных путей являются входными воротами возбудителя COVID-19, поэтому индукция иммунитета слизистых оболочек представляется целесообразной. В то же время использование мукозальных вакцин приводит в числе прочего к индукции системного иммунного ответа [2, 4]. Кроме того, использование интраназальных форм препаратов менее травматично и требует меньшего участия медицинского персонала.

Компанией АО «ГЕНЕРИУМ» разработана новая форма выпуска на основе ранее одобренной вакцины Гам-КОВИД-Вак® с интраназальным путем введения, который в настоящее время проходит сравнительное клиническое исследование VCI-COV-III.

Наличие в крови вируснейтрализующих антител против SARS-CoV-2 является важным показателем защитного иммунитета, сформированного вакциной. Поэтому для доклинических (ДоКИ) и клинических исследований (КИ) вакцин необходимы методы надежного, чувствительного и быстрого обнаружения ВНА против SARS-CoV-2. Классический метод определения титра ВНА, основанный на снижении количества вирусных бляшек в монослое культуры клеток (plaque reduction neutralization test, PRNT), требует работы с инфекционным, высокопатогенным живым аутентичным вирусом SARS-CoV-2 в условиях изолированной лаборатории с уровнем защиты 3–4 (в отечественной системе санитарного законодательства 1–2 группа патогенности) [1]. Таких лабораторий в РФ крайне мало, риск работы с образцами для оператора высокий, тесты трудоемкие, высокочувствительные и не могут быть использованы в качестве биоаналитического этапа рутинного контроля образцов ДоКИ и КИ. Модификацией этого метода является реакция микронейтрализации, где подсчитываются уже не бляшки, а отдельные инфицированные клетки, выявляемые иммуноцитохимическим способом (microneutralization assay, MNA). Однако эти подходы также отнимают много времени и требуют работы в лабораториях с высоким уровнем биобезопасности. Разумной альтернативой аутентичному вирусу является использование псевдовиральных частиц со сниженной патогенностью, которые представляют собой неспособные к репликации частицы, содержащие структурное и ферментативное ядро одного вируса, такого как вирус везикулярного стоматита (VSV) или лентивирус (ВИЧ), и поверхностные белки другого вируса, такого как S-белок вируса SARS-CoV-2. Для определения инфекции псевдовиральные кодируют репортерный белок, такой как люцифераза светлячка (Fluc) или зеленый флуоресцентный белок (GFP) [5]. Из этого следует, что такой метод можно проводить в обычных лабораториях невысокого класса защиты, имеющих лицензию на работе с 3–4 группами патогенности или без нее. Следует отметить, что несмотря на привлекательность метода на основе псевдотипированных вирусов, необходима разносторонняя валидация, поскольку на результат реакции на вируснейтрализацию могут влиять многие параметры, такие как: оптимальная концентрация вирусных частиц (выражаемая в единицах трансдукции, ТЕ) в применяемых для трансдукции клеток ра-

бочих растворах, доля «пустых» и «упакованных» лентивирусных частиц, наличие технологических загрязнений, происхождение клеток для инфекции, время совместной инкубации вируса и сыворотки, состав питательной среды/добавок и другие параметры, вносящие вклад в гетерогенность результатов и общую неопределенность методики [13]. В рамках настоящей работы проведена валидация разработанного ранее метода определения ВНА вируса для целей высокопроизводительного анализа образцов сыворотки вакцинированных добровольцев клинического исследования VCI-COV-III.

Материалы и методы

Данные клинического исследования

Дизайн клинического исследования. Клиническое исследование, в ходе которого проводился отбор биообразцов для анализа, являлось рандомизированным двойным слепым многоцентровым исследованием 3 фазы, проводимым с целью оценки иммуногенности интраназальной и внутримышечной форм комбинированной векторной вакцины против COVID-19, индуцированного SARS-CoV-2, в дизайне «double-dummy» для «заслепления» способа введения препарата. В целях обеспечения возможности коррекции общего размера выборки в ходе исследования по данным на 42 день после вакцинации был выбран групповой последовательный дизайн исследования (group sequential design). Протокол исследования одобрен Минздравом России (МЗ России) (№ 869 от 20.12.2021) и независимыми локальными этическими комитетами клинических центров. Исследование проводится в соответствии с требованиями Надлежащей Клинической Практики и Хельсинкской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации пересмотра 2013 г. Исследование состоит из следующих периодов: скрининг до 7 дней, иммунизация компонентом I (день 1) и компонентом II (день 21) исследуемых продуктов (ИП), период наблюдения I (до 42 дней) и период наблюдения II (до 365 дней). На сегодняшний день доступны результаты промежуточного анализа данных на 42 день наблюдения. Исследование продолжается.

Критерии отбора добровольцев. Включение добровольцев проводится в 16 клинических центрах на базе медицинских учреждений Российской Федерации.

Критерии включения: возраст 18–60 лет; индекс массы тела (ИМТ) $18,5 \leq \text{ИМТ} \leq 29,9$ кг/м²; отсутствие существенных отклонений при лабораторных, инструментальных и физических исследованиях; уровень исходных анти-RBD IgG антител к SARS-CoV-2 не выше 100 ВАУ/мл; согласие на использование эф-

фективных методов контрацепции; отсутствие острого инфекционного или неинфекционного заболевания и отсутствие обострения хронического заболевания за 14 дней до иммунизации; отрицательный анализ мочи на запрещенные препараты; отрицательный тест на алкоголь в выдыхаемом воздухе и отсутствие каких-либо злокачественных новообразований.

Критерии исключения: любая вакцинация в течение 30 дней до включения с ограничением вакцинации против SARS-CoV-2 в течение 6 месяцев до включения в исследование; COVID-19 в анамнезе в течение 6 месяцев до включения; положительный тест на SARS-CoV-2 на скрининге; положительный IgM к SARS-CoV-2 или SARS-CoV-2 анти-RBD IgG более 100 BAU/мл; контакт с больными COVID-19 в течение предшествующих включению 14 дней; стероидные препараты (кроме контрацептивов), иммуноглобулины и/или другие компоненты крови за 30 дней до рандомизации; затруднение носового дыхания; злоупотребление наркотическими препаратами; регулярное применение антиконгестантов; использование иммунодепрессантов, завершившееся менее чем за 3 месяца до рандомизации; положительный тест на беременность; положительный результат диагностики ВИЧ, гепатит В или С; наличие в анамнезе аллергических заболеваний любого генеза; систолическое артериальное давление < 100 или > 130 мм рт. ст. или диастолическое артериальное давление < 60 или > 90 мм рт. ст.; частота сердечных сокращений < 60 или > 100 ударов в минуту; наличие в анамнезе аутоиммунных заболеваний у добровольцев и у их родственников 1–2 степени родства; употребление алкоголя выше уровня низкого риска; госпитализация и/или хирургическое вмешательство во время исследования и до 4 недель до введения исследуемых препаратов; сопутствующие заболевания, влияющие на результаты исследования. Все добровольцы предоставили подписанное информированное согласие перед включением в исследование.

Исследуемые препараты. Салнавак® представляет собой формат интраназального введения ранее одобренной к применению вакцины Гам-КОВИД-Вак® и состоит из двух компонентов рекомбинантных вирусных частиц на основе аденовирусов человека серотипа 26 (компонент I) и 5 (компонент II), несущих ген S-белка вируса SARS-CoV-2. Полная доза обеих вакцин составляет 10^{11} вирусных частиц на дозу для каждого рекомбинантного аденовируса или 0,5 мл на дозу для внутримышечной/интраназальной инъекции. Плацебо состоит из буферной композиции, равной объему вакцины. Исследуемые препараты и плацебо вводили внутримышечно или интраназально в соответствии со схемой рандомизации.

Рандомизация и маскировка. После подтверждения критериев отбора все добровольцы были распределены с использованием системы IWRS методом блоковой рандомизации (блоки переменного размера 4 или 6) в соотношении 1:1 в две группы: группа 1 получала Салнавак® путем интраназального введения и плацебо путем внутримышечной инъекции; группа 2 получала Гам-Ковид-Вак® внутримышечно и плацебо интраназально. Препараты и плацебо внешне неотличимы по упаковке, этикетке и содержанию. Групповое распределение добровольцев было замаскировано для исследователей, добровольцев и всего исследовательского персонала (двойной слепой формат). В соответствии с протоколом исследования снятие маскировки данных проведено с целью подготовки промежуточного отчета в минимальном объеме, достаточном и необходимом для проведения анализа данных.

Процедуры. Помимо прочих стандартных методов обследования, предусмотренных протоколом, для всех участников был произведен отбор биообразцов для оценки титра ВНА к SARS-CoV-2 и анти-RBD IgG в день 1 (до введения компонента I), день 21 (до введения компонента II) и день 42 с целью анализа гуморального иммунитета. Клинико-лабораторные данные были собраны с использованием электронной платформы EDC.

Переменные интереса исследования. Первичной переменной интереса является иммунологическая эффективность вакцины Салнавак® относительно вакцины Гам-КОВИД-Вак®, выраженная в соотношении средних геометрических титров ВНА против SARS-CoV-2 на 42-й день. Титр RBD-специфичного IgG против SARS-CoV-2 на 42-й день является одной из вторичных переменных.

Данные лабораторного исследования

Методика определения ВНА против SARS-CoV-2 была разработана и описана компанией ООО «ИМГЕН+» [7].

Получение и очистка лентивирусных частиц, псевдотипированных S-белком SARS-CoV-2 (штамм Wuhan-Hu-1). Псевдовirusы получали путем котрансфекции клеток HEK293T плазмидами PLV-Fluc, psPAX2 и pCAGGS- Δ I9, кодирующими соответственно векторную кассету, белки Gag, Pol и Rev вируса HIV-1 и S-белок вируса SARS-CoV-2 штамма Wuhan-Hu-1 без 19 C-терминальных аминокислотных остатков [7]. За день до трансфекции клетки HEK293T высевали с плотностью 200 000 клеток/мл в чашки для культивирования площадью 150 мм² и культивировали в инкубаторе с CO₂. Через 24 ч клетки трансфицировали плазмидами PLV-Fluc, psPAX2 и pCAGGS- Δ I9 кальций-фосфатным методом. На одну трансфекцию использовали

70 мкг смеси плазмид (при соотношении PLV-Fluc : psPAX2 : pCAGGS- Δ I19 = 3 : 2 : 2). Для получения осадка 372 мкл 2М CaCl₂ добавляли в стерильную коническую пробирку, содержащую 1098 мкл смеси плазмид в воде. Затем смесь плазмиды/кальций хлорид добавляли по каплям к равному объему фосфатно-солевого буфера HEPES (50 мМ HEPES, 1,5 мМ Na₂HPO₄, 280 мМ NaCl, 10 мМ KCl, 12 мМ сахарозы), pH 7,15 при постоянном встряхивании. Сразу после перемешивания осадок кальций-фосфат/ДНК переносили в клетки и оставляли на 7–8 часов. После промывания PBS культуральную среду заменяли средой Opti-MEM (Gibco, Thermo Fisher Scientific, США), содержащей 2,5% термоинактивированной фетальной телячьей сыворотки. Через 68–72 ч после трансфекции культуральную среду, содержащую псевдовиральные частицы, собирали в конические пробирки объемом 50 мл, центрифугировали в течение 10 мин при 4500g для удаления клеток и крупного клеточного детрита и фильтровали с использованием системы вакуумной фильтрации PES 0,45 мкм. Затем полученный супернатант концентрировали с помощью модуля Vivaflow-50 100K (Sartorius, Германия) до 10-кратного уменьшения объема. Затем концентрированную среду наслаивали на 20% раствор сахарозы и центрифугировали в центрифуге Avanti J-30 (Beckman Coulter, США) при 24 000g в течение 90 мин с использованием ротора JS-24. Осадок псевдовируса ресуспендировали в среде Opti-MEM, содержащей 2,5% термоинактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, и аликвоты помещали в криопробирки. После шоковой заморозки вирусные частицы хранили в парах жидкого азота.

Частицы псевдовируса титровали на полученных ранее клетках НЕК 293Т-hACE2, стабильно экспрессирующих рецептор SARS-CoV-2 — человеческий ангиотензинпревращающий фермент 2 (ACE2) [7].

Подготовка образцов сыворотки добровольцев. Обезличенные образцы сыворотки добровольцев инактивировали на водяной бане при температуре (56±2)°C в течение 30 мин с целью истощения компонентов системы комплемента. Образцы инактивированной сыворотки использовали сразу или замораживали для последующего анализа. Образцы сыворотки с признаками гемолиза или бактериальной контаминации для анализа не использовались.

Анализ нейтрализации вируса. Клетки НЕК 293Т-hACE2 добавляли в лунки белых 96-луночных планшетов (Corning-3916 или Thermofisher 136101), по 15 000 клеток в 100 мкл среды на лунку.

Далее в лунки 96-луночного планшета с U-образным дном вносили двукратные разведения образцов сыворотки в среде Opti-MEM,

начиная с разведения 1:10 и до 1:1280 в объеме 80 мкл. Для конкретных анализов использовались другие коэффициенты разбавления, как указано в тексте. Суспензию вирусных частиц в среде Opti-MEM 2,5% FBS добавляли во все лунки (10 000 ТЕ на лунку в 80 мкл среды), кроме лунок, служивших отрицательным контролем. После этого содержимое лунок перемешивали многоканальной пипеткой, затем планшет закрывали и инкубировали 30 мин в CO₂-инкубаторе при 37°C.

Затем содержимое U-образных чашек переносили в белые культуральные чашки, содержащие клетки НЕК 293Т-hACE2. Среду для выращивания предварительно осторожно удаляли из белых 96-луночных планшетов, не нарушая прикрепленных клеток. Затем белые планшеты оставляли в инкубаторе с CO₂ на 36–48 ч при 37°C и 5% CO₂.

Далее питательную среду отсасывали и в каждую лунку добавляли по 40 мкл раствора PBS, а затем — предварительно нагретый до 25°C реагент OneGlo (Promega), содержащий субстрат для люциферазы, и планшеты инкубировали в течение 60–75 мин при комнатной температуре (20–25°C) в темноте на орбитальном шейкере. После этого измеряли люминесценцию с помощью люминометра Luminoskan Microplate (Thermo Fisher Scientific, США). За 100%-ную нейтрализацию принимали среднее значение люминесценции, полученное в лунках с добавленным нейтрализующим антителом iB20, описанным ранее [7]. За 0% нейтрализации принимали среднее значение люминесценции, полученное в лунках без добавления сыворотки. Среднее значение люминесценции, полученное в лунках без добавления вирусных частиц, принимали за фоновое значение. Расчет ID₅₀ (расчетное значение, составляющее разведение сыворотки, необходимое для 50% нейтрализации вируса) был проведен с помощью анализа нелинейной регрессии в пакете GraphPad Prism.

Анализы, выполненные в рамках валидации метода. Чувствительность/специфичность — для определения этих параметров была измерена нейтрализующая активность 24 образцов сыворотки выздоравливающих/вакцинированных пациентов с подтвержденными ИФА антителами к S-белку SARS-CoV-2. Отрицательными пробами являлись замороженные до начала 2020 г. архивные образцы сывороток от доноров, постоянно проживающих в РФ.

Воспроизводимость — уровни ID₅₀ у серопозитивных доноров исследовали в течение 6 аналитических циклов.

Прецизионность внутри планшета — исследовали вариабельность измерения ID₅₀ в пределах одного планшета, измеренного для одного образца сыворотки.

Внутрилабораторная прецизионность — значения ID_{50} были измерены для одного и того же образца сыворотки при настройке реакции разными операторами в один и тот же день или одним и тем же оператором в разные дни.

Устойчивость (робастность) — значения ID_{50} были измерены для одного и того же образца сыворотки с использованием различных партий вирусных частиц.

Линейность — изменение уровня ID_{50} , измененного для серийных разведений контрольной сыворотки. В качестве меры линейности мы рассматривали коэффициент R2, полученный путем линейной регрессии значений \log_2 (коэффициент разбавления) в зависимости от \log_2 (ID_{50}), как меру линейности.

По всем перечисленным выше параметрам были достигнуты приемлемые значения, позволяющие признать данную методику валидированной. Подробный протокол валидации и полученные результаты будут опубликованы отдельно.

Статистический анализ

Для проведения статистического анализа был использован язык программирования статистических расчетов R версии 4.1.2.

В анализ были включены данные без значимых отклонений от протокола исследования. Все сравнения добровольцев между группами препаратов проводились с помощью двусторонних критериев (кроме анализа первичной конечной точки с помощью одностороннего критерия).

При сравнении исходных характеристик добровольцев использовался t-критерий Стьюдента для независимых выборок или критерий Манна–Уитни, в зависимости от вида распределения добровольцев по значениям этих переменных. Для сравнений групп добровольцев по полу использовался критерий χ^2 .

Так как все переменные, проанализированные в рамках промежуточного анализа, будут повторно анализироваться и сравниваться между группами в рамках финального анализа всего объема данных за период со скрининга до дня 42, все сравнения между добровольцами в группах по препаратам корректировались поправками на множественные сравнения. При сравнениях групп добровольцев по исходным характеристикам, титру ВНА на день 21 и день 42, титру RBD на день 1, день 21 и день 42, а также при сравнениях по титру ВНА и титру RBD в динамике нулевая гипотеза об отсутствии различий между группами/визитами отвергалась и принималась альтернативная гипотеза о наличии различий между группами/визитами при уровне $p < 0,000001$.

Анализ первичной конечной точки проводился на логарифмированных данных титра ВНА. Тестирование гипотез по первичной ко-

нечной точке проводилось с помощью одностороннего t-критерия Стьюдента для независимых выборок при уровне ошибки I рода (α) = 0,0000005. При превышении разницей средних титра ВНА границы доказательства эффективности в 1,042 планировалось принять утверждение о не меньшей иммунологической эффективности интраназальной вакцины Салнавак® по сравнению с вакциной Гам-КОВИД-Вак® по разнице средних титров ВНА.

Сравнение добровольцев в группах препаратов по значениям титра RBD на 42 день исследования выполнялось с помощью t-критерия Стьюдента для независимых выборок на логарифмированных данных.

Динамика титров ВНА и RBD со дня 1 до дня 42 исследования оценивалась с помощью t-критерия Стьюдента для зависимых выборок на логарифмированных данных, уровни значимости корректировались поправкой Холма для множественных сравнений.

Анализ корреляций между титром ВНА и титром анти-RBD IgG-антител проводился с помощью коэффициента Спирмена. Для трактовки силы корреляций использовалась следующая шкала: $0 < |r| < 0,3$ — слабая корреляция; $0,3 \leq |r| < 0,9$ — умеренная корреляция; $|r| \geq 0,9$ — сильная корреляция.

Надзор за исследованием

Исследование проведено спонсором (ОАО «ГЕНЕРИУМ») в соответствии с одобренным протоколом исследования, согласовано с исследователями и авторами публикации. Сбор данных проводился исследователями с верификацией данных персоналом спонсора с использованием продукции ENNOV CLINICAL S.A.S. Статистический и медицинский анализ данных, а также подготовка промежуточного отчета об исследовании были выполнены спонсором. Спонсор гарантирует полноту и точность данных и проведенного анализа и подтверждает, что публикация соответствует протоколу и другим документам исследования. Все авторы имели доступ к данным исследования, рукописи и одобрили окончательный вариант настоящей статьи.

Результаты

Профиль исследования. На момент проведения промежуточного анализа в исследование было скринировано 703 добровольца, 138 из которых (19,63%) соответствовали всем критериям включения/невключения и были рандомизированы в две группы вакцинопрофилактики. Один из рандомизированных добровольцев отозвал информированное согласие до введения Компонента I вакцины, что было расценено как ошибка рандомизации. Полную анализируемую

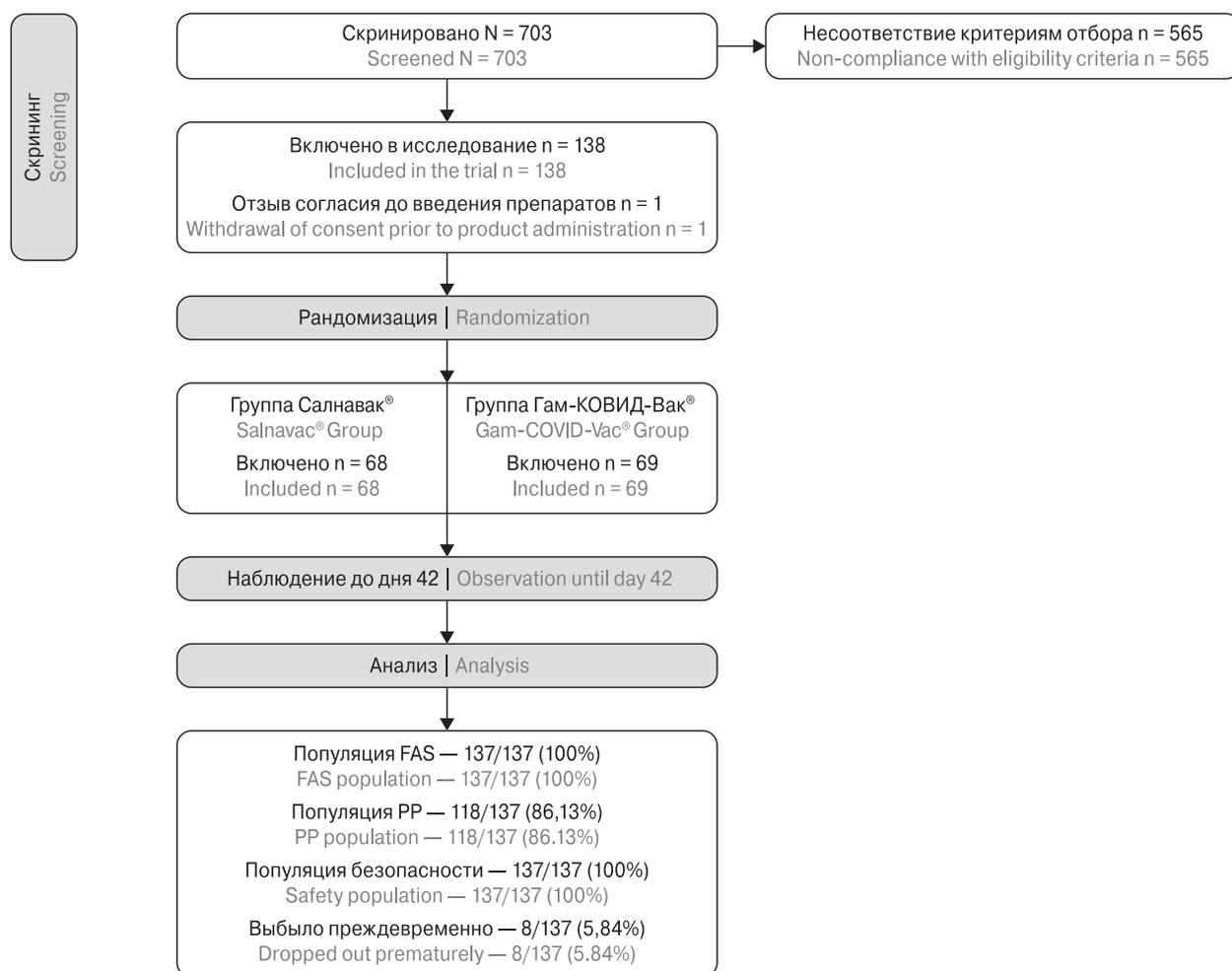


Рисунок 1. Распределение добровольцев в исследовании

Figure 1. Distribution of volunteers in the trial

совокупность (Full Analysis Set, FAS) составило 137 добровольцев. Из 137 рандомизированных добровольцев 19 пациентов были исключены из популяции «по протоколу» (Per Protocol, PP), и их данные не учитывались при анализе иммуногенности. Среди причин исключения из анализа были заболевание COVID-19 (для 7 добровольцев) и значимые отклонения от протокола с воздействием на результаты исследования (для 12 добровольцев) (рис. 1).

Исходные характеристики добровольцев. Добровольцы в сравниваемых группах не отличались между собой по исходным характеристикам (полученные для всех показателей уровни p больше уровня, заданного для сравнения между группами по демографическим и исходным характеристикам на промежуточном этапе — $p < 0,000001$) (табл.).

Оценка иммуногенности. В группе препарата Салнавак® титр ВНА — геометрическое среднее

значение (геометрическое стандартное отклонение) — составил в день 1 $76,7 \pm 3,36$. Ко дню 21 исследования титр ВНА в группе препарата Салнавак® возрос в 3,2 раза от исходного уровня — до $243,85 \pm 3,33^1$ — и далее, до дня 42, оставался стабильным²; титр ВНА на день 42 составил $238,34 \pm 3,23$. С момента начала исследования (день 1) до дня 42 титр ВНА в группе Салнавак® увеличился в 3,1 раза¹ (рис. 2).

В группе Гам-КОВИД-Вак® титр ВНА в день 1 составил $43,35 \pm 4,27$ и ко дню 21 увеличился до $526,5 \pm 3,76$ — в 12,1 раза от исходного. Ко дню 42 статистически значимые изменения титра ВНА относительно дня 21 отсутствовали: титр на 42 день составил $616,94 \pm 3,73^2$. В целом за время, прошедшее с начала исследования, титр ВНА в группе Гам-КОВИД-Вак® увеличился в 14,2 раза¹ (рис. 2).

Титр ВНА на 42 день на логарифмированных данных составил 5,47 и 6,42 в группах

¹ Уровень p для сравнения между визитами был меньше уровня, установленного для принятия альтернативной гипотезы о наличии различий между визитами $p < 0,000001$.

² Уровень p был больше уровня, установленного для принятия альтернативной гипотезы о наличии различий между визитами $p > 0,000001$.

Таблица. Исходные характеристики добровольцев. Популяция FAS

Table. Baseline characteristics of volunteers. FAS population

Параметр Parameter	Салнавак® Salnavac® (N = 68)	Гам-КОВИД-Вак® Gam-COVID-Vac® (N = 69)	Уровень p (критерий) p-value (criteria)
Женский пол, n (%) Female, n (%)	31 (45,6)	31 (44,9)	1 χ^2
Мужской пол, n (%) Male, n (%)	37 (54,4)	38 (55,1)	
Возраст, годы (среднее [СО]) Age, years (mean [SD])	34,43 (8,99)	36,25 (9,18)	0,24 t-критерий Стьюдента Student's t-test
САД, мм рт.ст. (медиана [МКР]) SAP, mmHg (median [IQR])	118 (110; 124,25)	120 (112; 125)	0,31 Манна-Уитни Mann-Whitney
ДАД, мм рт.ст. (медиана [МКР]) DAP, mmHg (median [IQR])	75 (70; 80)	75 (68; 80)	0,38 Манна-Уитни Mann-Whitney
ЧСС, уд./мин (медиана [МКР]) HR, bpm (median [IQR])	71,5 (67; 79,25)	69 (68; 76)	0,14 Манна-Уитни Mann-Whitney
ЧДД, в мин (медиана [МКР]) RR, in min (median [IQR])	16 (16;17)	16 (16; 17)	0,80 Манна-Уитни Mann-Whitney
Температура тела, °C (медиана [МКР]) Body temperature, °C (median [IQR])	36,5 (36,4; 36,6)	36,5 (36,4; 36,6)	0,94 Манна-Уитни Mann-Whitney

Примечание. Описательные статистики пола представлены в виде частот (n) и долей в процентах (%), возраста — в виде среднего и стандартного отклонения (СО), жизненно важных показателей (систолического артериального давления — САД, диастолического артериального давления — ДАД, частоты сердечных сокращений — ЧСС, частоты дыхательных движений — ЧДД и температуры тела) — в виде медианы и межквартильного размаха (МКР) в виде 25%–75% квартилей.

Note. Gender-related descriptive statistics is presented as frequencies (n) and percentages (%), age — as mean and standard deviation (SD), vital signs (systolic blood pressure — SBP, diastolic blood pressure — DBP, heart rate — HR), contractions — heart rate, respiratory rate — RR and body temperature) — as a median and interquartile range (IQR) in the form of 25%–75% quartiles.

Салнавак® и Гам-КОВИД-Вак® соответственно. Межгрупповая разница средних геометрических титров ВНА на 42 день исследования составила $-0,95$ (нижняя граница 99,9% ДИ для разницы титров ВНА $-2,16$). Полученный уровень р для сравнения $p = 0,99$ был больше, и величина эффекта, равная $-0,95$, была меньше уровней, заданных для доказательства не меньшей иммуногенности вакцины Салнавак® по сравнению с вакциной Гам-КОВИД-Вак®. Отношение геометрических средних титра ВНА на 42 день исследования составило $0,39$ с нижней границей 99,99% ДИ, равной $0,12$.

Титр уровня RBD в группе Салнавак® составил $15,23 \pm 4,74$ ВАУ/мл в день 1. Ко дню 21 он увеличился в $5,6$ раза по сравнению с днем 1 — до $85,32 \pm 7,91$ ВАУ/мл¹. На день 42 титр RBD составил $131,22 \pm 3,91$ ВАУ/мл, значимо не изменившись относительно дня 21². В целом за время исследования в группе Салнавак® титр RBD возрос в $8,6$ раз¹ (рис. 3).

В группе Гам-КОВИД-Вак® титр RBD в день 1 составил $14,21 \pm 4,22$ ВАУ/мл, далее уве-

личившись до $490,76 \pm 4,66$ ВАУ/мл — в $34,5$ раз¹. Ко дню 42 статистически значимые изменения титра RBD относительно дня 21 отсутствовали, титр RBD составил $782,03 \pm 3,04$ ВАУ/мл². В целом титр RBD в группе Гам-КОВИД-Вак® со дня 1 до дня 42 увеличился в 55 раз¹ (рис. 3).

Отношение геометрических средних титра RBD на 42 день исследования составило $0,17$ [99,99% ДИ $0,05; 0,56$] ($p < 0,001$) (рис. 3). Средний титр RBD в группе Салнавак® был ниже, чем в группе Гам-КОВИД-Вак® в 6 раз¹.

Проведенный корреляционный анализ титра ВНА и анти-RBD IgG обнаружил прямую умеренную корреляцию показателей на 21 день ($r = 0,78$, $p < 0,001$) и на 42 день исследования ($r = 0,84$, $p < 0,001$).

Обсуждения и выводы

На сегодняшний день вакцинация является одной из основных мер здравоохранения для борьбы с пандемией COVID-19. Несколько вакцин на разных платформах были разработаны

¹ Уровень p для сравнения между визитами был меньше уровня, установленного для принятия альтернативной гипотезы о наличии различий между визитами $p < 0,000001$.

² Уровень p был больше уровня, установленного для принятия альтернативной гипотезы о наличии различий между визитами $p > 0,000001$.

вскоре после появления SARS-CoV-2 в Китае, а чуть позже в зону интересов исследователей попал мукозальный способ проведения иммунопрофилактики. Белок шипа (S) вируса SARS-CoV-2 является целевым иммуногеном в большинстве разработок вакцин [9]. Это связано с тем, что RBD является областью вируса, которая связывается с ангиотензин-превращающим ферментом 2 клетки-хозяина (ACE2). RBD расположен в субъединице S1 белка S, и связывание RBD вируса и клетки-хозяина ACE-2 инициирует проникновение вируса [9]. ВНА, антитела, которые связываются с RBD, могут предотвратить проникновение вируса в клетки-хозяева [11].

В рамках клинического исследования была использована методика, позволяющая определить наличие специфических к антигену SARS-CoV-2 ВНА антител в реакции нейтрализации на культуре клеток НЕК 293-T-hAce2 с применением псевдовиральных частиц в сыворотке крови добровольцев. Были успешно проанализированы все доступные образцы.

В ряде работ была установлена достоверная корреляция титров ВНА, определяемых исходной референтной методикой PRNT, с титрами, определяемыми с использованием псевдотипированного вируса (PNA). Например, в работе Bewley и соавт., коэффициент корреляции Пирсона между PRNT и MNA составил $r = 0,0963$ ($p < 0,001$), а между PRNT и PNA была выявлена значительно более сильная корреляция — $r = 0,8620$ ($p < 0,001$) [3]. Теоретически это дает возможность сравнивать результаты разных исследований, где титры ВНА измерялись разными методами. При таком сравнении следует учитывать, что если титры PRNT и MNA соотносятся примерно, как 1:1 (что логично, поскольку в обоих случаях используется идентичный вирус дикого типа и та же клеточная линия), то титры, получаемые PNA, примерно в 10 раз ниже титров PRNT, измеренных в том же образце.

В последний год в научном сообществе неоднократно высказывалось мнение о том, что вводимые внутримышечно вакцины, включая самые эффективные мРНК и вирусные векторные вакцины, обеспечивающие хорошую защиту от тяжелого течения COVID-19, мало повлияли на цепочку передачи инфекции, особенно в случае новых штаммов SARS-CoV-2, таких как омикрон. Вместе с тем большие надежды на прерывание передачи инфекции возлагались именно на интраназальные вакцины, которые должны были сформировать в организме вакцинированного, помимо системного гуморального и клеточного иммунитета, барьерную защиту на слизистых оболочках [16]. Интраназальные вакцины, разработанные Bharat Biotech и CanSino Biologics, уже одобрены к применению в Индии и Китае соответственно [15].

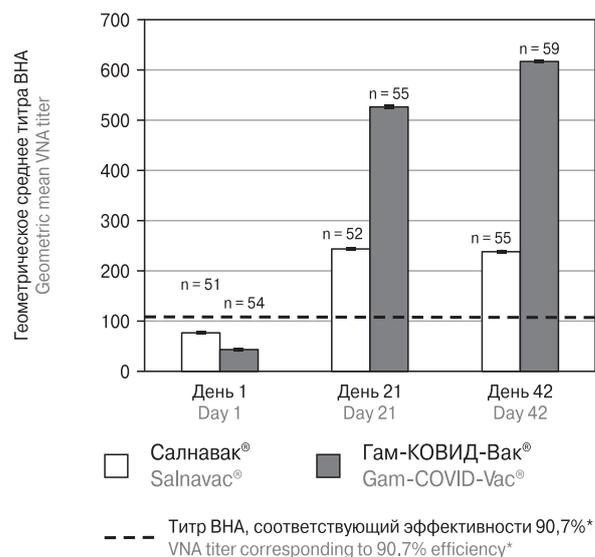


Рисунок 2. Геометрические средние титра ВНА с указанием стандартного отклонения в группах добровольцев, получавших препарат Салнавак® и Гам-КОВИД-Вак®

Figure 2. Geometric mean VNA titers and standard deviation in groups of volunteers treated with Salnavac® and Gam-COVID-Vac®

Примечание. ВНА — вируснейтрализующие антитела; на оси Y представлены геометрическое среднее и стандартное отклонение; * в соответствии с опубликованными данными изучения вакцины mRNA-1273 (Moderna) [14].

Note. VNA — virus-neutralizing antibodies; Y-axis: geometric mean and standard deviation; *the data according published for mRNA-1273 vaccine study (Moderna) [14].

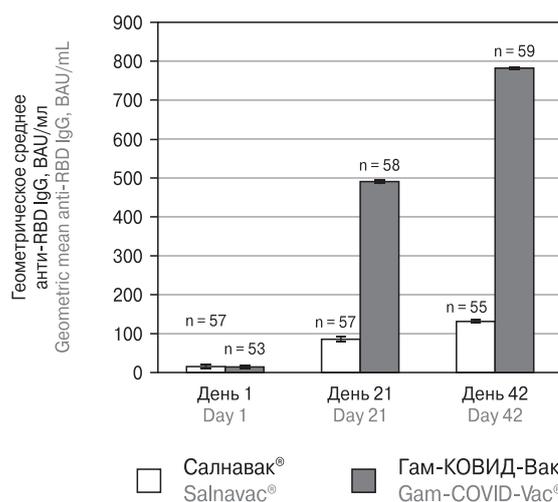


Рисунок 3. Концентрации анти-RBD-IgG с указанием стандартного отклонения в группах добровольцев, получавших препарат Салнавак® и Гам-КОВИД-Вак®

Figure 3. Anti-RBD-IgG concentrations and standard deviation in groups of volunteers treated with Salnavac® and Gam-COVID-Vac®

Опубликованное клиническое исследование безопасности и иммуногенности вакцины Ad5-nCoV (CanSino Biologics, Китай), вводимой аэрозольно через небулайзер, показало титры ВНА в сыворотке крови, значительно превосходящие таковые при внутримышечном введении цельновирионной инактивированной вакцины CoronaVac. Геометрическое среднее титра ВНА после применения Ad5-nCoV составило 714 (95% ДИ: 479,4–1063,7) при высокой дозе и 744 — на низкой (95% ДИ: 520,1–1065,6), в то время как после применения CoronaVac титр ВНА был равен 78,5 [95% ДИ: 60,5–101,7] [10]. Следует отметить, что Ad5-nCoV — это тоже векторная вакцина, аналогичная второму компоненту Салнавак®.

В то же время клиническое исследование другой интраназальной вакцины ChAdOx1 (AstraZeneca, Великобритания) не достигло запланированных конечных точек. Антиген-специфические антитела слизистой оболочки сформировались у меньшинства участников и их уровень редко превышал титры, наблюдаемые после заражения SARS-CoV-2. Системные ответы на интраназальную вакцинацию были слабее, чем после внутримышечной вакцинации ChAdOx1. Антиген-специфические антитела слизистой оболочки были обнаружены только у участников, получивших внутримышечную мРНК-вакцину после интраназальной вакцинации. Исследователи сделали вывод, что интраназальное введение ChAdOx1 не индуцировало ни устойчивого ответа антител слизистой оболочки, ни сильного системного ответа. Одной из ве-

роятных причин такого неуспеха авторы считают меньшую способность обезьяньего аденовируса заражать слизистые оболочки человека [12].

Несмотря на показанную в ходе настоящего промежуточного анализа меньшую системную гуморальную иммуногенность интраназальной вакцины Салнавак® по сравнению с внутримышечной вакциной Гам-КОВИД-Вак®, было обнаружено наличие высоких титров ВНА и анти-RBD-IgG у добровольцев в обеих группах через 21 и 42 дня после включения в исследование, что подтверждает напряженность иммунного ответа в отношении SARS-CoV-2 после применения вакцины Салнавак®. В соответствии с опубликованными данными изучения вакцины mRNA-1273 (Moderna, США), титр ВНА (ID₅₀), выявляемый с помощью метода псевдонейтрализации, равный 100 на 57 день исследования, соответствует эффективности вакцинации на уровне 90,7% (95% ДИ: 86,7–93,6) [6].

Учитывая применение сопоставимых методов определения ВНА в клиническом исследовании VCI-COV-III и при изучении препарата mRNA-1273 (Moderna, США), можно сделать предварительное заключение о достаточной протективной активности препарата Салнавак®.

Благодарности

Авторы хотели бы поблагодарить всех исследователей и добровольцев, принимающих участие в этом исследовании, сотрудников центральной лаборатории «ИМГЕН+».

Список литературы/References

1. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». Утв. постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 № 4. [3.3686-21. Sanitary rules for prevention of infectious diseases. Approved by Decree of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation No. 4 dated 28.01.2021. (In Russ.)] URL: https://www.rosпотребнадзор.ru/files/news/SP_infections_compressed.pdf (09.08.2023)
2. Almeida A.J., Alpar H.O. Nasal delivery of vaccines. *J. Drug Target.*, 1996, vol. 3, no. 6, pp. 455–467. doi: 10.3109/10611869609015965
3. Bewley K.R., Coombes N.S., Gagnon L., McInroy L., Baker N., Shaik I., St-Jean J.R., St-Amant N., Buttigieg K.R., Humphries H.E., Godwin K.J., Brunt E., Allen L., Leung S., Brown Ph.J., Penn E.J., Thomas K., Kulnis G., Hallis B., Carroll M., Funnell S., Charlton S. Quantification of SARS-CoV-2 neutralizing antibody by wild-type plaque reduction neutralization, microneutralization and pseudotyped virus neutralization assays. *Nature Protocols*, 2021, vol. 16, no. 6, pp. 3114–3140. doi: 10.1038/s41596-021-00536-y
4. Boyaka P.N., Tafaro A., Fischer R., Leppla S.H., Fujihashi K., McGhee J.R. Effective mucosal immunity to anthrax: neutralizing antibodies and Th cell responses following nasal immunization with protective antigen. *J. Immunol.* 2003, vol. 170, no. 11, pp. 5636–5643. doi: 10.4049/jimmunol.170.11.5636
5. Chen M., Zhang X.E. Construction and applications of SARS-CoV-2 pseudoviruses: a mini review. *Int. J. Biol. Sci.*, 2021, vol. 17, no. 6, pp. 1574–1580. doi: 10.7150/ijbs.59184
6. Gilbert P.B., Montefiori D.C., McDermott A.B., Fong Y., Benkeser D., Deng W., Zhou H., Houchens C.R., Martins K., Jayashankar L., Castellino F., Flach B., Lin B.C., O'Connell S., McDanal C., Eaton A., Sarzotti-Kelsoe M., Lu Y., Yu C., Borate B., van der Laan L.W.P., Hejazi N.S., Huynh C., Miller J., El Sahly H.M., Baden L.R., Baron M., De La Cruz L., Gay C., Kalams S., Kelley C.F., Andrasik M.P., Kublin J.G., Corey L., Neuzil K.M., Carpp L.N., Pajon R., Follmann D., Donis R.O., Koup R.A., Immune Assays Team§, Moderna, Inc. Team§, Coronavirus Vaccine Prevention Network (CoVPN)/Coronavirus Efficacy (COVE) Team§, United States Government (USG)/CoVPN Biostatistics Team§. Immune correlates analysis of the mRNA-1273 COVID-19 vaccine efficacy clinical trial. *Science*, 2022, no. 375, no. 6576, pp. 43–50. doi: 10.1126/science.abm3425
7. Gorchakov A.A., Kulemzin S.V., Guseynikov S.V., Baranov K.O., Belovezhets T.N., Mechetina L.V., Volkova O.Yu., Najakshin A.M., Chikaev N.A., Chikaev A.N., Solodkov P.P., Larichev V.F., Gulyaeva M.A., Markhaev A.G., Kononova Yu.V., Alekseyev A.Yu., Shestopalov A.M., Yusubalieva G.M., Klypa T.V., Ivanov A.V., Valuev-Elliston V.T., Baklaushev V.P., Taranin A.V. Isolation of a panel of ultra-potent human antibodies neutralizing SARS-CoV-2 and viral variants of concern. *Cell Discov.*, 2021, vol. 7, no. 1: 96. doi: 10.1038/s41421-021-00340-8

8. Heinz F.X., Stiasny K. Distinguishing features of current COVID-19 vaccines: knowns and unknowns of antigen presentation and modes of action. *NPJ Vaccines*, 2021, vol. 6, no. 1, pp. 1–13. doi: 10.1038/s41541-021-00369-6
9. Jiang Y., Wu Q., Song P., You C. The variation of SARS-CoV-2 and advanced research on current vaccines. *Front. Med. (Lausanne)*, 2022, vol. 8: 806641. doi: 10.3389/fmed.2021.806641
10. Li J.X., Wu S.P., Guo X.L., Tang R., Huang B.Y., Chen X.Q., Chen Y., Hou L.H., Liu J.X., Zhong J., Pan H.X., Shi F.J., Xu X.Y., Li Z.P., Zhang X.Y., Cui L.B., Tan W.J., Chen W., Zhu F.C., Huang H.T., Gou J.B., Si W.X., Wang X., Zhao X.L., Zhu T. Safety and immunogenicity of heterologous boost immunisation with an orally administered aerosolised Ad5-nCoV after two-dose priming with an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in Chinese adults: a randomised, open-label, single-centre trial. *Lancet Respir. Med.*, 2022, vol. 10, no. 8, pp. 739–748. doi:10.1016/S2213-2600(22)00087-X
11. Lombardi A., Bozzi G., Ungaro R., Villa S., Castelli V., Mangioni D., Muscatello A., Gori A., Bandera A. Mini review immunological consequences of immunization with COVID-19 mRNA vaccines: preliminary results. *Front. Immunol.*, 2021, vol. 12: 657711 doi: 10.3389/fimmu.2021.657711
12. Madhavan M., Ritchie A.J., Aboagye J., Jenkin D., Provstgaard-Morys S., Tarbet I., Woods W., Davies S., Baker M., Platt A., Flaxman A., Smith H., Belij-Rammerstorfer S., Wilkins D., Kelly E.J., Villafana T., Green J.A., Poulton I., Lambe T., Hill A.V.S., Ewer K.J., Douglas A.D. Tolerability and immunogenicity of an intranasally-administered adenovirus-vectored COVID-19 vaccine: an open-label partially-randomised ascending dose phase I trial. *EBioMedicine*, 2022, vol. 85: 104298. doi:10.1016/j.ebiom.2022.104298
13. Powers A.D., Drury J.E., Hoehamer C.F., Lockey T.D., Meagher M.M. Lentiviral vector production from a stable packaging cell line using a packed bed bioreactor. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.*, 2020, vol. 19, pp. 1–13. doi: 10.1016/j.omtm.2020.08.010
14. Shanmugaraj B., Malla A., Phoolcharoen W. Emergence of novel Coronavirus 2019-nCoV: need for rapid vaccine and biologics development. *Pathogens*, 2020, vol. 9, no. 2: 148. doi: 10.3390/pathogens9020148
15. Waltz E. China and India approve nasal COVID vaccines — are they a game changer? *Nature*, vol. 609, no. 7927, p. 450. doi: 10.1038/d41586-022-02851-0
16. Waltz E. How nasal-spray vaccines could change the pandemic. *Nature*, 2022, vol. 609, no. 7926, pp. 240–242. doi: 10.1038/d41586-022-02824-3
17. Wang D., Hu B., Hu C., Zhu F., Liu X., Zhang J., Wang B., Xiang H., Cheng Zh., Xiong Y., Zhao Y., Li Y., Wang X., Peng Zh. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel Coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*, 2020, vol. 323, no. 11, pp. 1061–1069. doi:10.1001/jama.2020.1585
18. Wang S., Zhang Y., Liu S., Peng H., Mackey V., Sun L. Coronaviruses and the associated potential therapeutics for the viral infections. *J. Infect. Dis. Ther.*, 2020, vol. 8, no. 2: 417. doi: 10.4172/2332-0877.1000417
19. WHO. Coronavirus (COVID-19) dashboard. URL: <https://covid19.who.int> (09.08.2023)
20. WHO. COVID-19 vaccine tracker and landscape. 30.03.2023. URL: <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines> (09.08.2023)

Авторы:

Зуев Е.В., ведущий эксперт группы научно-медицинской экспертизы и клинической разработки отдела научной экспертизы и фармаконадзора дирекции по клиническим исследованиям и фармаконадзору АО «ГЕНЕРИУМ», Владимирская область, Петушинский район, пгт. Вольгинский, Россия;

Маркова О.А., руководитель отдела научной экспертизы и фармаконадзора дирекции по клиническим исследованиям и фармаконадзору АО «ГЕНЕРИУМ», Владимирская область, Петушинский район, пгт. Вольгинский, Россия;

Кулемзин С.В., к.б.н., научный сотрудник ООО «ИМГЕН+», г. Новосибирск, Россия;

Потеряев Д.А., к.б.н., советник по науке АО «ГЕНЕРИУМ», Владимирская область, Петушинский район, пгт. Вольгинский, Россия;

Литвинова Н.А., к.б.н., руководитель отдела молекулярной диагностики департамента фармацевтического анализа АО «ГЕНЕРИУМ», Владимирская область, Петушинский район, пгт. Вольгинский, Россия;

Короткевич И.А., специалист по биостатистике группы биостатистики и управления данными отдела научной экспертизы и фармаконадзора дирекции по клиническим исследованиям и фармаконадзору АО «ГЕНЕРИУМ», Владимирская область, Петушинский район, пгт. Вольгинский, Россия;

Григорьева Т.В., младший менеджер проектов клинических исследований медицинского операционного отдела дирекции по клиническим исследованиям и фармаконадзору АО «ГЕНЕРИУМ», Владимирская область, Петушинский район, пгт. Вольгинский, Россия;

Хамитов Р.А., д.м.н., профессор, вице-президент по исследованиям и разработкам АО «ГЕНЕРИУМ», Владимирская область, Петушинский район, пгт. Вольгинский, Россия.

Authors:

Zuev E.V., Lead Expert of the Group of Scientific and Medical Expertise and Clinical Development, Department of Scientific Expertise and Pharmacovigilance, Directorate for Clinical Trials and Pharmacovigilance, JSC "GENERIUM", Vladimir Region, Petushinsky district, Volginsky settlement, Russian Federation;

Markova O.A., Head of the Department of Scientific Expertise and Pharmacovigilance, Directorate for Clinical Trials and Pharmacovigilance, JSC "GENERIUM", Vladimir Region, Petushinsky district, Volginsky settlement, Russian Federation;

Kulemzin S.V., PhD (Biology), Researcher, LLC "IMGEN+", Novosibirsk, Russian Federation;

Poteryaev D.A., PhD (Biology), Science Adviser, JSC "GENERIUM", Vladimir Region, Petushinsky district, Volginsky settlement, Russian Federation;

Litvinova N.A., PhD (Biology), Head of Department of Molecular Diagnostics, Department of Pharmaceutical Analysis, JSC "GENERIUM", Vladimir Region, Petushinsky district, Volginsky settlement, Russian Federation;

Kortkevich I.A., Biostatistician, Group of Biostatistics and Data Management, Department of Scientific Expertise and Pharmacovigilance, Directorate for Clinical Trials and Pharmacovigilance, JSC "GENERIUM", Vladimir Region, Petushinsky district, Volginsky settlement, Russian Federation;

Grigoryeva T.V., Junior Clinical Research Project Manager, Medical Operations Department, Directorate for Clinical Trials and Pharmacovigilance, JSC "GENERIUM", Vladimir Region, Petushinsky district, Volginsky settlement, Russian Federation;

Khmitov R.A., DSc (Medicine), Professor, Vice President of Research and Development, JSC "GENERIUM", Vladimir Region, Petushinsky district, Volginsky settlement, Russian Federation.

Поступила в редакцию 21.03.2023
Отправлена на доработку 02.10.2023
Принята к печати 05.10.2023

Received 21.03.2023
Revision received 02.10.2023
Accepted 05.10.2023

ИЗМЕНЕНИЯ ВРОЖДЕННЫХ ФАКТОРОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПО ДАННЫМ ИЗУЧЕНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПОСТКОВИДНЫХ ПАЦИЕНТОВ

М.А. Добрынина^{1,2}, А.В. Зурочка^{1,3}, М.В. Комелькова^{1,3}, В.А. Зурочка^{1,3},
Е.А. Праскурничий², Л.В. Рябова⁴, А.П. Сарапульцев^{1,3}

¹ ФГБУН Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

² ФГБУ Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства Российской Федерации, Москва, Россия

³ ФГАОУ ВО Южно-Уральский государственный университет (Национальный исследовательский университет), г. Челябинск, Россия

⁴ ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск, Россия.

Резюме. Пандемия новой коронавирусной инфекции COVID-19, вызванная вирусом SARS-CoV-2, привела к глобальной заболеваемости и смертности во всем мире. Известно, что часть пациентов полностью выздоравливают от COVID-19, тогда как около 45% людей, вне зависимости от тяжести перенесенного заболевания, страдают от различных симптомов (усталость, когнитивные нарушения, нарушение терморегуляции, кожные заболевания и пр.), которые сохраняются не менее четырех месяцев после заражения SARS-CoV-2. Подобные стойкие постинфекционные последствия известны под названиями «long-COVID», «постострые последствия COVID-19», «постковидное состояние». SARS-CoV-2-инфекция сопровождается повреждением врожденной иммунной системы. Учитывая роль натуральных киллеров и активации системы комплемента при COVID-19, регуляторные свойства CD46 и его потенциальную вовлеченность в процессы проникновения вируса в клетку, мы сочли необходимым изучить параметры иммунной системы, связанные с нарушением этих факторов врожденного иммунитета на различных субпопуляциях лейкоцитов у постковидных пациентов. Было изучено 92 параметра иммунной системы, включающие: панлейкоцитарные маркеры для гейтирования лимфоцитов, типирование Т-лимфоцитов, Т-хелперов индукторов, цитотоксических Т-лимфоцитов, NK- и TNK-клеток, Т-регуляторных клеток/ супрессоров, В-лимфоцитов, включая В-клетки памяти, активированных хелперов, раннюю актива-

Адрес для переписки:

Добрынина Мария Александровна
620078, Россия, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106,
ИИФ УрО РАН.
Тел.: +7 982 340-40-00 (моб.).
E-mail: mzurochka@mail.ru

Contacts:

Maria A. Dobrynina
620078, Russian Federation, Ekaterinburg, Pervomaiskaya str., 106,
Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the RAS.
Phone: +7 982 340-40-00 (mobile).
E-mail: mzurochka@mail.ru

Для цитирования:

Добрынина М.А., Зурочка А.В., Комелькова М.В., Зурочка В.А.,
Праскурничий Е.А., Рябова Л.В., Сарапульцев А.П. Изменения
врожденных факторов иммунной системы по данным изучения
иммунной системы периферической крови у постковидных
пациентов // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 864–872.
doi: 10.15789/2220-7619-AII-9641

Citation:

Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Komelkova M.V., Zurochka V.A.,
Praskurnichiy E.A., Ryabova L.V., Sarapultsev A.P. Alteration in innate immune
cues assessed by analyzing peripheral blood immune system in post-COVID
patients // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet,
2023, vol. 13, no. 5, pp. 864–872. doi: 10.15789/2220-7619-AII-9641

Исследование выполнено при поддержке гранта ФГБУ «РЦНИ» № 20-515-55003 «Китай_т» «Иммуноопосредованные механизмы SARS-CoV-2 инфекции: новые направления и новые вызовы».

The study was supported by the grant of Russian Center for Scientific Information No. 20-515-55003 «China_t» «Immune-mediated mechanisms of SARS-CoV-2 infection: new directions and new challenges».

цию лимфоцитов (активированные Т-лимфоциты — поздняя активация лимфоцитов). Определение уровня общих IgM, IgG, IgA, специфических IgM, IgG к коронавирусу COVID-19, C1-ингибитора, C3a и C5a компонентов комплемента проводилось методом иммуноферментного анализа на иммуноферментном анализаторе «Multiscan FC ThermoScientific» (КНР) с использованием наборов реагентов производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Также было исследовано 25 параметров крови: лейкоцитарный, эритроцитарный и тромбоцитарный ростки кроветворения, изучен их количественный и качественный состав. Результаты исследования показали, что у части пациентов спустя 6 месяцев после перенесенного COVID-19 выявлено снижение уровня NK-клеток (48%) и клеток, имеющих панлейкоцитарный маркер CD46⁺ (64,5%). Снижение уровня NK-клеток сопровождалось повышением уровня общих Т- и В-лимфоцитов, нарушением тромбоцитарного и эритроидного ростков кроветворения. У пациентов со сниженной экспрессией CD46⁺ на Т-лимфоцитах значительно снижено как общее количество этих клеток, так и NK-клеток. Полученные нами данные также указывают на возможное участие CD46 и в развитии инфекции SARS-CoV-2 и постковидного состояния. Таким образом, у 50–65% пациентов, перенесших SARS-CoV-2-инфекцию, через 6 месяцев сохраняется повреждение врожденных систем иммунитета, при этом такое нарушение сопровождается и нарушениями эритроидного и тромбоцитарного роста кроветворения. Полученные данные свидетельствуют о необходимости проведения у таких больных иммунокорригирующей терапии.

Ключевые слова: SARS-CoV-2-инфекция, постковидные пациенты, иммунная система, натуральные киллеры (NK-клетки), Т-клетки, Т-лимфоциты, TNK-лимфоциты, В-лимфоциты, CD46.

ALTERATION IN INNATE IMMUNE CUES ASSESSED BY ANALYZING PERIPHERAL BLOOD IMMUNE SYSTEM IN POST-COVID PATIENTS

Dobrynina M.A.^{a,b}, Zurochka A.V.^{a,c}, Komelkova M.V.^{a,c}, Zurochka V.A.^{a,c}, Praskurnichiy E.A.^b, Ryabova L.V.^d, Sarapultsev A.P.^{a,c}

^a Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

^b State Research Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan of the Federal Medical and Biological Agency of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

^c South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation

^d South Ural State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. The COVID-19 pandemic, caused by the SARS-CoV-2 virus, has led to global morbidity and mortality. Some patients fully recover from COVID-19, whereas around 45% subjects suffer from various persistent symptoms (fatigue, cognitive impairment, impaired thermoregulation, skin diseases, etc.) for at least four months after SARS-CoV-2 infection regardless of disease severity. Such persistent post-infection effects are known as long-COVID, post-acute effects of COVID-19, or post-COVID state. SARS-CoV-2 infection is accompanied by damage to the innate immune system. Considering the role of natural killer cells and the activation of the complement system in COVID-19 as well as the regulatory properties related to CD46 and its potential involvement in cell virus entry, we found necessary to study immune system parameters associated with impairment of these innate immune cues on various leukocyte subpopulations in post-COVID patients. We studied 92 immune system parameters, including: pan-leukocyte markers for gated lymphocytes, phenotyping of T cells, T-helper inducers, cytotoxic T-lymphocytes, NK- and TNK-cells, T-regulatory cells/suppressors, B-lymphocytes, including B-memory cells, activated helpers, early activation of lymphocytes, activated T-lymphocytes, and late lymphocyte activation markers. Levels of total IgM, IgG, IgA, specific IgM, IgG to coronavirus COVID-19, C1-inhibitor, C3a, and C5a complement components were measured by enzyme immunoassay using Multiscan FC ThermoScientific enzyme immunoassay analyzer (China) and Vector Best reagent kits (Russia). A complete blood count was conducted to study 25 parameters: leukocyte, erythrocyte, and platelet hematopoietic lineages as well as the quantitative and qualitative composition of hematopoietic lineages. Our study results showed that in some patients, six months after suffering from COVID-19, there was a decrease in the level of NK cells (48%) and CD46⁺ pan-leukocyte marker cells (64.5%). A decrease in NK cell levels was accompanied by increased level of total T- and B-lymphocytes, and altered platelet and erythroid hematopoietic lineages. In patients with reduced CD46 expression on T-lymphocytes, both their total count and NK cell count were significantly reduced. Our data also suggest that CD46 might be potentially involved in development of SARS-CoV-2 infection and the post-COVID state. Thus, in 50–65% of patients who have experienced SARS-CoV-2 infection, damage to the innate immune system persists after six months being accompanied by impaired erythroid and platelet hematopoietic lineages. The data obtained indicate a need for using immunocorrective therapy in such patients.

Key words: SARS-CoV-2 infection, post-COVID patients, immune system, natural killer cells (NK cells), T cells, T lymphocytes, TNK lymphocytes, B lymphocytes, CD46.

Введение

Пандемия новой коронавирусной инфекции COVID-19, вызванная вирусом SARS-CoV-2, привела к глобальной заболеваемости и смертности во всем мире.

Натуральные киллеры (NK-клетки) играют определяющую роль в формировании выраженности ответа врожденного иммунитета у пациентов с COVID-19 [7], способствуя сбалансированности прямого ответа на вирус — путем устранения инфицированных клеток (дендритных клеток, моноцитов и Т-клеток). Нарушение этого баланса оказывается критичным в случае SARS-CoV-2, поскольку сверхактивный цитокиновый ответ, типичный для тяжелых случаев заболевания, приводит к развитию системных осложнений, полиорганной недостаточности и, в конечном итоге, к смерти [16].

Согласно данным литературы, при тяжелом течении COVID-19 отмечается увеличение количества NK-клеток, экспрессирующих KIR2DS4, CD158i, а также изменения со стороны В-клеток, проявляющиеся снижением CD19⁺ и CD20^{+/−}, и падение уровня IgM [24]. Также фиксируется уменьшение количества CD3⁺CD4⁺ Т-лимфоцитов, CD3⁺CD8⁺ Т-лимфоцитов, CD19⁺ В-лимфоцитов и CD16⁺CD56⁺ NK-клеток крови [33], что, наряду с бактериальной коинфекцией, является причиной развития бактериальных пневмоний и приводит к утяжелению состояния и, зачастую, к смерти пациента [33].

Необходимо отметить, что описанные выше результаты исследований получены у пациентов с острым течением COVID-19, тогда как исследования NK-клеток и их связей с нарушением других компартментов иммунной системы у постковидных пациентов практически не проводилось. В то же время, несмотря на то что часть пациентов полностью выздоравливают от COVID-19, около 45% людей, вне зависимости от тяжести перенесенного заболевания, страдают от различных симптомов (усталость, когнитивные нарушения, нарушение терморегуляции, кожные заболевания и пр.), которые сохраняются на протяжении не менее 4 месяцев после заражения SARS-CoV-2 [21]. Подобные стойкие постинфекционные последствия известны под названиями «long-COVID», «постострые последствия COVID-19», «постковидное состояние» [26].

Согласно литературным данным, проникновение вируса SARS-CoV-2 в клетки происходит за счет связывания S1 вирусного шипового (S) белка с ACE2 [4, 6, 12, 27, 30]. Однако могут существовать и другие механизмы попадания вируса в клетку [10], и в качестве одного из альтернативных рецепторов рассматривается CD46. CD46 — это мембранный гликопротеин I типа,

относящийся к панлейкоцитарным рецепторам, экспрессирующийся на всех ядерных клетках человека, ключевой ролью которого является регуляция системы комплемента. В то же время, многочисленные вирусные (вакцинный штамм вируса кори, аденовирусы группы В и D, вирусы герпеса 6 типа) и бактериальные (*Neisseria gonorrhoea*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pyogenes*) патогены используют его в качестве рецептора. При этом, связывание CD46 комплектом или патогенами влияет на функциональную активность, пролиферацию и дифференцировку различных иммунных клеток (макрофаги, дендритные клетки, Т-клетки) [14, 23, 28]. Лигирование CD46 меняет полярность Т-клеток, предотвращая нормальные ответы на презентацию антигена, и, как следствие, модулирует иммунный ответ и меняет исход заболеваний [8]. Более того, дефицит CD46 или его лиганда (C3/C3b) приводит к нарушению Th1-ответа, увеличивая риск рецидивирующих инфекций [11]. В то же время именно нарушение Т-клеточного ответа оказывается критичным в случае SARS-CoV-2 [16], как в ходе самого заболевания [13], так и спустя длительное время после клинического выздоровления [17].

Таким образом, учитывая роль натуральных киллеров и активации системы комплемента при COVID-19, регуляторные свойства CD46 и его потенциальную вовлеченность в процессы проникновения вируса в клетку, мы сочли необходимым изучить изменение показателей иммунной системы, связанных с нарушением этих факторов врожденного иммунитета, на различных субпопуляциях лейкоцитов у постковидных пациентов.

Материалы и методы

Было обследовано 96 пациентов, перенесших SARS-CoV-2-инфекцию. Критерием включения в группы исследования были: подтвержденный диагноз SARS-CoV-2-инфекции методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), наличие IgA, IgM, IgG к вирусу SARS-CoV-2, данные компьютерной томографии о перенесенной пневмонии (варианты: поражение от 25 до 75% легких). Кроме того, критериями включения являлись наличие жалоб на усталость, боль, ухудшение самочувствия после физической нагрузки, быстрое появление чувства усталости при выполнении привычной работы и/или во время учебы, нарушение работы сердечно-сосудистой, нервной систем, наличие когнитивных, психических и физических нарушений [3, 18]. Исследование проводилось не менее чем через 6 месяцев после перенесенной пневмонии, вызванной SARS-CoV-2. Все пациенты были предварительно обследованы вра-

чом терапевтом и иммунологом-аллергологом для выявления сопутствующих заболеваний.

Определение групп сравнения проводилось по двум параметрам врожденного иммунитета: по количеству НК-клеток и панлейкоцитарному маркеру CD46⁺.

На первом этапе пациенты, участвующие в исследовании, были разделены по количеству НК-клеток. В качестве референсных интервалов и пороговых значений НК-клеток были приняты данные, представленные в монографии Зурочки А.В. и соавт. (2018) [1]. На втором этапе та же выборка пациентов была разделена по уровню панлейкоцитарного маркера CD46⁺ на общей популяции Т-лимфоцитов. Для определения точки отсечения (cut-off value) по CD46⁺ был использован ROC-анализ. Кроме того, группы были рандомизированы по полу, возрасту, сопутствующим заболеваниям по критерию χ^2 . Таким образом, нами было выделено 4 группы сравнения:

- Группа 1 – постковидные пациенты с уровнем НК-клеток ниже нормы, n = 46;
- Группа 2 – постковидные пациенты с нормальным уровнем НК-клеток, n = 50;
- Группа 3 – постковидные пациенты со сниженным уровнем CD46⁺, n = 62;
- Группа 4 – постковидные пациенты с равным или повышенным уровнем CD46⁺, n = 34.

Все исследования были одобрены независимым локальным этическим комитетом при ГАУЗ ОТКЗ «Городская клиническая больница № 1» г. Челябинска, протокол № 8 от 11.04.2022, на базе которой проводились данные исследования.

Иммунологические исследования. Оценка иммунного статуса осуществлялась методом проточной цитометрии на цитофлюориметре «Navios» (BeckmanCoulter, США) по стандартизированной технологии оценки лимфоцитарного звена иммунитета [1, 2].

В ходе исследования были определены следующие параметры: CD45⁺ и CD46⁺ (панлейкоцитарный маркер для гейтирования лимфоцитов), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺ (Т-лимфоциты), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺, CD4⁺ (хелперы индукторы), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺, CD8⁺ (цитотоксические Т-лимфоциты), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺CD16⁺, CD56⁺ (ТНК-клетки) CD45⁺(CD46⁺), CD3⁻, CD16⁺, CD56⁻ (натуральные киллеры), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁻, CD19⁺ CD5⁺ (В-лимфоциты), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺, CD4⁺, CD25⁺, CD127⁻ (Т-регуляторные клетки/супрессоры), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺, CD4⁺, CD25⁺ (активированные хелперы, ранняя активация лимфоцитов), CD45⁺(CD46⁺), CD3⁺, HLA-DR (активированные Т-лимфоциты – поздняя активация лимфоцитов), В-клеток памяти CD27⁺ (BeckmanCoulter, «BioLegend», США).

Определение уровня общих IgM, IgG, IgA, специфических IgM, IgG к коронавирусу COVID-19, С1-ингибитора, С3а и С5а компонен-

тов комплемента проводилось методом иммуноферментного анализа на иммуноферментном анализаторе «Multiscan FC» (Thermoscientific, Китай) с использованием наборов реагентов ЗАО «Вектор Бест» (Россия).

Гематологические исследования. Общий анализ крови (исследовано 25 параметров: лейкоцитарный, эритроцитарный и тромбоцитарный ростки кроветворения), а также оценка количественного и качественного состава ростков кроветворения проведены стандартизованным методом на гематологическом анализаторе «Medonic M20» (Boule Medical AB, Швеция).

Статистическая обработка данных. Обработка и анализ данных осуществлялись с помощью R 3.1.1 12 (R Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия) и Microsoft Excel версии 14.0. Так как распределение в количественных данных было не нормальным (p-value теста Шапиро–Уилка < 0,05), то использованные статистические критерии были непараметрическими.

Результаты и обсуждение

В ходе исследования при делении выборки по количеству натуральных киллеров было выявлено, что среди 96 обследованных пациентов 48% (группа 1) имели сниженный уровень абсолютного и относительного числа НК-клеток. Гейтирование лимфоцитов панлейкоцитарными маркерами CD45⁺ и CD46⁺ показало, что у пациентов группы 1 отмечено снижение НК-клеток более чем в 2 раза по сравнению с пациентами, относящимися к группе 2 (табл. 1). При этом снижение натуральных киллеров сопровождалось повышением в 1,2 раза абсолютного и относительного числа общих Т-лимфоцитов, которое, по-видимому, происходило за счет компенсаторного увеличения субпопуляций Т-хелперов и ТНК-лимфоцитов, а также ростом общего числа В-клеток памяти. Установлено, что увеличение общего числа В-лимфоцитов сопровождалось полуторагодовым снижением уровня общего IgM (табл. 1).

Анализ показателей тромбоцитарного роста кроветворения у пациентов со сниженным уровнем НК-клеток показал повышение в 1,3 раза количества тромбоцитов, в 1,1 раза тромбоцитокрита на фоне снижения среднего объема тромбоцитов (табл. 1).

Постковидные пациенты со сниженным уровнем НК-клеток также характеризовались значительным снижением показателя гематокрита, концентрации гемоглобина в эритроцитах, среднего корпускулярного объема гемоглобина, средней концентрации корпускулярного гемоглобина (табл. 1).

Таблица 1. Показатели иммунной системы, эритроидного, тромбоцитарного ростков кроветворения у постковидных пациентов с нарушением уровня НК-клеток

Table 1. Parameters of the immune system, erythroid and platelet hematopoietic lineages in post-COVID patients with impaired NK cell levels

Показатели иммунной системы Indicators of immune system	Группа 1. Постковидные пациенты со сниженным уровнем НК-клеток (n = 46) Group 1. Postcovid patients with reduced NK cells (n = 46)	Группа 2. Постковидные пациенты с нормальным уровнем НК-клеток (n = 50) Group 2. Postcovid patients with normal NK cell levels (n = 50)
НК-клетки (CD45 ⁺ CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺) отн., % NK cells (CD45 ⁺ CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺) relative, %	6,29±0,36*	14,63±0,48
НК-клетки (CD45 ⁺ CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺) абс., 10 ⁶ кл/л NK cells (CD45 ⁺ CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺) abs., 10 ⁶ cells/l	142,7±10,59*	305,76±16,37
НК-клетки (CD46 ⁺ CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺) отн., % NK cells (CD46 ⁺ CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺) relative, %	5,98±0,39	13,41±0,54
НК-клетки (CD46 ⁺ CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺) абс., 10 ⁶ кл/л NK cells (CD46 ⁺ CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺) abs., 10 ⁶ cells/l	132,68±10,41*	276,74±15,02
Общее число Т-лимфоцитов (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) отн., % Total number of T-lymphocytes (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) relative, %	77,49±0,84*	69,33±0,86
Общее число Т-лимфоцитов (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) абс., 10 ⁶ кл/л Total number of T-lymphocytes (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) abs., 10 ⁶ cells/l	1769,44 ±86,82*	1465,89±78,24
Общее число Т-лимфоцитов (CD46 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) отн., % Total number of T-lymphocytes (CD46 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) relative, %	74,61±0,95*	66,57±1,02
Общее число Т-лимфоцитов (CD46 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) абс., 10 ⁶ кл/л Total number of T-lymphocytes (CD46 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) abs., 10 ⁶ cells/l	1711,64±86,435*	1409,63±78,93
Т-хелперы (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD4 ⁺) отн., % T-helpers (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD4 ⁺) relative, %	51,32±1,8*	44,50±1,06
Т-хелперы (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD4 ⁺) абс., 10 ⁶ кл/л T-helpers (CD45 ⁺ CD3 ⁺ CD4 ⁺) abs., 10 ⁶ cells/l	1108,72±100,16*	985,35±51,79
ТНК-лимфоциты (CD46 ⁺ CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺) отн., % TNK lymphocytes (CD46 ⁺ CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺) rel, %	6,48±0,61	5,22±0,52
ТНК-лимфоциты (CD46 ⁺ CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺) абс., 10 ⁶ кл/л TNK lymphocytes (CD46 ⁺ CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺) abs., 10 ⁶ cells/l	145,46±15,97*	106,37±11,24
Общее число В-лимфоцитов памяти (CD45 ⁺ CD3 ⁻ CD19 ⁺ CD27 ⁺) отн., % Total number of memory B-lymphocytes (CD45 ⁺ CD3 ⁻ CD19 ⁺ CD27 ⁺) relative, %	4,15±0,45*	2,81±0,23
Общее число В-лимфоцитов памяти (CD45 ⁺ CD3 ⁻ CD19 ⁺ CD27 ⁺) абс., 10 ⁶ кл/л Total number of memory B-lymphocytes (CD45 ⁺ CD3 ⁻ CD19 ⁺ CD27 ⁺) abs., 10 ⁶ cells/l	99,04±13,45*	59,78±6,48
IgM общий, г/л IgM total, g/l	0,68±0,06*	1,03±0,12
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ кл/л The number of platelets 10 ⁹ cells/l	267,86±10,89*	211,94±7,65
Тромбоцитокрит, % Thrombocytocrit, %	0,19±0,01*	0,17±0,01
Средний объем тромбоцита, fL Average platelet volume, fL	7,61±0,15*	8,05±0,13
Концентрация гемоглобина, г/л Hemoglobin concentration, g/l	130,96±2,28*	141,94±2,17
Гематокрит, % Hematocrit, %	38,94±0,62*	41,672±0,59
Средний корпускулярный объем гемоглобина, пг Average corpuscular volume of hemoglobin, pg	28,66±0,41*	30,1±0,25
Средняя концентрация корпускулярного гемоглобина, г/л Average concentration of corpuscular hemoglobin, g/l	337,08±1,44*	341,76±1,28

Примечание. Данные представлены в виде M±m; * — достоверность различий между группами p < 0,05.

Note. Data are presented as M±m; * — significant differences between groups, p < 0.05.

При делении выборки по уровню панлейкоцитарного маркера CD46⁺ было выявлено, что среди 96 обследованных пациентов у 64,5% с постковидным синдромом (группа 3) отмечено значительное снижение экспрессии CD46⁺ на Т-лимфоцитах (табл. 2). При этом пациенты группы 3 характеризуются снижением уровня абсолютного и относительного числа как Т-лимфоцитов, так и клеток, отвечающих за врожденный противовирусный иммунитет (NK-клетки).

При делении выборки по панлейкоцитарному маркеру CD46⁺ видно, что количество Т-лимфоцитов у лиц с патологией врожденного иммунитета значительно ниже (группа 3, табл. 2), чем при делении по количеству NK-клеток (группа 1, табл. 1). Причиной таких различий может являться то, что процент пациентов, имеющих более низкий уровень CD46⁺ лейкоцитов в 1,3 раза больше, чем лиц, имеющих резкое снижение NK-клеток. Из этого следует, что в группе 3 есть больные, уровень NK-клеток у которых мог быть нормальным или даже повышенным. Об этом свидетельствуют данные табл. 2, где показано, что количество этих клеток в среднем выше, чем в группе 1. В то же время, исходя из данных табл. 1 и 2, уровень Т-лимфоцитов у постковидных пациентов группы 1 выше, чем у постковидных пациентов группы 3, что, вероятно, связано с наличием в этой группе лиц, у которых, несмотря на снижение уровня NK-клеток, общее количество Т-лимфоцитов было в норме или повышено.

Таким образом, при обсчете по разным исходным точкам иммунной системы (формирование групп по снижению/норме NK-клеток и панлейкоцитарному маркеру CD46⁺ состав групп может сильно различаться и иметь как общие признаки, так и существенные различия.

Все это свидетельствует о том, что при анализе полученных результатов, нужно проводить более глубокие исследования популяционного состава лейкоцитов с учетом разных точек повреждения системы иммунитета.

Полученные в данном исследовании результаты свидетельствуют о том, что у части пациентов, ранее перенесших SARS-CoV-2-инфекцию и страдающих постковидным синдромом, четко прослеживается фенотип, связанный с нарушением систем врожденного иммунитета, включающий в себя снижение NK-клеток и панлейкоцитарного рецептора CD46⁺.

Ранее другими авторами было показано, что в течении первых 3 месяцев после выздоровления у пациентов с легкой и средней тяжестью течения острого COVID-19 наблюдалось значительное снижение общего количества NK-клеток [25]. Эти данные согласуются с результатами наших исследований и свидетельствуют о том, что COVID-19 может влиять на количество и функции клеток врожденной иммунной системы (в том числе натуральных киллеров), приводя к развитию постострых последствий заболевания. В силу этого эпигенетическая память иммунных клеток врожденного иммунитета и их предшественников может играть роль в развитии постковидных нарушений [5].

Отмеченные нарушения элементов врожденного иммунитета сопровождались изменениями в эритроцитарном и тромбоцитарном ростках кроветворения. Снижение эритроцитарных индексов может свидетельствовать о нарушении оксигенации организма. Было высказано предположение об ингибировании метаболизма гема путем связывания вирусного белка ORF8 с порфирином [15, 32]. Гемоглобин крови является наиболее простым для

Таблица 2. Сравнение показателей субпопуляций лимфоцитов постковидных пациентов при гейтировании панлейкоцитарным маркером CD46⁺

Table 2. Comparison of indices of lymphocyte subpopulations in post-COVID patients gated on CD46⁺ pan-leukocyte marker

Показатели субпопуляций лимфоцитов Indicators of lymphocytes subpopulations	Группа 3. Постковидные пациенты со сниженным уровнем CD46 ⁺ (n = 62) Group 3. Post-COVID patients with reduced CD46 ⁺ levels (n = 62)	Группа 4. Постковидные пациенты с равным или повышенным уровнем CD46 ⁺ (n = 34) Group 4. Post-COVID patients with equal or elevated CD46 ⁺ levels (n = 34)
Общее число Т-лимфоцитов (CD46 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) отн., % Total number of T-lymphocytes (CD46 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) relative, %	69,75±1,51*	74,85±0,90
Общее число Т-лимфоцитов (CD46 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) абс., 10 ⁶ кл/л Total number of T-lymphocytes (CD46 ⁺ CD3 ⁺ CD19 ⁻) abs., 10 ⁶ cells/l	1427,46±57,93*	1753,30±112,50
NK-клетки (CD46 ⁺ CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺) отн., % NK cells (CD46 ⁺ CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺) relative, %	6,48±0,39*	13,13±1,14
NK-клетки (CD46 ⁺ CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺) абс., 10 ⁶ кл/л NK cells (CD46 ⁺ CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺) abs., 10 ⁶ cells/l	145,50±15,97*	276,90±26,45

Примечание. Данные представлены в виде M±m; * — достоверность различий между группами p < 0,05.

Note. Data are presented as M±m; * — reliability of differences between groups p < 0.05.

измерения гемопротеином, однако в метаболизме клеток принимает участие большое количество других важных белков, представляющих собой гемопротеины (миоглобин, каталаза, циклооксигеназа, пероксидаза, цитохром р450 и синтаза оксида азота, митохондриальные белки), содержание которых, по-видимому, также может снижаться при COVID-19. Подобные события приводят к белковой дисфункции, повреждению клеток, потере энергии митохондриями и утечке железа с последующим повышением уровня ферритина в сыворотке, а также к усталости и объективной мышечной слабости, о которых сообщают пациенты [22].

Кроме того, для постковидных пациентов с нарушенным иммунным статусом характерны тромботические осложнения [31]. Установлено повышение общего количества тромбоцитарных пластинок при одновременном снижении их среднего объема. Согласно литературным данным, нарушение регуляции врожденной и адаптивной иммунных систем является одним из критических факторов, вызывающих тромбоз при COVID-19 [29]. Sumbalova Z. и соавт. (2022) показали, что у пациентов после COVID-19 снижены функция дыхательной цепи митохондрий тромбоцитов, окислительное фосфорилирование и уровень эндогенного CoQ10, что приводит к нарушению их функциональной активности [29].

Согласно литературным данным, CD46 играет значительную роль во врожденных и адаптивных иммунных реакциях, а нарушения CD46-опосредованных сигнальных путей приводят к врожденным иммунодефицитам. Так, пациенты с мутациями в CD46 не генерируют Th1 ответ, что приводит к развитию у них тяжелых рецидивирующих инфекций [11]. Oliago J. и соавт. (2006) установили, что лигирование CD46 на НК-клетках влияет на поляризацию в направлении клеток-мишеней и снижает их цитотоксичность [20]. Эти результаты демонстрируют возможный механизм нарушения нормальной передачи сигналов между иммунными клетками, опосредованный патогенами, которые связывают CD46 [20].

Результаты настоящего исследования показали значительное снижение у постковидных

пациентов как общего количества Т-лимфоцитов, так и НК-клеток, несущих на своей поверхности рецептор CD46. По-видимому, именно лигирование CD46 вирусом индуцирует его подавление [19]. Известно, что в супернатантах CD46-активированных Т-клеток выделение CD46 приводит к образованию растворимого CD46 (sCD46), способного связывать лиганды. В свою очередь, активированные Т-клетки секретируют C3b, который связывается с выделенным sCD46 и приводит к ингибированию Т-клеток в петле отрицательной обратной связи [19]. Вероятно именно эти механизмы иммунопатогенеза определяют дисфункцию Т-клеточного звена и, как следствие, приводят к развитию постострых симптомов COVID-19, что требует создания принципиально новых подходов к иммунокоррекции.

Выводы

У части постковидных пациентов через 6 месяцев и более сохранялось повреждение врожденных факторов иммунной системы, а именно снижение уровня НК-клеток (48%) и клеток, имеющих панлейкоцитарный маркер CD46⁺ (64,5%).

Снижение количества натуральных киллеров сопровождалось повышением уровня общих Т-лимфоцитов, преимущественно за счет Т-хелперов и ТНК-лимфоцитов, и ростом общих В-клеток памяти, которое сочеталось со снижением уровня общего IgM.

Снижение уровня НК-клеток сопровождалось нарушением тромбоцитарного (повышением уровня тромбоцитов, тромбоцитокрита на фоне снижения среднего объема тромбоцитов) и эритроидного (снижением гемоглобина, гематокрита, среднего корпускулярного объема гемоглобина, средней концентрации корпускулярного гемоглобина) ростков кроветворения.

У пациентов со сниженной экспрессией CD46⁺ на Т-лимфоцитах значительно снижено как общее количество этих клеток, так и НК-клеток. Полученные нами данные указывают на возможное участие CD46 в развитии инфекции SARS-CoV-2 и постковидного состояния.

Список литературы/References

1. Зурочка А.В., Хайдуков С.В., Кудрявцев И.В., Черешнев В.А. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях. Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2018. 720 с. [Zurochka A.V., Khaidukov S.V., Kudryavtsev I.V., Chereshevnev V.A. Flow cytometry in biomedical research. *Ekaterinburg: RIO Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2018. 720 p. (In Russ.)*]
2. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тоголян А.А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлюориметров-анализаторов» // Российский иммунологический журнал. 2014. Т. 8, № 4 (17). С. 974–992. [Khaidukov S.V., Baidun L.A., Zurochka A.V., Totolian A.A. Standardized technology «Study of the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes using flow cytofluorometer-analyzers». *Rossiiskii immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology, 2014, vol. 8, no. 4 (17), pp. 974–992. (In Russ.)*]
3. Agergaard J., Ullahammer W.M., Gunst J.D., Østergaard L., Schiøttz-Christensen B. Characteristics of a Danish post-COVID cohort referred for examination due to persistent symptoms six months after mild acute COVID-19. *J. Clin. Med., 2022, vol. 11, no. 24: 7338. doi: 10.3390/jcm11247338*

4. Ashraf U.M., Abokor A.A., Edwards J.M., Waigi E.W., Royfman R.S., Hasan S.A., Smedlund K.B., Hardy A.M.G., Chakravarti R., Koch L.G. SARS-CoV-2, ACE2 expression, and systemic organ invasion. *Physiol. Genomics*, 2021, vol. 53, no. 2, pp. 51–60. doi: 10.1152/physiolgenomics.00087.2020
5. Cheong J.G., Ravishankar A., Sharma S., Parkhurst C.N., Grassmann S.A., Wingert C.K., Laurent P., Ma S., Paddock L., Miranda I.C., Karakaslar E.O., Nehar-Belaid D., Thibodeau A., Bale M.J., Kartha V.K., Yee J.K., Mays M.Y., Jiang C., Daman A.W., Martinez de Paz A., Ahimovic D., Ramos V., Lercher A., Nielsen E., Alvarez-Mulet S., Zheng L., Earl A., Yallowitz A., Robbins L., LaFond E., Weidman K.L., Racine-Brzostek S., Yang H.S., Price D.R., Leyre L., Rendeiro A.F., Ravichandran H., Kim J., Borczuk A.C., Rice C.M., Jones R.B., Schenck E.J., Kaner R.J., Chadburn A., Zhao Z., Pascual V., Elemento O., Schwartz R.E., Buenostro J.D., Niec R.E., Barrat F.J., Lief L., Sun J.C., Ucar D., Josefowicz S.Z. Epigenetic memory of coronavirus infection in innate immune cells and their progenitors. *Cell*, 2023, vol. 186, no. 18, pp. 3882–3902.e24. doi: 10.1016/j.cell.2023.07.019
6. Costa L.B., Perez L.G., Palmeira V.A., Macedo E., Cordeiro T., Ribeiro V.T., Lanza K., Simões E., Silva A.C. Insights on SARS-CoV-2 molecular interactions with the renin-angiotensin system. *Front. Cell Dev. Biol.*, 2020, vol. 8: 559841. doi: 10.3389/fcell.2020.559841
7. D'Alessandro M., Bergantini L., Cameli P., Curatola G., Remediani L., Sestini P., Bargagli E.; Siena COVID Unit. Peripheral biomarkers' panel for severe COVID-19 patients. *J. Med. Virol.*, 2021, vol. 93, no. 3, pp. 1230–1232. doi: 10.1002/jmv.26577
8. Hawkins E.D., Oliaro J. CD46 signaling in T cells: linking pathogens with polarity. *FEBS Lett.*, 2010, vol. 584, no. 24, pp. 4838–4844. doi: 10.1016/j.febslet.2010.09.003
9. Iba T., Levy J.H. Thrombosis and thrombocytopenia in COVID-19 and after COVID-19 vaccination. *Trends Cardiovasc. Med.*, 2022, vol. 32, no. 5, pp. 249–256. doi: 10.1016/j.tcm.2022.02.008
10. Koch J., Uckeley Z.M., Doldan P., Stanifer M., Boulant S., Lozach P.Y. TMPRSS2 expression dictates the entry route used by SARS-CoV-2 to infect host cells. *EMBO J.*, 2021, vol. 40, no. 16: e107821. doi: 10.15252/emboj.2021107821
11. Le Fric G., Sheppard D., Whiteman P., Karsten C.M., Shamoun S.A., Laing A., Bugeon L., Dallman M.J., Melchionna T., Chillakuri C., Smith R.A., Drouet C., Couzi L., Fremaux-Bacchi V., Köhl J., Waddington S.N., McDonnell J.M., Baker A., Handford P.A., Lea S.M., Kemper C. The CD46-Jagged1 interaction is critical for human TH1 immunity. *Nat. Immunol.*, 2012, vol. 13, no. 12, pp. 1213–1221. doi: 10.1038/ni.2454
12. Leowattana W., Leowattana T., Leowattana P. Circulating angiotensin converting enzyme 2 and COVID-19. *World J. Clin. Cases*, 2022, vol. 10, no. 34, pp. 12470–12483. doi: 10.12998/wjcc.v10.i34.12470
13. Li M., Guo W., Dong Y., Wang X., Dai D., Liu X., Wu Y., Li M., Zhang W., Zhou H., Zhang Z., Lin L., Kang Z., Yu T., Tian C., Qin R., Gui Y., Jiang F., Fan H., Heissmeyer V., Sarapultsev A., Wang L., Luo S., Hu D. Elevated exhaustion levels of NK and CD8⁺ T cells as indicators for progression and prognosis of COVID-19 disease. *Front. Immunol.*, 2020, vol. 11: 580237. doi: 10.3389/fimmu.2020.580237
14. Liszewski M.K., Atkinson J.P. Membrane cofactor protein (MCP; CD46): deficiency states and pathogen connections. *Curr. Opin. Immunol.*, 2021, vol. 72, pp. 126–134. doi: 10.1016/j.coi.2021.04.005
15. Liu W., Li H. COVID-19: attacks the 1-beta chain of hemoglobin to disrupt respiratory function and escape immunity by capsid-like system. *ChemRxiv. Cambridge: Cambridge Open Engage*, 2023. doi: 10.26434/chemrxiv-2021-dtpv3-v12
16. Masselli E., Vaccarezza M., Carubbi C., Pozzi G., Presta V., Mirandola P., Vitale M. NK cells: a double edge sword against SARS-CoV-2. *Adv. Biol. Regul.*, 2020, vol. 77: 100737. doi: 10.1016/j.jbior.2020.100737
17. Mitsuyama Y., Yamakawa K., Kayano K., Maruyama M., Wada T., Fujimi S. Prolonged enhancement of cytotoxic T lymphocytes in the post-recovery state of severe COVID-19. *J. Intensive Care*, 2021, vol. 9, no. 1: 76. doi: 10.1186/s40560-021-00591-3
18. Munblit D., Nicholson T., Akrami A., Apfelbacher C., Chen J., De Groote W., Diaz J.V., Gorst S.L., Harman N., Kokorina A., Oliaro P., Parr C., Preller J., Schiess N., Schmitt J., Seylanova N., Simpson F., Tong A., Needham D.M., Williamson P.R., PC-COS project steering committee. A core outcome set for post-COVID-19 condition in adults for use in clinical practice and research: an international Delphi consensus study. *Lancet Respir. Med.*, 2022, vol. 10, no. 7, pp. 715–724. doi: 10.1016/S2213-2600(22)00169-2
19. NiChoileain S., Astier A.L. CD46 processing: a means of expression. *Immunobiology*, 2012, vol. 217, no. 2, pp. 169–175. doi: 10.1016/j.imbio.2011.06.003
20. Oliaro J., Pasam A., Waterhouse N.J., Browne K.A., Ludford-Menting M.J., Trapani J.A., Russell S.M. Ligation of the cell surface receptor, CD46, alters T cell polarity and response to antigen presentation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2006, vol. 103, no. 49, pp. 18685–18690. doi: 10.1073/pnas.0602458103
21. O'Mahoney L.L., Routen A., Gillies C., Ekezie W., Welford A., Zhang A., Karamchandani U., Simms-Williams N., Cassambai S., Ardavani A., Wilkinson T.J., Hawthorne G., Curtis F., Kingsnorth A.P., Almaqhawi A., Ward T., Ayoubkhani D., Banerjee A., Calvert M., Shafran R., Stephenson T., Sterne J., Ward H., Evans R.A., Zaccardi F., Wright S., Khunti K. The prevalence and long-term health effects of long Covid among hospitalised and non-hospitalised populations: a systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine*, 2022, vol. 55: 101762. doi: 10.1016/j.eclinm.2022.101762
22. Pasini E., Corsetti G., Romano C., Scarabelli T.M., Chen-Scarabelli C., Saravolatz L., Dioguardi F.S. Serum metabolic profile in patients with long-Covid (PASC) syndrome: clinical implications. *Front. Med. (Lausanne)*, 2021, vol. 8: 714426. doi: 10.3389/fmed.2021.714426
23. Persson B.D., John L., Rafie K., Strebl M., Frängsmyr L., Ballmann M.Z., Mindler K., Havenga M., Lemckert A., Stehle T., Carlsson L.A., Arnberg N. Human species D adenovirus hexon capsid protein mediates cell entry through a direct interaction with CD46. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2021, vol. 118, no. 3: e2020732118. doi: 10.1073/pnas.2020732118
24. Rendeiro A.F., Casano J., Vorkas C.K., Singh H., Morales A., DeSimone R.A., Ellsworth G.B., Soave R., Kapadia S.N., Saito K., Brown C.D., Hsu J., Kyriakides C., Chiu S., Cappelli L.V., Cacciapuoti M.T., Tam W., Galluzzi L., Simonson P.D., Elemento O., Salvatore M., Inghirami G. Profiling of immune dysfunction in COVID-19 patients allows early prediction of disease progression. *Life Sci. Alliance*, 2020, vol. 4, no. 2: e202000955. doi: 10.26508/lsa.202000955
25. Ruenjaiman V., Sodsai P., Kueanjinda P., Bunrasmeew W., Klinchanhom S., Reantragoon R., Tunvirachaisakul C., Manothum-metha K., Mejun N., Liengswangwong K., Torvorapanit P., Paitoonpong L., Pucharoen O., Palaga T., Hirankarn N.; study team. Impact of SARS-CoV-2 infection on the profiles and responses of innate immune cells after recovery. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, 2022, vol. 55, no. 6, pt. 1, pp. 993–1004. doi: 10.1016/j.jmii.2022.09.001

26. Soriano J.B., Murthy S., Marshall J.C., Relan P., Diaz J.V., WHO Clinical Case Definition Working Group on Post-COVID-19 Condition. A clinical case definition of post-COVID-19 condition by a Delphi consensus. *Lancet Infect. Dis.*, 2022, vol. 22, no. 4, pp. e102–e107. doi: 10.1016/S1473-3099(21)00703-9
27. Steenblock C., Toepfner N., Beuschlein F., Perakakis N., Mohan Anjana R., Mohan V., Mahapatra N.R., Bornstein S.R. SARS-CoV-2 infection and its effects on the endocrine system. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2023: 101761. doi: 10.1016/j.beem.2023.101761
28. Stein K.R., Gardner T.J., Hernandez R.E., Kraus T.A., Duty J.A., Ubarretxena-Belandia I., Moran T.M., Tortorella D. CD46 facilitates entry and dissemination of human cytomegalovirus. *Nat. Commun.*, 2019, vol. 10, no. 1:2699. doi: 10.1038/s41467-019-10587-1
29. Sumbalova Z., Kucharska J., Palacka P., Rausova Z., Langsjoen P.H., Langsjoen A.M., Gvozdjakova A. Platelet mitochondrial function and endogenous coenzyme Q10 levels are reduced in patients after COVID-19. *Bratisl Lek Listy*, 2022, vol. 123, no. 1, pp. 9–15. doi: 10.4149/BLL_2022_002
30. Verdecchia P., Cavallini C., Spanevello A., Angeli F. The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection. *Eur. J. Intern. Med.*, 2020, vol. 76, pp. 14–20. doi: 10.1016/j.ejim.2020.04.037
31. Wang C., Yu C., Jing H., Wu X., Novakovic V.A., Xie R., Shi J. Long COVID: the nature of thrombotic sequelae determines the necessity of early anticoagulation. *Front. Cell Infect. Microbiol.*, 2022, vol. 12: 861703. doi: 10.3389/fcimb.2022.861703
32. Wenzhong L., Hualan L. COVID-19: attacks the 1-beta chain of hemoglobin and captures the porphyrin to inhibit human heme metabolism. *ChemRxiv. Cambridge: Cambridge Open Engage*, 2020. doi: 10.26434/chemrxiv.11938173.v9.
33. Wu Y., Huang X., Sun J., Xie T., Lei Y., Muhammad J., Li X., Zeng X., Zhou F., Qin H., Shao L., Zhang Q. Clinical characteristics and immune injury mechanisms in 71 patients with COVID-19. *mSphere*, 2020, vol. 5, no. 4: e00362-20. doi: 10.1128/mSphere.00362-20

Авторы:

Добрынина М.А., к.м.н., научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; доцент кафедры терапии Медико-биологического университета инноваций и непрерывного образования ФГБУ Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА РФ, Москва, Россия;

Зурочка А.В., д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; зав. лабораторией биотехнологий Научно-образовательного Российско-Китайского Центра системной патологии Южно-Уральского государственного университета (Научного исследовательского университета), г. Челябинск, Россия;

Комелькова М.В., д.б.н., зав. лабораторией системной патологии и перспективных лекарственных средств Научно-образовательного Российско-Китайского Центра системной патологии Южно-Уральского государственного университета (Научного исследовательского университета), г. Челябинск, Россия;

Зурочка В.А., д.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; старший научный сотрудник лаборатории биотехнологий Научно-образовательного Российско-Китайского Центра системной патологии Южно-Уральского государственного университета (Научного исследовательского университета), г. Челябинск, Россия;

Праскурничий Е.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой терапии Медико-биологического университета инноваций и непрерывного образования ФГБУ Государственный научный центр Российской Федерации — Федерального медицинского биофизического центра им. А.И. Бурназяна ФМБА РФ, Москва, Россия;

Рябова Л.В., д.м.н., доцент, профессор кафедры безопасности жизнедеятельности, медицины катастроф, скорой и неотложной медицинской помощи ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Челябинск, Россия

Сарапульцев А.П., д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии Института иммунологии и физиологии Института иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; руководитель Научно-образовательного Российско-Китайского Центра системной патологии Южно-Уральского государственного университета (Научного исследовательского университета), г. Челябинск, Россия.

Authors:

Dobrynina M.A., PhD (Medicine), Researcher, Laboratory of Immunology of the Inflammation, Institute of Immunology and Physiology, Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation; Associate Professor, Department of Internal Medicine, Medical and Biological University of Innovation and Continuing Education, State Research Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan, Federal Medical and Biological Agency of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation;

Zurochka A.V., DSc (Medicine), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Leading Researcher, Institute of Immunology and Physiology Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation; Head of the Biotechnology Laboratory, Russian-Chinese Center, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation;

Komelkova M.V., DSc (Biology), Head of the Laboratory of Systemic Pathology and Promising Medicines, Russian-Chinese Center, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation;

Zurochka V.A., DSc (Medicine), Senior Researcher, Institute of Immunology and Physiology, Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation; Senior Researcher, Biotechnology Laboratory, Russian-Chinese Center, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation;

Praskurnichiy E.A., DSc (Medicine), Professor, Head of the Department of Internal Medicine, Medical and Biological University of Innovation and Continuing Education, State Research Center of the Russian Federation — Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan, Federal Medical and Biological Agency of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation;

Ryabova L.V., DSc (Medicine), Associate Professor, Professor of the Department of Life Safety, Disaster Medicine, Emergency Medicine, South Ural State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russian Federation;

Sarapultsev A.P., DSc (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Immunopathophysiology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Regional Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation; Head of the Russian-Chinese Center, South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russian Federation.

ОЦЕНКА УРОВНЕЙ МОЛЕКУЛ TREC И KREC У БОЛЬНЫХ COVID-19 С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

М.А. Сайтгалина¹, Ю.В. Останкова¹, Н.А. Арсентьева¹, З.Р. Коробова¹, Н.Е. Любимова¹, В.А. Кашченко^{2,3}, А.Н. Куликов⁴, Д.Э. Певцов⁴, О.В. Станевич^{4,5}, Е.И. Черных², А.А. Тотолян^{1,4}

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБУ Северо-Западный окружной научно-клинический центр имени Л.Г. Соколова Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

⁵ ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. По данным ВОЗ за период пандемии COVID-19 количество зараженных превысило 765,2 млн человек. Тяжесть состояния пациентов определяется гиперактивацией иммунной системы. Значимую роль в контроле инфекционного процесса играет активация субпопуляций Т- и В-лимфоцитарных клеток. Одним из маркеров созревания функционально активных Т- и В-клеток может служить содержание в периферической крови небольших кольцевых молекул ДНК — Т-клеточных эксцизионных колец (TREC — T-cell receptor excision circles) и В-клеточных («каппа») эксцизионных колец (KREC — Kappa-deleting recombination excision circles) соответственно. Цель настоящей работы: дать количественную оценку содержания молекул TREC и KREC в периферической крови больных с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 с разной степенью тяжести течения инфекционного процесса. *Материалы и методы.* Материалом служили 1028 образцов крови от пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19 со среднетяжелым, тяжелым или крайне тяжелым течением, а также 717 образцов крови от условно здоровых добровольцев. Оценка содержания ДНК-фрагментов TREC и KREC в тотальной фракции ДНК проводили методом количественной Real-time ПЦР с использованием тест-системы «TREC/KREC-AMP PS» (ФБУН НИИ Пастера, Россия). Для биообразцов, полученных от тяжелых и крайне тяжелых больных, проводили фенотипирование клеток крови методом проточной цитометрии. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 5 и Microsoft Excel 2010. *Результаты.* Уровни TREC и/или KREC у больных COVID-19 достоверно снижены ($p < 0,0001$ при 95% ДИ). Установлена достоверная прямая корреляционная зависимость уровней молекул TREC с количеством CD45⁺CD3⁺CD19⁻ Т-клеток ($r = 0,59$, $p < 0,0001$) и уровней молекул KREC с количеством CD45⁺CD3⁻CD19⁺ В-клеток ($r = 0,66$, $p < 0,0001$) в периферической крови. Уровень молекул TREC у больных с тяжелым течением инфекционного процесса достоверно снижен по сравнению с больными средней тяжести в группах пациентов 30–39 лет ($p = 0,0404$) и 40–49 лет ($p = 0,0356$). Отрицательная корреляционная зависимость между тяжестью клинических проявлений COVID-19 и уровнем TREC в крови больных в возрастном диапазоне 30–49 лет свидетельствует о возможности применения данного анализа как диагностического

Адрес для переписки:

Сайтгалина Мария Александровна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 981 834-66-32.
E-mail: Sajgalinam@mail.ru

Contacts:

Maria A. Saitgalina
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 981 834-66-32.
E-mail: Sajgalinam@mail.ru

Для цитирования:

Сайтгалина М.А., Останкова Ю.В., Арсентьева Н.А., Коробова З.Р., Любимова Н.Е., Кашченко В.А., Куликов А.Н., Певцов Д.Э., Станевич О.В., Черных Е.И., Тотолян А.А. Оценка уровней молекул TREC и KREC у больных COVID-19 с разной степенью тяжести течения заболевания // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 873–884. doi: 10.15789/2220-7619-AOT-16937

Citation:

Saitgalina M.A., Ostankova Yu.V., Arsentieva N.A., Korobova Z.R., Liubimova N.E., Kashchenko V.A., Kulikov A.N., Pevtsov D.E., Stanevich O.V., Chernykh E.I., Totolian A.A. Assessment of TREC and KREC levels in COVID-19 patients with varying disease severity // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 873–884. doi: 10.15789/2220-7619-AOT-16937

и прогностического лабораторного маркера состояния пациента. Несложный алгоритм ПЦР-анализа делает актуальным применение описанного способа оценки состояния иммунитета коронавирусных больных в условиях системного негативного влияния вируса SARS-CoV-2 на организм человека.

Ключевые слова: TREC, KREC, COVID-19, SARS-CoV-2, иммунный статус, лабораторные маркеры.

ASSESSMENT OF TREC AND KREC LEVELS IN COVID-19 PATIENTS WITH VARYING DISEASE SEVERITY

Saitgalina M.A.^a, Ostankova Yu.V.^a, Arsentieva N.A.^a, Korobova Z.R.^a, Liubimova N.E.^a, Kashchenko V.A.^{b,c}, Kulikov A.N.^d, Pevtsov D.E.^d, Stanevich O.V.^{d,e}, Chernykh E.I.^b, Totolian A.A.^{a,d}

^a St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

^b North-Western District Scientific and Clinical Center named after L.G. Sokolov Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

^c St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

^d I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University of the Ministry of Healthcare of Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

^e Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. According to the WHO data, the number of infected people exceeded 765.2 million people during the COVID-19 pandemic. The severity of patient's condition is determined by immune system hyperactivation. Activation of T- and B-lymphocyte subsets plays a prominent role in the control of infectious process. A content of small circular DNA molecules — T-cell receptor excision circles (TREC — T-cell receptor excision circles) and B-cell (“kappa”) excision rings (KREC — Kappa-deleting recombination excision circles) — in the peripheral blood can be used as a marker of the functionally active T and B cells maturation. The purpose of this work is to quantify peripheral blood TREC and KREC level in patients with the new coronavirus infection COVID-19 of varying severity. *Materials and methods.* The material consisted of 1028 blood samples from patients with a confirmed diagnosis of COVID-19, as well as 717 blood samples from apparently healthy volunteers. The content of TREC and KREC DNA fragments in the total DNA fraction was assessed by quantitative Real-time PCR using the “TREC/KREC-AMP PS” test system (St. Petersburg Pasteur Institute, Russia). Blood cell phenotyping was carried out using flow cytometry. *Results.* TREC/KREC levels were significantly reduced in COVID-19 patients ($p < 0.0001$ at 95% CI). A significant direct correlation was established between the levels of peripheral blood TREC molecules and level of CD45⁺CD3⁺CD19⁻ T cells ($r = 0.59$, $p < 0.0001$), as well as between KREC level and count of CD45⁺CD3⁻CD19⁺ B cells ($r = 0.66$, $p < 0.0001$). The level of TREC molecules in patients with severe vs. moderate infection was significantly reduced in patients aged 30–39 years old ($p = 0.0404$) and 40–49 years old ($p = 0.0356$). The negative correlation between severity of COVID-19 clinical manifestations and TREC level in the blood of patients in 30–49 year age group indicates about an opportunity of using this analyte as a diagnostic and prognostic laboratory marker of patient's condition. A simple PCR analysis algorithm makes it relevant to use the described method for assessing a state of immunity in coronavirus patients in the context of systemic negative impact of the SARS-CoV-2 virus on human organism.

Key words: TREC, KREC, COVID-19, SARS-CoV-2, immune status, laboratory markers.

Введение

Накопленные на сегодняшний день знания о воздействии новой коронавирусной инфекции COVID-19 на организм человека, позволяют рассматривать эту инфекцию как системное заболевание, затрагивающее не только дыхательную, но и сердечно-сосудистую, желудочно-кишечную, кроветворную и иммунную системы. По данным Всемирной организации здравоохранения за период пандемии COVID-19 с марта 2020 г. по май 2023 г. количество зараженных превысило 765,2 млн человек, количество умерших вследствие инфекции — 6,9 млн человек [29].

Клиническая картина больных, инфицированных COVID-19, варьирует от бессимптомных форм до тяжелого течения. Общие особенности инфекционного процесса включают та-

кие симптомы как лихорадка, кашель, одышка, нарушения в работе желудочно-кишечного тракта, кожные проявления [9, 12, 16]. За стадией репликации вируса SARS-CoV-2 в течение нескольких дней с относительно легкими симптомами следует стадия активации адаптивного иммунного ответа, которая может вызвать внезапное клиническое ухудшение [32]. Тяжелое состояние связывают с проникновением вируса в альвеолярные эпителиальные клетки типа II, что вызывает высвобождение провоспалительных молекул. Активный синтез цитокинов привлекает нейтрофилы и Т-клетки, которые, в свою очередь, вызывают значительное повреждение и воспаление легочных тканей, что, в конечном итоге, может приводить к острому респираторному дистресс-синдрому, сопровождаться развитием шока, энцефалопатией, поражением миокарда,

сердечной недостаточностью, дисфункцией системы гемостаза, острой почечной недостаточностью [14, 24, 34, 35].

Главными факторами риска неблагоприятного исхода заболевания являются возраст, сахарный диабет, хронические легочные и сердечно-сосудистые заболевания, гипертония. По литературным данным тяжелые интерстициальные пневмонии, полиорганную и острую дыхательную недостаточность, летальные исходы вирус с большей вероятностью вызывает у лиц пожилого возраста [20, 24, 33, 35].

Ряд опубликованных исследований свидетельствует о том, что тяжесть состояния пациентов определяется гиперактивацией иммунной системы, и, как следствие, высоким уровнем цитокинов, тромбозами, множественными мононуклеарными клеточными инфильтрациями органов, тяжелыми лимфопениями [1, 2, 8, 15, 18, 19, 22, 23, 26]. В исследовании, проведенном Guan W.J. с соавт., среди 1099 госпитализированных пациентов с COVID-19 в 83% случаев наблюдались лимфопении, в 36% — тромбоцитопении, в 34% — лейкопении [11].

Поскольку значимую роль в контроле инфекционного процесса играет активация субпопуляций Т- и В-лимфоцитов, более легкое течение заболевания ассоциировано с адекватным функционированием CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов, а также В-клеточного звена иммунного ответа. Одним из маркеров созревания функционально активных Т- и В-клеток может служить содержание в периферической крови небольших кольцевых молекул ДНК — Т-клеточных эксцизионных колец (TREC — T-cell receptor excision circles) и В-клеточных («каппа») эксцизионных колец (KREC — Kappa-deleting recombination excision circles) соответственно. Молекулы TREC и KREC образуются в процессе формирования активного рецепторного гена, с которого в дальнейшем будет осуществляться синтез уникальной пептидной последовательности антиген-распознающих Т- и В-клеточных рецепторов. Для формирования такого гена в каждом лимфоците при созревании на стадии антиген-независимой дифференцировки Т-клеток в тимусе и В-клеток в костном мозге должен произойти ряд сложных генетических перестроек и рекомбинаций. Механизм перестройки повторяющихся сегментов пула рецепторных генов носит название V(D)J-реаранжировка. В ходе таких поэтапных генетических реаранжировок небольшие последовательности ДНК вырезаются из генома как побочных продукт, замыкаются в кольца (TREC и KREC) и в дальнейшем существуют в виде кольцевой эписомальной ДНК в лимфоцитах, покидающих центральные лимфоидные органы. ДНК-кольца TREC и KREC не репли-

цируются с последующими делениями клеток и, как сказано выше, могут служить маркерами образования потенциально активных Т- и В-лимфоцитов [26, 27, 28].

Учитывая вышесказанное, уровень молекул TREC и KREC в периферической крови можно рассматривать как одну из характеристик иммунного статуса пациента. Поскольку низкие уровни или отсутствие этих молекул в кровотоке свидетельствует о невозможности развития адекватных защитных реакций организма, опосредованных Т- и В-клетками, в ответ на инфекцию, количественное определение этих молекул может дать ценную диагностическую и прогностическую информацию о возможности развития осложнений и критических состояний у пациента.

Цель настоящей работы: дать количественную оценку содержания молекул TREC и KREC в периферической крови больных с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 с разной тяжестью течения инфекционного процесса.

Материалы и методы

В ходе работы было проанализировано 1028 образцов венозной крови, полученной от пациентов инфекционных отделений стационаров Клинической больницы № 122 им. Л.Г. Соколова и Университетской клиники Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова с подтвержденным диагнозом COVID-19. Образцы крови были получены от больных, инфицированных в период с мая 2021 г. по март 2022 г. В работу брали образцы крови пациентов, состояние которых характеризовалось как среднетяжелое (n = 747), тяжелое (n = 204) или крайне тяжелое (n = 77), где n — количество человек в группе (табл. 1).

В качестве контрольных в работе использовали образцы цельной крови, полученные от 717 условно здоровых добровольцев в возрасте от 18 до 108 лет в медицинском центре ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» в рамках программы оценки популяционного иммунитета жителей Санкт-Петербурга.

Критерием исключения из исследования являлось наличие у обследуемых иммунодефицита любого генеза, ВИЧ-инфекции, вирусного гепатита.

Взятие крови осуществляли в пробирку с антикоагулянтом ЭДТА. В день взятия образцы транспортировали в лабораторию молекулярной иммунологии НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера с соблюдением температурного режима +4...+8°C. Сразу после транспортировки осуществляли

Таблица 1. Группы пациентов, сформированные по возрасту и степени тяжести течения заболевания

Table 1. Patient groups formed by age and severity of the disease

Степень тяжести Severity	Число пациентов в возрастных группах, абс. (%) Number of patients in age groups, abs. (%)					
	18–29 лет 18–29 years old	30–39 лет 30–39 years old	40–49 лет 40–49 years old	50–59 лет 50–59 years old	60–69 лет 60–69 years old	> 70 лет > 70 years old
Средней тяжести Moderate	27 (96,4)	98 (88,3)	123 (75,9)	149 (76,4)	159 (65,2)	191 (66,3)
Тяжелые Severe	1 (3,6)	12 (10,8)	33 (20,4)	34 (17,4)	69 (28,3)	55 (19,1)
Крайне тяжелые Critical	0	1 (0,9)	6 (3,7)	12 (6,2)	16 (6,5)	42 (14,6)
Всего Total	28	111	162	195	244	288
Общее число пациентов: 1028 Total number of patients: 1028						

экстракцию тотальной ДНК из 250 мкл лейкоцитарной фракции крови с использованием коммерческого набора «РИБО-преп» (ЦНИИ эпидемиологии, Россия). После чего для всех образцов ДНК проводили мультиплексную Real-time ПЦР с одновременной амплификацией двух целевых фрагментов ДНК TREC, KREC, и фрагментов двух нормировочных генов HPRT и RPP30. Количественную оценку содержания молекул TREC и KREC проводили с помощью метода построения стандартных кривых с использованием тест-системы «TREC/KREC-AMP PS» (ФБУН НИИ Пастера, Россия) [5]. При анализе результатов учитывали все возможные ошибки на этапе подготовки образца тотальной ДНК, выделенной из клеток крови [6, 7].

Для фенотипирования клеток периферической крови больных, инфицированных COVID-19, использовали метод многоцветной проточной цитометрии. Для выявления популяции Т- и В-лимфоцитов 200 мкл образцов цельной крови окрашивали моноклональными антителами (МКА), мечеными флюорохромами CD45RA-FITC (Beckman Coulter, США), CD3-APC-AF750 (Beckman Coulter, США) и CD19-APC/Cy7 (BioLegend, США) соответственно, согласно инструкциям производителей. Образцы крови инкубировали с МКА при комнатной температуре в темноте в течение 10 мин, после чего лизировали эритроциты в течение 15 мин в присутствии 2 мл лизирующего раствора «VersaLyse» (Beckman Coulter, США) и 50 мкл фиксирующего раствора «IOTest 3» (Beckman Coulter, США). Затем клетки дважды промывали (7 мин, 330 г) стерильным фосфатно-солевым буфером (PBS), содержащим 2% фетальную бычью сыворотку (Sigma-Aldrich, США), инактивированную нагреванием. После чего клетки ресуспендировали в 0,5 мл PBS, содержащем 2% нейтральный забуференный раствор формалина

(Sigma-Aldrich, США). Для проведения исследования использовался проточный цитометр «Navios» (Beckman Coulter, США), оснащенный лазерами с длиной волны 405, 488, 638 нм. Для определения Т-лимфоцитов собирали не менее 20 000 событий. Для В-клеточного звена из каждого образца было собрано не менее 5000 CD19⁺ В-клеток.

Фенотипирование лимфоцитов было проведено для образцов крови, полученных от тяжелых и крайне тяжелых больных, наблюдавшихся в инфекционном отделении Университетской клиники Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения GraphPad Prizm 5 и Microsoft Excel 2010. Нормальность распределения полученных числовых данных проверяли с помощью двух критериев: Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. Корреляционный анализ проводили с расчетом коэффициента Спирмена, значение которого оценивали по шкале Чеддока. Для сравнения независимых выборок применяли критерии Манна–Уитни, Краскела–Уоллиса, тест Данна, а также ROC-анализ с вычислением значения площади под ROC-кривой (AUC — Area Under the Curve).

Результаты и обсуждение

Ранее была установлена отрицательная корреляционная зависимость уровня молекул TREC в периферической крови с возрастом у условно здоровых людей старше 18 лет. В контрольной выборке было выделено шесть возрастных групп людей с интервалом в десять лет, для которых показаны достоверные различия в количественном содержании молекул TREC: 18–29 лет, 30–39 лет, 40–49 лет, 50–59 лет, 60–69 лет и лица старше 70 лет. Было показано от-

сутствие корреляционной зависимости молекул KREC с возрастом и установлены границы референсных интервалов для уровней TREC и KREC [3].

Для всех возрастных групп кроме самой младшей (18–29 лет) уровень молекул TREC у больных COVID-19 был достоверно снижен согласно U-критерию Манна–Уитни ($p < 0,0001$ при 95% ДИ). Уровень молекул KREC у больных также был достоверно снижен ($p < 0,0001$ при 95% ДИ).

На рис. 1 и 2 показаны диаграммы сравнения медианных значений параметров TREC и KREC в образцах, полученных от больных с новой коронавирусной инфекцией, и в контрольных образцах. В табл. 2 указаны значения медиан уровней TREC для всех описываемых выборок.

Установлена достоверная прямая корреляционная зависимость уровней молекул TREC с количеством $CD45^+CD3^+CD19^-$ Т-клеток (коэффициент корреляции Спирмена $r = 0,59$, $p < 0,0001$), а также уровней молекул KREC с количеством $CD45^+CD3^+CD19^+$ В-клеток в периферической крови ($r = 0,66$, $p < 0,0001$). На рис. 3 и 4 представлен корреляционный анализ уровней эксцизионных колец и лимфоцитов соответствующего фенотипа.

Корреляционные коэффициенты r , указанные на рис. 3 и 4, превышающие значение 0,5, свидетельствуют об умеренной положительной связи сравниваемых параметров.

Самой многочисленной из выделенных групп пациентов являлась группа с возрастом больных старше 70 лет. Из табл. 1 видно, что чем выше возраст пациентов, тем больше наблюдалось тяжелых и крайне тяжелых случаев течения инфекции. Так в возрастной группе > 70 лет 14,6% всех пациентов характеризовались крайне тяжелым состоянием. В то время как в группе 18–29 лет крайне тяжелых случаев не наблюдалось совсем.

Среди пациентов старше 70 лет в тяжелом состоянии в 69,1% случаев уровни молекул TREC/KREC были снижены относительно возрастной нормы. В 16,4% случаев у таких пациентов были одновременно снижены TREC и KREC. В группе крайне тяжелых больных старше 70 лет уровни TREC/KREC находились ниже возрастной нормы у 71,4% пациентов, одновременно сниженные уровни TREC и KREC были установлены у 21,4% больных (рис. 5).

Значения корреляционных коэффициентов Спирмена позволяют утверждать, что пол пациента не влияет ни на степень тяжести болезни ($r = -0,066$), ни на уровни молекул TREC ($r = -0,083$) и KREC ($r = 0,026$) в периферической крови.

Присутствует достоверная слабая отрицательная корреляционная зависимость между

тяжестью течения заболевания и уровнями молекул TREC в образцах крови пациентов ($r = -0,153$; $p = 0,000002$). Однако модуль коэффициента корреляции принимает значение близкое к 0,1, что позволяет говорить лишь об очень слабой взаимосвязи. При этом достоверной зависимости значений аналита KREC от тяжести течения инфекции не выявлено.

На рис. 6, 7 и 8 изображены доли пациентов с уровнями молекул TREC, KREC и одновременно TREC и KREC соответственно, ниже нормы у групп больных с разной степенью тяжести инфекционного процесса. На рис. 9 отображены доли пациентов разных по тяжести инфекции COVID-19, у которых хотя бы один целевой аналит был снижен.

Сравнение медиан числовых значений параметров TREC и KREC в пределах каждой возрастной группы между выборками пациентов разных по степени тяжести течения инфекционного процесса с применением критерия Краскела–Уоллиса и теста Данна позволило установить, что уровень молекул TREC в группе пациентов 30–39 лет у больных с тяжелым течением инфекционного процесса достоверно ниже по сравнению с больными средней тяжести ($p = 0,0404$). Аналогично для возрастной группы 40–49 лет: уровень TREC у больных с тяжелым течением болезни достоверно ниже по сравнению с пациентами средней тяжести ($p = 0,0356$). Однако в возрастных группах 50–59 лет, 60–69 лет и более 70 лет достоверных различий в значениях TREC между пациентами с разной степенью тяжести инфекционного процесса не выявлено.

На рис. 10 приведены ROC-кривые, полученные при сравнении значений TREC между выборками среднетяжелых и тяжелых больных внутри возрастных групп 30–39 лет ($AUC = 0,69$), 40–49 лет ($AUC = 0,63$), 50–59 лет ($AUC = 0,54$).

При сравнении выборок среднетяжелых и тяжелых пациентов 30–39 лет площадь под ROC-кривой равнялась 0,69. Пороговое значение TREC в точке cut-off составило 22,07 копий/ 10^5 клеток. Развитие критических состояний прогнозировалось при значении TREC ниже данной величины или равной ей. Чувствительность и специфичность модели составили 81,63 и 45,45% соответственно.

При сравнении среднетяжелых и тяжелых пациентов 40–49 лет площадь под ROC-кривой равнялась 0,63. Пороговое значение TREC в точке cut-off — 17,67 копий/ 10^5 клеток. Чувствительность и специфичность модели — 65,85 и 57,69% соответственно.

Полученные результаты соотносятся с литературными данными о снижении абсолютного числа лимфоцитов в подавляющем большинстве случаев в крови больных с тяжелыми

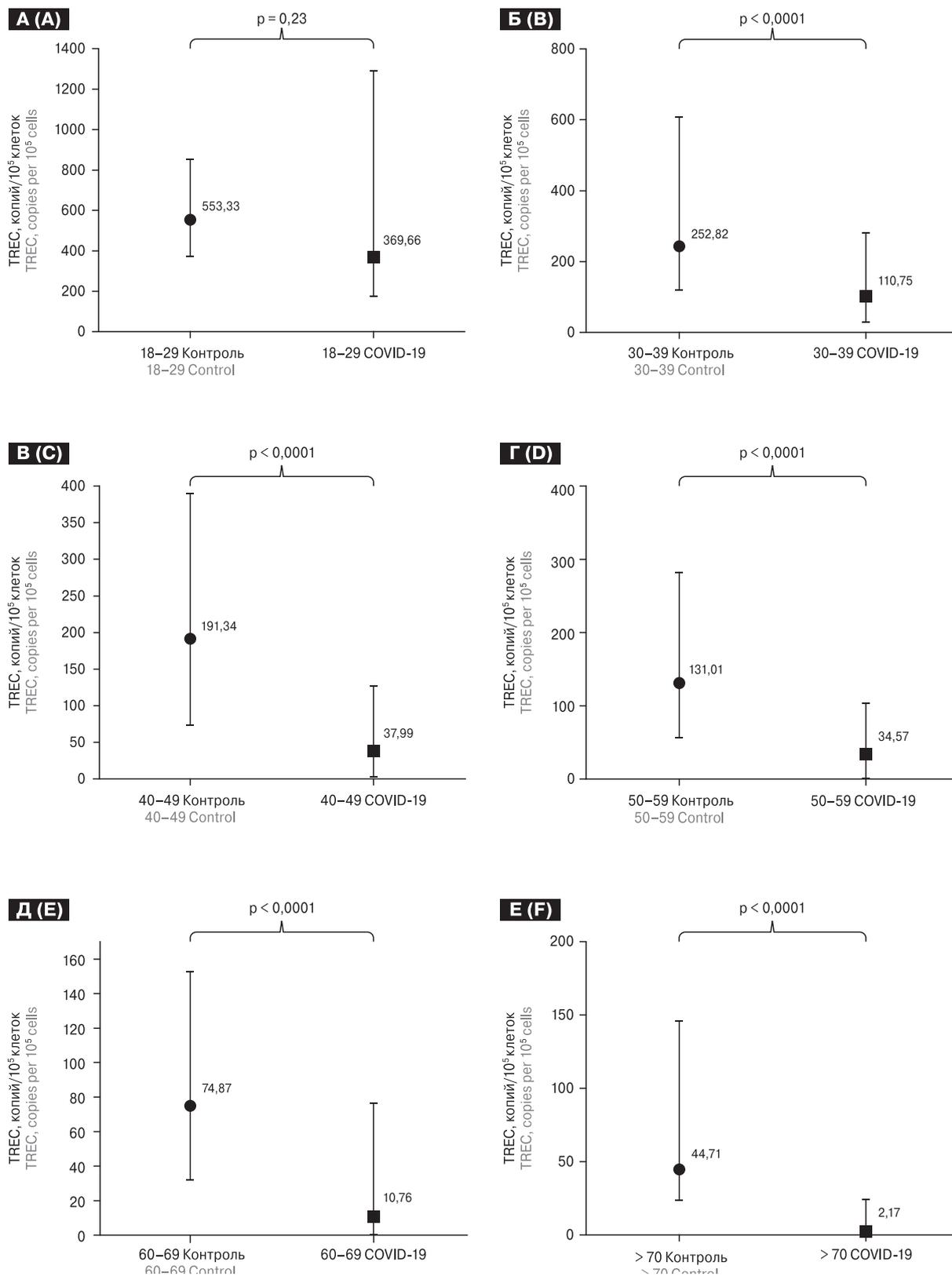


Рисунок 1. Сравнение уровней молекул TREC у больных COVID-19 и контрольных групп

Figure 1. Comparison of TREC levels in COVID-19 patients and control groups

Примечание. А) 18–29 лет; Б) 30–39 лет; В) 40–49 лет; Г) 50–59 лет; Д) 60–69 лет; Е) > 70 лет. На диаграммах указаны медианные значения с интерквартильным размахом.

Note. А) 18–29 years old; Б) 30–39 years old; В) 40–49 years old; Д) 50–59 years old; Е) 60–69 years old; F) > 70 years old. The graphs show median values with interquartile range.

формами COVID-19 [4, 11, 24, 26]. В некоторых проведенных ранее исследованиях сообщается, что рецептор АПФ-2 экспрессируется в том числе на мембранах гемопоэтических стволовых клеток и на небольшой доле лимфоцитов (< 5,0%) [31]. Нарушения лимфопоэза могут быть связаны с прямым поражением вирусом SARS-CoV-2 клеток-предшественников лимфоцитов в костном мозге или тимусе до инициации процессов антиген-независимой дифференцировки и формирования молекул TREC/KREC, что приводит к детекции их сниженных уровней. Кроме того, описаны АПФ-независимые пути негативного воздействия вируса SARS-CoV-2 на лимфоцитарные функции. Например, повышенная экспрессия хемокинов CXCL10/IP-10 и CCL2/MCP-1, зафиксированная в мононуклеарах периферической крови больных, способна подавлять развитие гемопоэтических клеток-предшественников [17, 25, 31]. Описано подавление лимфопоэза посредством прямого воздействия молекул IL-6 на гемопоэтические стволовые клетки/клетки-предшественники, установлена прямая зависимость между количеством IL-6 и тяжестью заболевания [9, 13, 17, 30].

Выявленная нами отрицательная корреляционная зависимость между тяжестью клинических проявлений инфекции COVID-19 и уровнем молекул TREC в крови пациентов в возрастном диапазоне 30–49 лет говорит о возможности применения данного параметра как диагностического и прогностического ла-

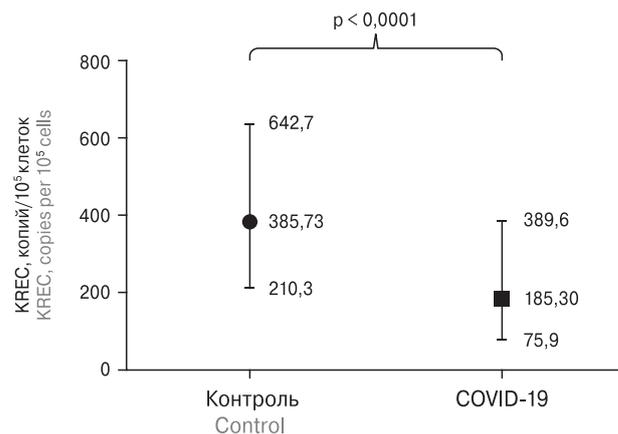


Рисунок 2. Сравнение уровней молекул KREC у больных COVID-19 и контрольной группы

Figure 2. Comparison of KREC levels in COVID-19 patients and controls

Примечание. На диаграмме представлены медианные значения с интерквартильным размахом. Числами обозначены значения медиан, нижнего (Q_{25}) и верхнего квартилей (Q_{75}).

Note. The graph shows median values with interquartile range. The numbers indicate the values of medians, lower (Q_{25}) and upper quartiles (Q_{75}).

бораторного показателя состояния пациента. Однако применение такого лабораторного теста может быть ограничено возрастными особенностями. Как известно, с увеличением возраста человека функция тимуса истощается, обновление Т-лимфоцитов замедляется, следовательно, количество циркулирующих молекул TREC

Таблица 2. Значения медиан уровней TREC

Table 2. Median TREC levels

Группы сравнения Comparison groups		Количество добровольцев (n) Number of volunteers (n)	TREC Медиана (Q_{25} ; Q_{75}) TREC Median (Q_{25} ; Q_{75})	P-value, полученные при сравнении групп с применением критерия Манна–Уитни P-values obtained compared by using the Mann–Whitney U-test
18–29 лет 18–29 years old	Контроль Control	120	553,3 (372,0; 854,5)	0,2283
	COVID-19	28	369,7 (173,0; 1293,0)	
30–39 лет 30–39 years old	Контроль Control	118	248,9 (113,5; 595,0)	< 0,0001
	COVID-19	111	110,8 (27,9; 283,8)	
40–49 лет 40–49 years old	Контроль Control	132	191,3 (72,1; 391,4)	< 0,0001
	COVID-19	162	38,0 (2,4; 127,5)	
50–59 лет 50–59 years old	Контроль Control	135	131,1 (56,3; 283,2)	< 0,0001
	COVID-19	195	34,6 (0,3; 104,8)	
60–69 лет 60–69 years old	Контроль Control	111	74,9 (31,5; 153,2)	< 0,0001
	COVID-19	244	10,8 (0,0; 76,8)	
> 70 лет over 70 years old	Контроль Control	101	44,7 (23,4; 146,3)	< 0,0001
	COVID-19	288	2,2 (0,0; 24,8)	

в крови становится значительно меньше. По-видимому, естественное угасание работы тимуса усугубляется действием инфекционных процессов. В таких случаях не всегда есть возможность установить разницу в содержании молекул TREC у здоровых людей и инфицированных больных.

Что касается В-клеток, по некоторым данным содержание В-лимфоцитов в крови у пациентов с тяжелой формой COVID-19 является снижен-

ным по сравнению с легкой или умеренной формой. Однако в других работах значимых различий в количествах В-клеток крови между формами проявления заболевания не установлено [17, 21].

Заключение и выводы

Количественный ПЦР-анализ молекул TREC и KREC в крови больных с новой коронавирусной инфекцией COVID-19 позволяет дать оценку

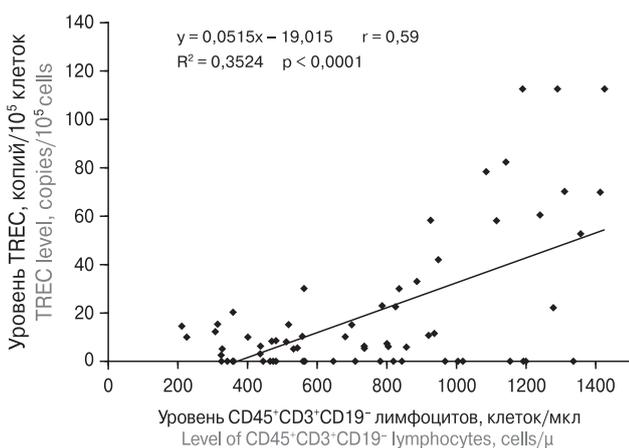


Рисунок 3. Корреляция уровней молекул TREC с уровнем CD45⁺CD3⁺CD19⁻ лимфоцитов в крови тяжелых и крайне тяжелых больных COVID-19

Figure 3. A correlation between peripheral blood TREC and CD45⁺CD3⁺CD19⁻ lymphocyte levels in severe and critical COVID-19 patients

Примечание. На диаграмме представлено уравнение аппроксимирующей функции, коэффициент достоверности аппроксимации (R²), корреляционный коэффициент Спирмена (r) и критерий уровня значимости p-value. Note. The diagram shows the equation for approximating function, approximation reliability coefficient (R²), Spearman correlation coefficient (r) and p-value criterion.

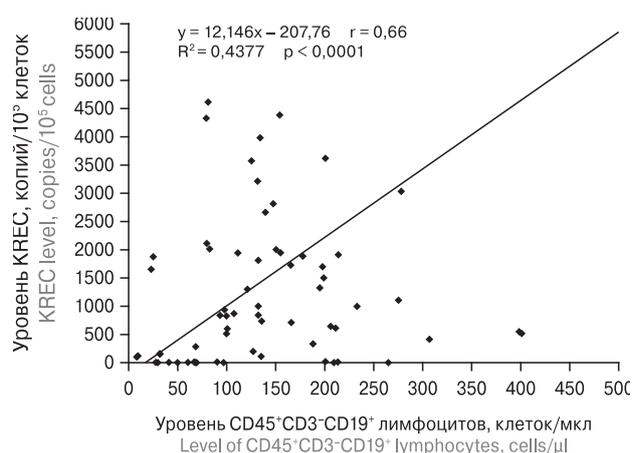


Рисунок 4. Корреляция уровней молекул KREC с уровнем CD45⁺CD3⁻CD19⁺ лимфоцитов в крови тяжелых и крайне тяжелых больных COVID-19

Figure 4. A correlation between KREC and CD45⁺CD3⁻CD19⁺ lymphocytes levels in the blood of severe and critical COVID-19 patients

Примечание. На диаграмме представлено уравнение аппроксимирующей функции, коэффициент достоверности аппроксимации (R²), корреляционный коэффициент Спирмена (r) и критерий уровня значимости p-value. Note. The diagram shows the equation of approximating function, approximation reliability coefficient (R²), Spearman correlation coefficient (r) and p-value criterion.

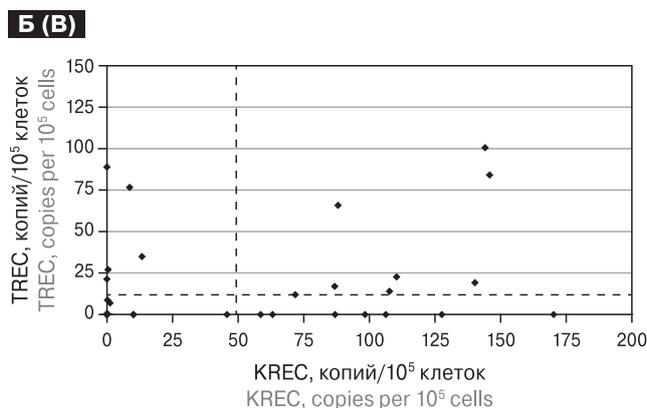
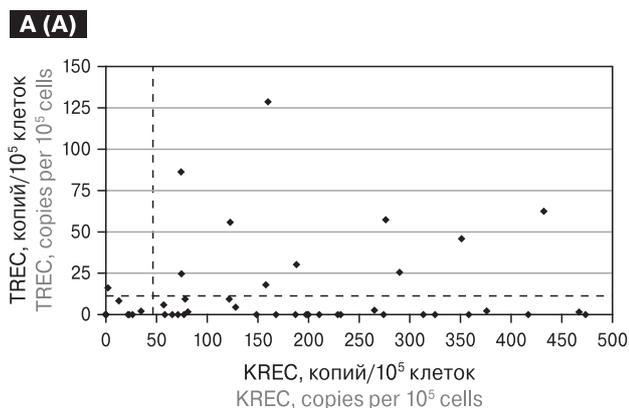


Рисунок 5. Распределение уровней молекул TREC и KREC у пациентов старше 70 лет с инфекцией COVID-19

Figure 5. Distribution of TREC and KREC levels in COVID-19 patients over 70 years of age

Примечание. А) в тяжелом состоянии; Б) в крайне тяжелом состоянии. Пунктирные линии отделяют значения, находящиеся ниже установленных норм TREC/KREC.

Note. А) severe condition; Б) critical condition. Dashed lines separate values below the established TREC/KREC norms.

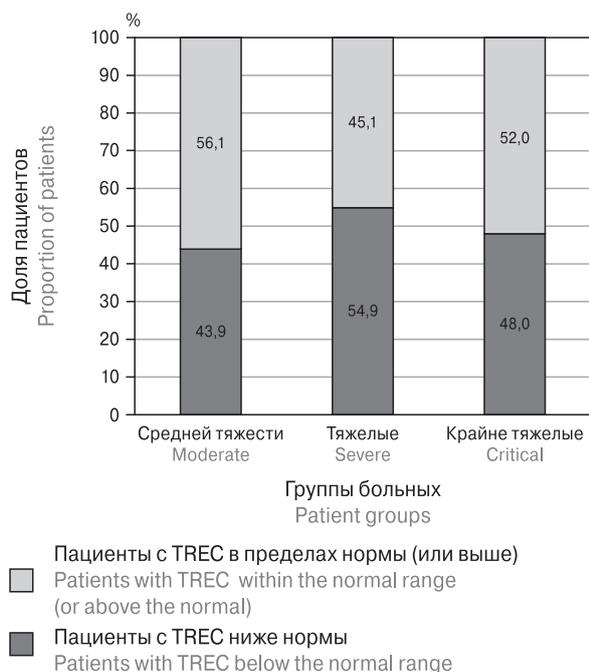


Рисунок 6. Доли пациентов с разной степенью тяжести течения инфекционного процесса COVID-19 со сниженными уровнями TREC

Figure 6. Proportion of patients with varying COVID-19 severity and reduced TREC levels

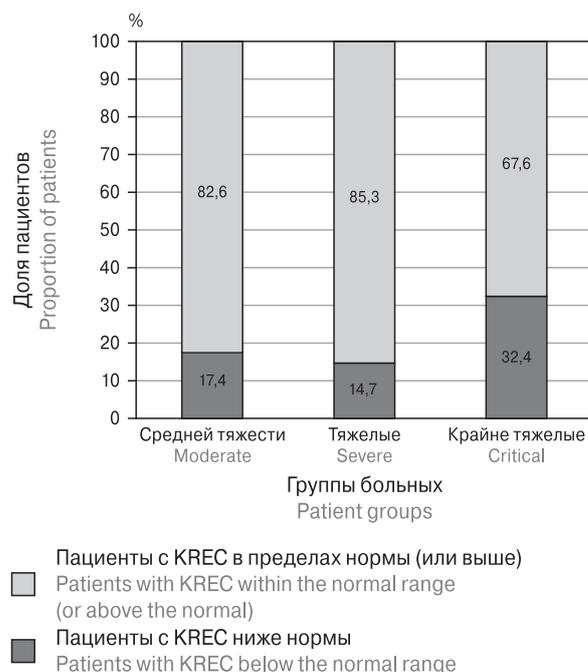


Рисунок 7. Доли пациентов с разной степенью тяжести течения инфекционного процесса COVID-19 со сниженными уровнями KREC

Figure 7. Proportion of patients with varying COVID-19 severity and reduced KREC levels

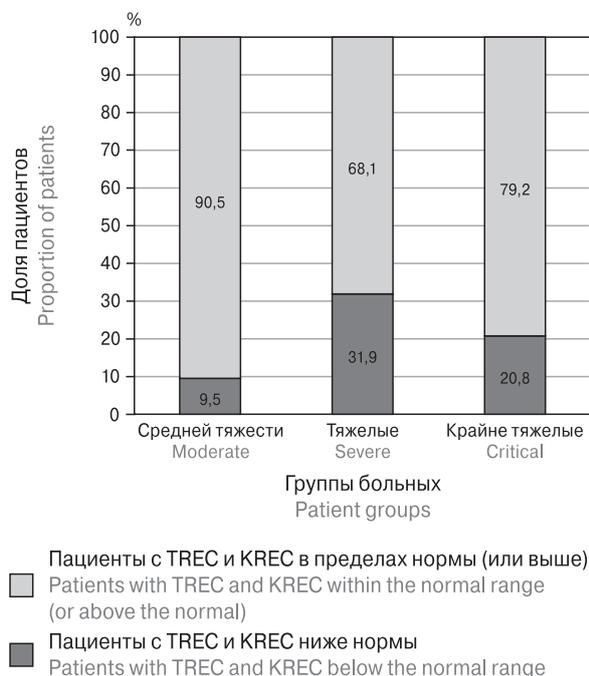


Рисунок 8. Доли пациентов с разной степенью тяжести течения инфекционного процесса COVID-19 с сочетанным снижением уровней TREC и KREC

Figure 8. Proportion of patients with varying COVID-19 severity and combined TREC/KREC decreased levels

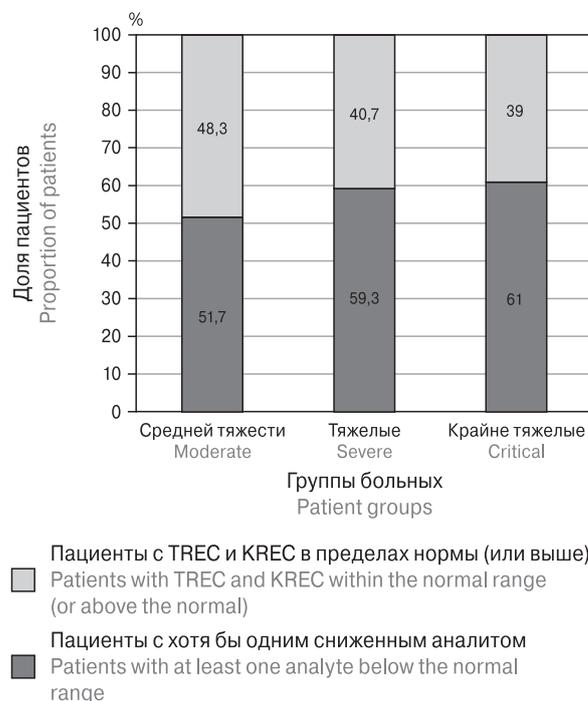


Рисунок 9. Доли пациентов с разной степенью тяжести течения инфекционного процесса COVID-19, у которых снижен хотя бы один целевой анализ

Figure 9. The proportion of patients with varying COVID-19 severity and decreased at least one target analyte

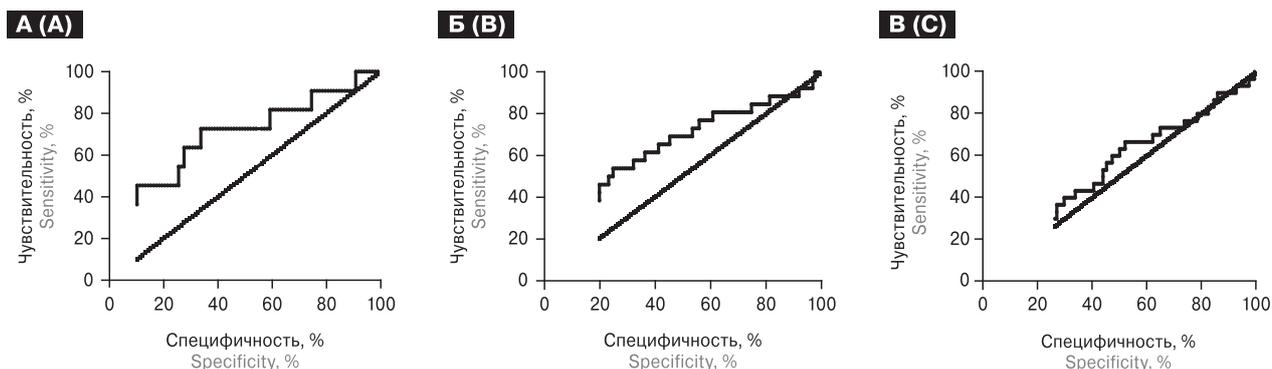


Рисунок 10. ROC-кривые, полученные при сравнении значений TREC между выборками пациентов со среднетяжелым и тяжелым состоянием

Figure 10. ROC curves obtained by comparing TREC levels between patients with moderate and severe condition

Примечание. А) возрастной группы 30–39 лет; Б) возрастной группы 40–49 лет; В) возрастной группы 50–59 лет (достоверных различий нет).

Note. A) 30–39-year-old age group; B) 40–49-year-old age group; C) 50–59-year-old age group (no significant differences).

функциональной активности Т- и В-клеточного звена иммунитета, и, как следствие, своевременно выявлять пациентов, нуждающихся в особом внимании, и применять превентивные меры, способствующие снижению числа летальных исходов. Несложный алгоритм ПЦР-анализа дела-

ет актуальным применение описанного способа оценки состояния иммунитета коронавирусных больных в условиях стремительного распространения вируса SARS-CoV-2, его системного негативного влияния на организм и тяжестью возможных осложнений у пациентов.

Список литературы/References

1. Арсентьева Н.А., Любимова Н.Е., Бациунов О.К., Коробова З.Р., Станевич О.В., Лебедева А.А., Воробьев Е.А., Воробьева С.В., Куликов А.Н., Лиюзов Д.А., Шарапова М.А., Певцов Д.Э., Тотолян А.А. Цитокины в плазме крови больных COVID-19 в острой фазе заболевания и фазе полного выздоровления // Медицинская иммунология. 2021. Т. 23, № 2. С. 311–326. [Arsentieva N.A., Liubimova N.E., Batsunov O.K., Korobova Z.R., Stanevich O.V., Lebedeva A.A., Vorobyov E.A., Vorobyova S.V., Kulikov A.N., Lioznov D.A., Sharapova M.A., Pevtsov D.E., Totolian A.A. Plasma cytokines in patients with COVID-19 during acute phase of the disease and following complete recovery. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2021, vol. 23, no. 2, pp. 311–326. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-pci-2312
2. Кудрявцев И.В., Головкин А.С., Тотолян Арег А. Т-хелперы и их клетки-мишени при COVID-19 // Инфекция и иммунитет. Т. 12, № 3. С. 409–426. [Kudryavtsev I.V., Golovkin A.S., Totolian Areg A. T helper cell subsets and related target cells in acute COVID-19. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 3, pp. 409–426. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-thc-1882022
3. Сайтгалина М.А., Любимова Н.Е., Останкова Ю.В., Кузнецова Р.Н., Тотолян Арег А. Определение референтных интервалов циркулирующих в крови эксцизионных колец TREC и KREC у лиц старше 18 лет // Медицинская иммунология. 2022. Т. 24, № 6. С. 1227–1236. [Saitgalina M.A., Liubimova N.E., Ostankova Yu.V., Kuznetsova R.N., Totolian A.A. Determination of reference values for TREC and KREC in circulating blood of the persons over 18 years. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2022, vol. 24, no. 6, pp. 1227–1236. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-dor-2587
4. Сайтгалина М.А., Останкова Ю.В., Арсентьева Н.А., Коробова З.Р., Любимова Н.Е., Кашенко В.А., Куликов А.Н., Певцов Д.Э., Станевич О.В., Черных Е.И., Тотолян А.А. Значимость определения уровней молекул TREC и KREC в периферической крови для прогноза исхода заболевания COVID-19 в острый период // Российский иммунологический журнал. 2023, Т. 26, № 4. С. 611–618. [Saitgalina M.A., Ostankova Yu.V., Arsentieva N.A., Korobova Z.R., Lyubimova N.E., Kashchenko V.A., Kulikov A.N., Pevtsov D.E., Stanevich O.V., Chernykh E.I., Totolian A.A. Levels of TREC and KREC molecules significance determining in peripheral blood for predicting the outcome of COVID-19 disease in the acute period. *Rossiiskii immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2023, vol. 26, no. 4, pp. 611–618. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-14714-lot
5. Сайтгалина М.А., Останкова Ю.В., Любимова Н.Е., Семенов А.В., Кузнецова Р.Н., Тотолян А.А. Модифицированный метод количественного определения уровней TREC и KREC в периферической крови у больных с иммунодефицитными состояниями // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 5. С. 981–996. [Saitgalina M.A., Ostankova Yu.V., Liubimova N.E., Semenov A.V., Kuznetsova R.N., Totolian A.A. Modified quantitative approach for assessing peripheral blood TREC and KREC levels in immunodeficient patients. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 5, pp. 981–996. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-mmf-2039
6. Сайтгалина М.А., Останкова Ю.В., Седых А.В., Тотолян Арег А. Особенности преаналитического этапа при количественном определении TREC/KREC в периферической крови // Медицинская иммунология. 2023. Т. 25, № 6. С. 1441–1452. [Saitgalina M.A., Ostankova Yu.V., Sedykh A.V., Totolian Areg A. Features of the preanalytical stage in the quantitative determination of TREC/KREC in peripheral blood. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2023, vol. 25, no. 6, pp. 1441–1452. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-fof-2909

7. Седых А.В., Сайтгалина М.А., Останкова Ю.В., Тотолян Арег А. Сравнительный анализ наборов реагентов для выделения ДНК из сухих пятен крови // Медицинская иммунология. 2023. Т. 25, № 6. С. 1453–1462. [Sedykh A.V., Saitgalina M.A., Ostankova Yu.V., Totolian Areg A. Comparative analysis of reagent kits for DNA extraction from dried blood spots. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2023, vol. 25, no. 6, pp. 1453–1462. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-cao-2895
8. Bakin E.A., Stanevich O.V., Chmelevsky M.P., Belash V.A., Belash A.A., Savateeva G.A., Bokinova V.A., Arsentieva N.A., Sayenko L.F., Korobenko E.A., Lioznov D.A., Totolian A.A., Polushin Yu.S., Kulikov A.N. A novel approach for COVID-19 patient condition tracking: from instant prediction to regular monitoring. *Front. Med. (Lausanne)*, 2021, vol. 8: 744652. doi: 10.3389/fmed.2021.744652
9. Chen R., Yu Y., Li W., Liu Y., Lu J., Chen F., Zhou Q., Xia Zh., Gao L., Meng Q., Ma D. Gastrointestinal symptoms associated with unfavorable prognosis of COVID-19 patients: a retrospective study. *Front. Med.*, 2020, vol. 7: 608259. doi: 10.3389/fmed.2020.608259
10. Cheung C.Y., Poon L.L., Ng I.H., Luk W., Sia S.F., Wu M.H., Chan K.H., Yuen K.Y., Gordon S., Guan Y., Peiris J.S. Cytokine responses in severe acute respiratory coronavirus-infected macrophages in vitro: possible relevance to pathogenesis. *J. Virol.*, 2005, vol. 79, no. 12, pp. 7819–7826. doi: 10.1128/jvi.79.12.7819-7826.2005
11. Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y., Liang W.H., Ou C.Q., He J.X.; China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical characteristics of Coronavirus disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.*, 2020, vol. 382, no. 18, pp. 1708–1720. doi: 10.1056/nejmoa2002032
12. Guarneri C., Venanzi R.E., Gallizzi R., Ceccarelli M., Cannavò S.P., Nunnari G. Diversity of clinical appearance of cutaneous manifestations in the course of COVID-19. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2020, vol. 34, no. 9, pp. e449–e450. doi: 10.1111/jdv.16669
13. Gubernatorova E.O., Gorshkova E.A., Polinova A.I., Drutskaya M.S. IL-6: relevance for immunopathology of SARS-CoV-2. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2020, vol. 53, pp. 13–24. doi: 10.1016/j.cytogfr.2020.05.009
14. Habas K., Nganwuchu C., Shahzad F., Gopalan R., Haque M., Rahman S., Majumder A.A., Nasim T. Resolution of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.*, 2020, vol. 18, no. 12, pp. 1201–1211. doi: 10.1080/14787210.2020.1797487
15. Hu B., Huang S., Yin L. The cytokine storm and COVID-19. *J. Med. Virol.*, 2021, vol. 93, no. 1, pp. 250–256. doi: 10.1002/jmv.26232
16. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y., Zhang L., Fan G., Xu J., Gu X., Cheng Z., Yu T., Xia J., Wei Y., Wu, Xie X., Yin W., Li H., Liu M., Xiao Y., Gao H., Guo L., Xie J., Wang G., Jiang R., Gao Z., Jin Q., Wang J., Cao B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, 2020, vol. 395, no. 10223, pp. 497–506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5
17. Jafarzadeh A., Jafarzadeh S., Nozari P., Mokhtari P., Nemati M. Lymphopenia an important immunological abnormality in patients with COVID-19: possible mechanisms. *Scand. J. Immunol.*, 2021, vol. 93, no. 2: e12967. doi: 10.1111/sji.12967
18. Korobova Z.R., Zueva E.V., Arsentieva N.A., Batsunov O.K., Liubimova N.E., Khamitova I.V., Kuznetsova R.N., Rubinstein A.A., Savin T.V., Stanevich O.V., Kulikov A.N., Pevtsov D.E., Totolian A.A. Changes in anti-SARS-CoV-2 IgG subclasses over time and in association with disease severity. *Viruses*, 2022, vol. 14, no. 5: 941. doi: 10.3390/v14050941
19. Kudryavtsev I.V., Arsentieva N.A., Batsunov O.K., Korobova Z.R., Khamitova I.V., Isakov D.V., Kuznetsova R.N., Rubinstein A.A., Stanevich O.V., Lebedeva A.A., Vorobyov E.A., Vorobyova S.V., Kulikov A.N., Sharapova M.A., Pevtsov D.E., Totolian A.A. Alterations in B cell and follicular T-helper cell subsets in patients with acute COVID-19 and COVID-19 convalescents. *Curr. Issues Mol. Biol.*, 2022, vol. 44, no. 1, pp. 194–205. doi: 10.3390/cimb44010014
20. Li B., Yang J., Zhao F., Zhi L., Wang X., Liu L., Bi Z., Zhao Y. Prevalence and impact of cardiovascular metabolic diseases on COVID-19 in China. *Clin. Res. Cardiol.*, 2020, vol. 109, no. 5, pp. 531–538. doi: 10.1007/s00392-020-01626-9
21. Lin L., Lu L., Cao W., Li T. Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection—a review of immune changes in patients with viral pneumonia. *Emerg. Microbes Infect.*, 2020, vol. 9, no. 1, pp. 727–732. doi: 10.1080/22221751.2020.1746199
22. Mehta P., McAuley D.F., Brown M., Sanchez E., Tattersall R.S., Manson J.J. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet*, 2020, vol. 395, no. 10229, pp. 1033–1034. doi: 10.1016/s0140-6736(20)30628-0
23. Merad M., Martin J.C. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages. *Nat. Rev. Immunol.*, 2020, vol. 20, no. 7, pp. 355–362. doi: 10.1038/s41577-020-0353-y
24. Pascarella G., Strumia A., Pilięo C., Bruno F., Del Buono R., Costa F., Scarlata S., Agrò F.E. COVID-19 diagnosis and management: a comprehensive review. *J. Intern. Med.*, 2020, vol. 288, no. 2, pp. 192–206. doi: 10.1111/joim.13091
25. Ratajczak M.Z., Kucia M. SARS-CoV-2 infection and overactivation of Nlrp3 inflammasome as a trigger of cytokine “storm” and risk factor for damage of hematopoietic stem cells. *Leukemia*, 2020, vol. 34, no. 7, pp. 1726–1729. doi: 10.1038/s41375-020-0887-9
26. Savchenko A.A., Tikhonova E., Kudryavtsev I., Kudlay D., Korsunsky I., Beleniuk V., Borisov A. TREC/KREC levels and T and B lymphocyte subpopulations in COVID-19 patients at different stages of the disease. *Viruses*, 2022, vol. 14, no. 3: 646. doi: 10.3390/v14030646
27. Serana F., Chiarini M., Zanotti C., Sottini A., Bertoli D., Bosio A., Caimi L., Imberti L. Use of V(D)J recombination excision circles to identify T- and B-cell defects and to monitor the treatment in primary and acquired immunodeficiencies. *J. Transl. Med.*, 2013, vol. 11: 119 doi: 10.1186/1479-5876-11-119
28. Van Zelm M., Van der Burg M., Langerak A., Van Dongen J. PID comes full circle: applications of V(D)J recombination excision circles in research, diagnostics and newborn screening of primary immunodeficiency disorders. *Front. Immunol.*, 2011, vol. 2: 12. doi: 10.3389/fimmu.2011.00012
29. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. URL: <https://covid19.who.int> (04.10.2023)
30. Wong C.K., Lam C.W., Wu A.K., Ip W.K., Lee N.L., Chan I.H., Lit L.C., Hui D.S., Chan M.H., Chung S.S., Sung J.J. Plasma inflammatory cytokines and chemokines in severe acute respiratory syndrome. *Clin. Exp. Immunol.*, 2004, vol. 136, no. 1, pp. 95–103. doi: 10.1111/j.1365-2249.2004.02415.x
31. Xu H., Zhong L., Deng J., Peng J., Dan H., Zeng X., Li T., Chen Q. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *Int. J. Oral Sci.*, 2020, vol. 12, no. 1: 8. doi: 10.1038/s41368-020-0074-x
32. Xu Z., Shi L., Wang Y., Zhang J., Huang L., Zhang C., Liu S., Zhao P., Liu H., Zhu L., Tai Y., Bai C., Gao T., Song J., Xia P., Dong J., Zhao J., Wang F.-S. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir. Med.*, 2020, vol. 8, no. 4, pp. 420–422. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X

33. Yang J., Zheng Y., Gou X., Pu K., Chen Z., Guo Q., Ji R., Wang H., Wang Y., Zhou Y. Prevalence of comorbidities and its effects in patients infected with SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Infect. Dis.*, 2020, vol. 94, pp. 91–95. doi: 10.1016/j.ijid.2020.03.017
34. Yuki K., Fujiogi M., Koutsogiannaki S. COVID-19 pathophysiology: a review. *Clin. Immunol.*, 2020, vol. 215: 108427. doi: 10.1016/j.clim.2020.108427
35. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Z., Xiang J., Wang Y., Song B., Gu X., Guan L., Wei Y., Li H., Wu X., Xu J., Tu S., Zhang Y., Chen H., Cao B. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*, 2020, vol. 395, no. 10229, pp. 1054–1062. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3

Авторы:

Сайтгалина М.А., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Останкова Ю.В., к.б.н., зав. лабораторией иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции; старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Арсентьева Н.А., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Коробова З.Р., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Любимова Н.Е., к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Кащенко В.А., д.м.н., профессор, зам. генерального директора по научно-образовательной работе ФГБУ Северо-Западный окружной научно-клинический центр им. Л.Г. Соколова ФМБА, Санкт-Петербург, Россия; зав. кафедрой факультетской хирургии ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

Куликов А.Н., д.м.н., профессор, зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Певцов Д.Э., к.м.н., руководитель отделения переливания крови, врач-трансфузиолог НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Станевич О.В., врач-инфекционист отдела эпидемиологии клиник ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Черных Е.И., д.м.н., врач-терапевт приемного отделения ФГБУ Северо-Западный окружной научно-клинический центр им. Л.Г. Соколова ФМБА, Санкт-Петербург, Россия;

Тотolian А.А., академик РАН, д.м.н., профессор, директор ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; зав. кафедрой иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Saitgalina M.A., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Ostankova Yu.V., PhD (Biology), Head of the Laboratory of HIV Immunology and Virology; Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Arsentieva N.A., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Korobova Z.R., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Liubimova N.E., PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Kashchenko V.A., DSc (Medicine), Professor, Deputy-Director for Scientific and Educational Work, North-Western District Scientific and Clinical Center named after L.G. Sokolov, Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation; Head of the Department of Faculty Surgery, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation;

Kulikov A.N., DSc (Medicine), Professor, Head of the Department of Propaedeutics of Internal Diseases, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;

Pevtsov D.E., PhD (Medicine), Transfusiologist, Head of the Blood Transfusion Department, Raisa Gorbacheva Memorial Research Institute of Children Oncology, Hematology and Transplantation, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;

Stanevich O.V., Infectious Disease Physician, Department of Epidemiology of Clinics, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;

Chernykh E.I., DSc (Medicine), Admitting Physician, North-Western District Scientific and Clinical Center named after L.G. Sokolov, Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation;

Totolian A.A., RAS Full Member, PhD, MD (Medicine), Professor, Director, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Head of the Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation.

AN UMBRELLA REVIEW ON TREATMENTS AND THERAPEUTIC OPTIONS FOR COVID-19

S. SeyedAlinaghi^a, A.M. Afsahi^b, A. Molla^c, P. Mirzapour^a, R. Shahidi^c, H. Siami^d, F.F. Rad^e, F. Abbaspour^e, N. Mozafari^c, K. Fakhredini^f, E. Mehraeen^g, O. Dadras^h

^a Iranian Research Center for HIV/AIDS (IRCHA), Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

^b University of California, San Diego, California, USA

^c Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

^d Islamic Azad University, Tehran, Iran

^e Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

^f Behavioral Diseases Research Center, Health Institute, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

^g Khalkhal University of Medical Sciences, Khalkhal, Iran

^h University of Bergen, Norway

Abstract. *Introduction.* As the COVID-19 pandemic continues to pose a significant challenge to global health, effective therapeutic options for preventing and treating the disease have become increasingly important. We aimed to provide an update on current treatments and therapeutic options for COVID-19 patients. *Materials and methods.* The purpose of this umbrella review is to explore the current treatments and therapeutic options for COVID-19 patients. Keywords and their combinations were searched across online databases in Embase, PubMed/MEDLINE, Web of Science, and Scopus spanning from July 1, 2020, through March 3, 2023. Publications were selected for data extraction in two steps based on the study inclusion/exclusion criteria. The study adheres to the PRISMA checklist as well as NIH bias risk and quality assessment tool. *Results.* In this review, 28 relevant articles were selected for the final qualitative synthesis. The majority of included studies had reported on the efficacy of Lopinavir/Ritonavir (n = 4), Ivermectin (n = 3), Baricitinib (n = 2), Tocilizumab (n = 2), Remdesivir (n = 2), ACEI/ARB (n = 2), Vitamin D (n = 2), Molnupiravir (n = 2), Traditional Chinese medicine (TCM) (n = 2), Convalescent plasma transfusion (CPT) (n = 2) and hydroxychloroquine (n = 2) in treating COVID-19. It appeared that Baricitinib, Remdesivir, ACEI/ARB, TCM, and CPT may have beneficial effects on reducing mortality, hospitalization duration, and disease severity in COVID-19 patients. Other interventions, such as Lopinavir/Ritonavir, Ivermectin, Vitamin D, and Hydroxychloroquine did not show clear benefits or had inconclusive results. *Conclusion.* This umbrella review provides a comprehensive overview of the current evidence on the effectiveness and safety of various pharmacological and non-pharmacological interventions for COVID-19. These results provide an updated overview of the current landscape for COVID-19 treatments, highlighting potential avenues for further research and clinical practice. It is crucial to continue monitoring emerging evidence and conducting rigorous studies to guide the development and optimization of therapeutic strategies against COVID-19.

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2, treatments, therapy, medicine, umbrella review.

Адрес для переписки:

Эсмаэил Мехраин
5681761351, Иран, г. Халхал, Халхальский медицинский университет, кафедра медицинских информационных технологий.
Тел.: +98-45-32426801. Факс: +98-45-32422305.
E-mail: es.mehraeen@gmail.com

Contacts:

Esmail Mehraeen
5681761351, Iran, Khalkhal, Khalkhal University of Medical Sciences, Department of Health Information Technology.
Phone: +98-45-32426801. Fax: +98-45-32422305.
E-mail: es.mehraeen@gmail.com

Для цитирования:

СейедАлинаги С., Афсахи А.М., Молла А., Мирзапур П., Шахиди Р., Сиами Х., Рад Ф.Ф., Аббаспур Ф., Мозафари Н., Фахредини К., Мехраин И., Дадрас О. «Зонтичный» обзор средств и стратегий лечения при COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 885–898.
doi: 10.15789/2220-7619-AUR-15080

Citation:

SeyedAlinaghi S., Afsahi A.M., Molla A., Mirzapour P., Shahidi R., Siami H., Rad F.F., Abbaspour F., Mozafari N., Fakhredini K., Mehraeen E., Dadras O. An umbrella review on treatments and therapeutic options for COVID-19 // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 885–898. doi: 10.15789/2220-7619-AUR-15080

«ЗОНТИЧНЫЙ» ОБЗОР СРЕДСТВ И СТРАТЕГИЙ ЛЕЧЕНИЯ ПРИ COVID-19

С. СейедАлиаги¹, А.М. Афсахи², А. Молла³, П. Мирзапур¹, Р. Шахиди³, Х. Сиами⁴, Ф.Ф. Рад⁵,
Ф. Аббаспур⁵, Н. Мозафари³, К. Фахредини⁶, И. Мехраин⁷, О. Дадрас⁸

¹Иранский исследовательский центр ВИЧ/СПИДа, Тегеранский университет медицинских наук, Тегеран, Иран

²Калифорнийский университет, Сан-Диего, Калифорния, США

³Университет медицинских наук Бушера, г. Бушер, Иран

⁴Исламский университет Азад, Тегеран, Иран

⁵Тегеранский университет медицинских наук, Тегеран, Иран

⁶Центр исследования поведенческих заболеваний, Институт здравоохранения, Керманшахский университет медицинских наук, г. Керманшах, Иран

⁷Халхалский университет медицинских наук, г. Халхал, Иран

⁸Университет Бергена, г. Берген, Норвегия

Резюме. *Введение.* Поскольку пандемия COVID-19 продолжает представлять собой серьезную проблему для глобального здравоохранения, все более важными становятся эффективные терапевтические варианты профилактики и лечения этого заболевания. Мы стремились предоставить обновленную информацию о современных средствах и методах лечения для пациентов с COVID-19. *Материалы и методы.* Целью данного обзора являлось изучение современных методов лечения и терапевтических возможностей для пациентов с COVID-19. Поиск ключевых слов и их комбинаций проводился в онлайн-базах данных Embase, PubMed/MEDLINE, Web of Science и Scopus с 1 июля 2020 г. по 3 марта 2023 г. Публикации для извлечения данных отбирались в два этапа на основе критериев включения/исключения. Исследование соответствует контрольному списку PRISMA, а также инструменту оценки риска и качества NIH. *Результаты.* Для окончательного качественного синтеза в настоящем обзоре было отобрано 28 соответствующих статей. В большинстве включенных исследований сообщалось об эффективности лопинавира/ритонавира (n = 4), ивермектина (n = 3), барицитиниба (n = 2), тоцилизумаба (n = 2), ремдесивира (n = 2), ИАПФ/БРА (n = 2), витамина D (n = 2), молнупиравир (n = 2), традиционной китайской медицины (ТКМ) (n = 2), переливания плазмы выздоравливающих (ППВ) (n = 2) и гидроксихлорохина (n = 2) при лечении COVID-19. Оказалось, что прием барицитиниба, ремдесивира, ИАПФ/БРА, ТКМ и ППВ способствуют снижению смертности, укорочению сроков госпитализации и уменьшению тяжести заболевания у пациентов с COVID-19. Результат применения таких препаратов, как лопинавир/ритонавир, ивермектин, витамин D и гидроксихлорохин, был не столь убедителен. *Заключение.* Мы представили всесторонний обзор текущих данных об эффективности и безопасности различных фармакологических и нефармакологических средств терапии COVID-19 и выявили потенциальные направления дальнейших научных и клинических исследований и клинической практики. Крайне важно продолжать мониторинг новых данных и проводить тщательные исследования для разработки и оптимизации терапевтических стратегий в отношении COVID-19.

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, лечение, терапия, медицина, «зонтичный» обзор.

Introduction

The COVID-19 pandemic has posed a significant challenge to global health, with millions of cases and deaths reported worldwide. The COVID-19 pandemic caused by the novel coronavirus SARS-CoV-2 has become a global public health emergency [30, 40]. As the world continues to grapple with the pandemic, there has been a growing need for effective therapeutic options to prevent and treat COVID-19 [28, 34]. Several potential therapeutic opportunities have emerged, including antiviral drugs, monoclonal antibody therapies, anti-inflammatory drugs, convalescent plasma therapy, and vaccines [7]. In this context, ongoing research and development of treatments and prevention measures have become critical in managing the COVID-19 pandemic [13] and effective therapeutic options for preventing and treating the disease have become increasingly important [24, 25, 28].

The pandemic has highlighted the need to develop treatment guidelines based on current and reliable evidence, rather than relying solely on past experiences and theories. Although various potential ther-

apeutic opportunities have emerged, including antiviral drugs, monoclonal antibody therapies, anti-inflammatory drugs, convalescent plasma therapy, and vaccines, it is essential to frequently review and revise these guidelines due to the rapid pace at which new evidence can emerge during a crisis [4]. The rapidly changing nature of information during a crisis means that guidelines can quickly become outdated, and it is important to stay up-to-date on the latest developments in order to provide the best possible care. By continually revising guidelines, healthcare professionals can ensure that they are providing the most effective and evidence-based treatments to their patients [14, 19].

Against this background, it is crucial to emphasize the importance of ongoing research to fully understand the effectiveness and safety of COVID-19 treatment and prevention options. This review provides a brief overview of some of the potential options for COVID-19, highlighting benefits and the need for ongoing research to fully understand their effectiveness and the safety of current therapeutic options.

Materials and methods

This review investigated currently available treatments and therapeutic options for COVID-19 patients and elaborate on the implications and potential adverse effects. This study adheres to items of the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) checklist. The risk of bias for included studies was assessed by the National Institute of Health (NIH) quality and bias risk assessment tool.

Data sources. We performed a comprehensive search on the online database of Embase, PubMed/MEDLINE, Web of Science, and Scopus. Combining the relevant keywords and search queries all the relevant articles published in the English language were browsed and retrieved from July 1st, 2020, to March 3rd, 2023. The comprehensive list of queries in different databases is provided in Supplementary Material 1. Here is an example of a search query in the PubMed/MEDLINE database: ((“COVID-19”[mesh] OR “SARS-CoV-2”[mesh] OR COVID-19[tiab] OR SARS-CoV-2[tiab] OR coronavirus disease 2019[tiab] OR severe acute respiratory syndrome coronavirus 2[tiab] OR 2019 nCoV [tiab] OR SARS Coronavirus 2[tiab]) AND (“Therapeutics”[mesh] OR Therapeutic [tiab] OR Therapy [tiab] OR Therapies[tiab] OR Treatment[tiab] OR Medicine[tiab] OR Drug[tiab] OR Medication[tiab]) NOT (Vaccine[ti] OR Vaccination[ti])).

Study selection. To ensure the selection of the most appropriate studies, we employed two distinct selection steps. Initially, three research staff screened titles and abstracts of the retrieved articles. In the next step, three other researchers conducted a thorough full-text review of the initially selected articles. Pertinent publications that met the inclusion/exclusion criteria were included for data extraction. The inclusion criteria were as follows: The study had to a systematic review, written in English, peer-reviewed prior to publication, and published in the allocated time period (July 1st 2020 — March 3rd 2023). Studies were excluded if they were original articles, duplicated, non-human research models, ongoing experiments and/or lacking published data, conference abstracts or abstracts without accessible full texts, preprint papers, editorial letters, case reports, or series.

Data extraction. Three researchers extracted the necessary data from the eligible articles. A pre-planned spreadsheet was used to record the detailed information, which is presented in Table 2. Any potential duplicates were removed, and the accuracy of the extracted data was verified by other members of the research team.

Quality and bias risk evaluation. The quality and precision of the studies and reported results were assured by adhering to the items outlined in the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) checklist. Additionally,

the National Institute of Health (NIH) quality and bias risk assessment tool was used to assess and minimize the potential risk of bias in the selected studies. Table 1 presents the results of the quality assessment. The questionnaire at the bottom of the table was used by two researchers to rate the included studies.

Results

In this review, we identified a total of 4717 relevant sources. After an initial check, 805 duplicate articles were excluded, and the remaining 3912 articles were screened based on the relevancy of titles and abstracts through which 3561 resources were excluded. From the remaining 351 articles, 323 were excluded as they have not met the eligibility criteria. These excluded studies were non-English studies (n = 32), enduring studies (n = 53), systematic review protocols (n = 24), non-human studies (n = 85), studies unrelated to treatment and medicine (n = 113), and non-full-text studies (n = 16). Ultimately, 28 articles most relevant to the study objective were selected for the final review.

A total of 28 potential treatment regimens were identified for COVID-19 as shown in Table 2. The majority of included studies reported on the efficacy of Lopinavir/Ritonavir (n = 4), Ivermectin (n = 3), Baricitinib (n = 2), Tocilizumab (n = 2), Remdesivir (n = 2), ACEI/ARB (n = 2), Vitamin D (n = 2), Molnupiravir (n = 2), Traditional Chinese medicine (TCM) (n = 2), Convalescent plasma transfusion (CPT) (n = 2) and hydroxychloroquine (n = 2) in treating COVID-19.

Despite many studies on Lopinavir/Ritonavir, which have shown no specific adverse effects, current research still lacks strong evidence regarding its antiviral effects against COVID-19. Ivermectin shows potential effectiveness in mild-moderate COVID-19 patients. However, further studies are needed. One study indicated that in the absence of antiviral treatments, cautious administration of Ivermectin can be considered. Studies showed that Baricitinib (which is a type of JAK inhibitor) along with Sarilumab, served as a good alternative for COVID-19 treatment and it can lead to a reduction in mortality rate among hospitalized patients with moderate-severe COVID-19. It appeared that Molnupiravir, which is a prodrug for Hydroxycytidine, could reduce the hospitalization and mortality rates in high-risk COVID-19 patients. Some studies have demonstrated the potential of Chinese traditional and herbal medicine as an alternative for the prevention, treatment, and rehabilitation of COVID-19 patients. Furthermore, recent studies have indicated that certain drugs can be beneficial in specific subgroups of COVID-19 patients. For instance, ACE/ARB has shown potential effectiveness in reducing ICU admission and mortality rate among individuals with hypertension who were previously using ACE/ARB. Additionally, Convalescent Plasma Therapy (CPT) has demonstrated effectiveness in patients with hematological malignancies, while Remdesivir has shown posi-

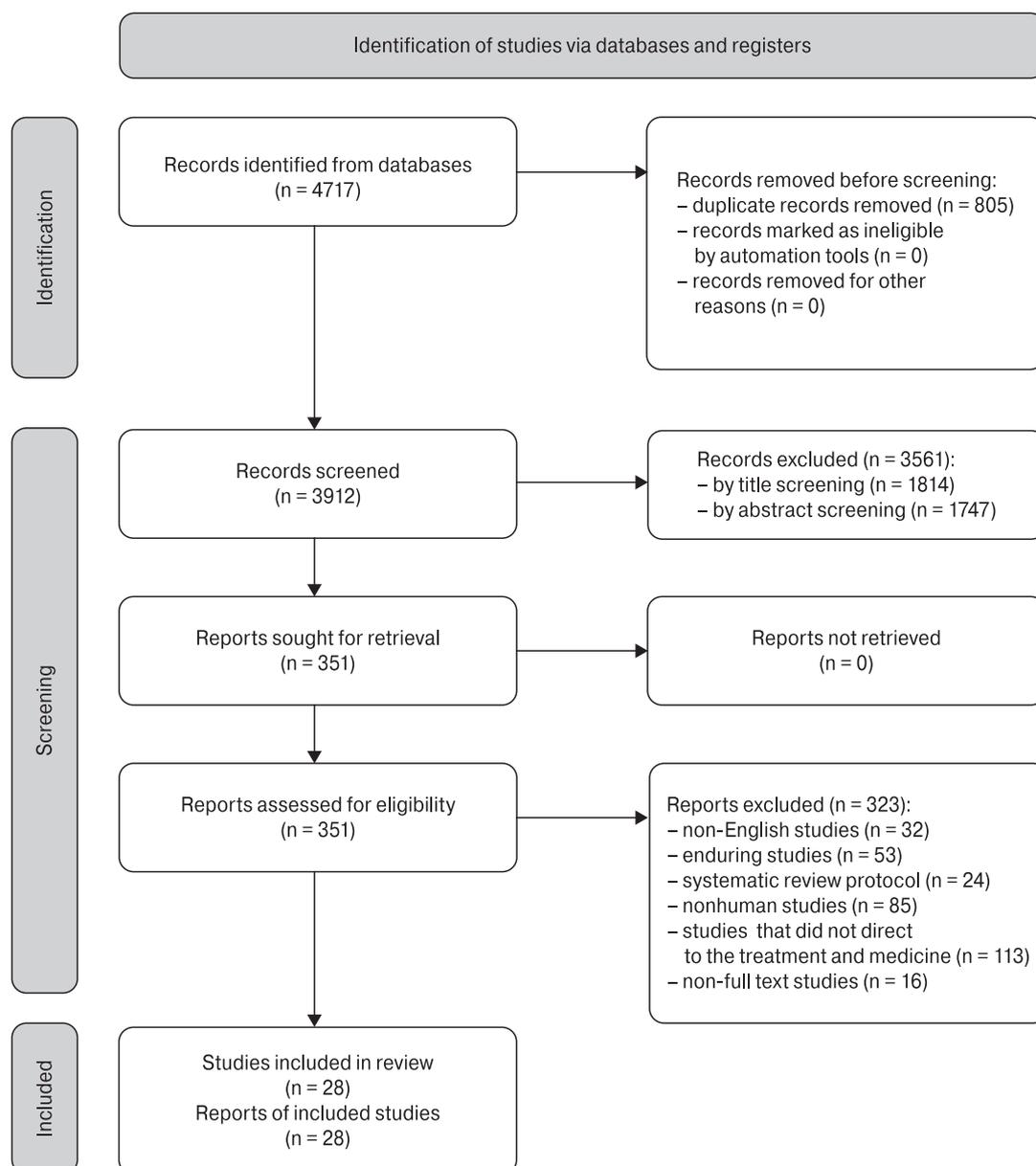


Figure. PRISMA 2020 flow diagram of study retrieval process

tive outcomes in non-ventilated hospitalized patients. Nirmatrelvir/Ritonavir, sold under the name Paxlovid, a combination of the SARS-CoV-2 protease inhibitor nirmatrelvir, and ritonavir, a CYP3A4 inhibitor, is one of the best therapeutic choices for high-risk patients in reducing all-cause mortality and hospital admission. In people without prior or concomitant therapies low- to moderate-certainty evidence revealed that nirmatrelvir/ritonavir can be safe.

Discussion

The main objective of this umbrella review was to evaluate and summarize the existing evidence on the potential treatments and therapeutic options for COVID-19 patients. The review provides a comprehensive overview of the current knowledge in this field. A total of 28 systematic reviews and meta-analyses were included in this

review and encompassed a wide range of treatment modalities, including antiviral drugs, immunomodulators, JAK inhibitors, Convalescent plasma transfusion (CPT), Traditional Medicine and Supplementary medicine. The most frequently used therapies in selected studies were Lopinavir/Ritonavir ($n = 4$), Ivermectin ($n = 3$), Baricitinib ($n = 2$), Tocilizumab ($n = 2$), Remdesivir ($n = 2$), ACEI/ARB ($n = 2$), Vitamin D ($n = 2$), Molnupiravir ($n = 2$), Traditional Chinese Medicine (TCM) ($n = 2$), Convalescent plasma transfusion (CPT) ($n = 2$) and hydroxychloroquine ($n = 2$).

Lopinavir/Ritonavir is a combination of protease inhibitors that has been used to treat HIV infection and was also effective against SARS-CoV and MERS-CoV *in vitro* and in animal models [35]. Some previous studies reported that there is no significant difference between Lopinavir/Ritonavir and standard care in terms of mortality, viral clearance, or adverse

Table 1. Quality/Bias risk ratings of the included studies according to the NIH Quality Assessment Tool*

Reference	Questions								Rating by reviewers	
	1	2	3	4	5	6	7	8	#1	#2
[1]	Yes	Yes	Yes	Yes	NR	Yes	Yes	Yes	Good	Good
[2]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Good	Good
[6]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Good	Good
[8]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Good	Good
[9]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Good	Good
[11]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Good	Fair
[12]	Yes	Yes	Yes	NR	Yes	Yes	Yes	NA	Fair	Good
[15]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Good	Good
[16]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	NA	Good	Fair
[17]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No	NA	Fair	Fair
[18]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Good	Good
[20]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Good	Good
[21]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	NA	Fair	Good
[22]	Yes	Yes	Yes	No	No	Yes	No	NA	Fair	Fair
[23]	Yes	Yes	Yes	Yes	NR	Yes	No	NA	Good	Good
[26]	Yes	Yes	Yes	NR	Yes	Yes	No	NA	Fair	Fair
[27]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	NA	Good	Good
[29]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	NA	Good	Good
[31]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No	NA	Fair	Good
[32]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	NR	No	Fair	Fair
[33]	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	NR	Yes	Fair	Fair
[36]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Good	Good
[38]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Good	Fair
[39]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Good	Good
[41]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Good	Fair
[42]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	NR	No	Fair	Fair
[43]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Good	Good
[47]	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	NA	Good	Fair

Note. NIH — National Institutes of Health; CD — cannot determine; NR — not reported; NA — not applicable.

*The NIH Quality Assessment Tool for Systematic reviews and Meta-Analysis (<https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/study-quality-assessment-tools>) contains 8 questions: 1 — Is the review based on a focused question?; 2 — Were eligibility criteria for included and excluded studies predefined and specified?; 3 — Did the literature search strategy use a comprehensive, systematic approach?; 4 — Were titles, abstracts and full-text articles dually and independently reviewed for inclusion and exclusion to minimize bias?; 5 — Was the quality of each included study rated independently by two or more reviewers using a standard method to appraise its internal validity?; 6 — Were the included studies listed along with important characteristics and results of each study?; 7 — Was publication bias assessed?; 8 — Was heterogeneity assessed?

events [37]. In our review, Lopinavir/Ritonavir did not show clear benefits in terms of hospitalization duration and time to negative PCR in mild diseases [27, 29, 32].

Ivermectin is an antiparasitic agent that inhibits the replication of viruses in vitro. The molecular hypothesis of Ivermectin's antiviral mode of action suggests an inhibitory effect on severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) replication in the early stages of infection [36]. One of three studies that evaluated Ivermectin, indicated that it has potential effectiveness in treating mild to moderately ill patients. However, its role as an antiviral drug against COVID-19 in clinical setting is not clear yet as the other two studies were inconclusive [27, 36, 47].

Baricitinib is a Janus kinase (JAK1/JAK2) inhibitor developed to treat patients suffering from rheumatoid arthritis. JAK-STAT signaling is critical to multiple cellular processes, including survival, differentiation, and proliferation [45]. The conclusion of two studies that examined Baricitinib was in line,

as they concluded Baricitinib is an alternative to Tocilizumab, which is a recombinant humanized anti-IL-6 receptor monoclonal antibody that has been approved for use in patients with rheumatologic disorders and chimeric antigen receptor T cell-induced cytokine release syndrome [46] for reducing mortality in COVID-19 patients admitted to the hospital and undergoing corticosteroid treatment. Systemic JAK inhibitors reduce all-cause mortality in hospitalized individuals with moderate-severe COVID-19 [1, 16].

Remdesivir is a nucleotide analog that inhibits viral RNA polymerase and has broad-spectrum antiviral activity against several RNA viruses, including SARS-CoV-2 [3]. Studies have shown that in non-ventilated hospitalized patients with COVID-19 who did not require ventilation, Remdesivir can decrease mortality. It is important to note that Remdesivir is associated with specific adverse effects, such as significant bradycardia, so rigorous attention is needed during the administration of this drug in COVID-19 patients [2, 27].

Table 2. Description of the findings reported in the eligible studies

Reference	Country	Method (search date and searched databases)	Number of review studies	Current treatment/medicine	Therapeutic dose	Clinical considerations	Main findings
[1]	Brazil	Pubmed/EMBASE/Cochrane library/MedRxiv October 7, 2020 — April 30, 2022	27 RCT	Baricitinib Sarilumab Tocilizumab	Not reported	Baricitinib has not been studied in severe renal failure and cannot be given in pregnancy	Baricitinib and Sarilumab are alternatives to Tocilizumab for reducing mortality in COVID-19 patients admitted to the hospital and undergoing corticosteroid treatment
[2]	Switzerland	Pubmed/EMBASE/ Cochrane COVID-19 trial registry/ClinicalTrials.gov/ International Clinical Trial Registry Platform/preprint servers January 1, 2020 — April 11, 2022	9 RCT	Remdesivir	Not reported	Remdesivir has specific side effects (eg, severe bradycardia)	In non-ventilated hospitalized patients with COVID-19 who did not require ventilation, Remdesivir demonstrated a decrease in mortality
[6]	Pakistan	Pubmed/The Cochrane Library/EMBASE Inception — October 5, 2022	6 RCT	Quercetin	Safe up to 500 mg per day	Quercetin is a cheap and easily accessible therapeutic option for COVID-19 patient	The administration of Quercetin, especially in its phytosome formulation can provide benefits for COVID-19 patients by improving its bioavailability
[8]	Germany	Medline/EMBASE/ Clinicaltrial.org/MedRxiv/ WHO International Clinical Trial Registry Platform/CCSR Inception — December 13, 2021	5 RCT	Anakinra	Not reported	Anakinra might be beneficial in hospitalized patients with COVID-19 with low-flow/high-flow oxygen therapy and suPAR > 6 ng/ml	When compared to placebo or standard care alone, Anakinra does not exhibit any impact on mortality, clinical improvement, worsening or safety outcomes in adult hospitalized patients with COVID-19
[9]	Canada	Medline/EMBASE/Pubmed/ Web of science/CENTRAL/ CINAHL/International pharmaceutical abstracts January 1, 2020 — December 17, 2022	6 RCT 3 Cohort study 1 Case-Control 1 Non-randomized clinical trial	SSRI (Fluvoxamine)	50–100 mg Bid	100 mg bid is more effective than 50 mg bid	Fluvoxamine is a potential therapy in COVID-19 out-patients with medium doses showing more favorable results in comparison with low doses
[11]	Spain	PubMed, Web of Science, the Cochrane COVID-19 Study Register, ClinicalTrials.gov- COVID-19 subset, and the WHO International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP) Inception — May 2022	27 RCT	Vitamin D	Not reported	No adverse events were observed in the trials, indicating the safety of Vitamin D supplements within the examined doses	No adverse events were observed in the trials. It can be concluded that Vitamin D supplementation using the doses and preparations examined, is safe

Reference	Country	Method (search date and searched databases)	Number of review studies	Current treatment/medicine	Therapeutic dose	Clinical considerations	Main findings
[12]	Australia	Medline/EMBASE/Pubmed/ PsycINFO November 2021 — July 7, 2022	8 Retrospective cohort 2 Prospective cohort 3 Cross-sectional study 1 Case-Control 1 Case-Series 3 Retrospective chart review	Clozapine	Not reported	There was a reduction in neutrophil level in COVID-19 positive clozapine users	There is no evidence suggesting that the immune system of Clozapine users put them at risk of COVID-19. It is still crucial to closely monitor these patients
[15]	China	Pubmed/Embase/Cochrane Library January 2000 — May 2022	26 Retrospective cohort 2 Prospective cohort	ACEI/ARB	Not reported	The effect of ACEI/ARB is more obvious in HTN population. The reduction of hospitalization in female is more than male	Use of ACE/ARB among EAST-Asian COVID-19 patients did not show any adverse outcomes and was associated with shorter hospitalization and reduced mortality rates
[16]	Germany	Medline/EMBASE/ ClinicalTrials.gov/WHO International Clinical Trials Registry Platform/medRxiv/ Cochrane Central Register of controlled trials/VA ESP/ WHO COVID-19 Global Literature Inception — February 2022	6 RCT	Janus Kinase Inhibitors: Baricitinib Tofacitinib Ruxolitinib	Not reported	There is no evidence on the efficacy and safety of systemic JAK inhibitors for non-hospitalized individuals	Systemic JAK inhibitors reduce all-cause mortality in hospitalized individuals with moderate-severe COVID-19
[17]	Indonesia	Pubmed/Science direct Inception — October 4, 2021	6 RCT	Anticoagulants in prophylactic vs intermediate/ therapeutic doses	Not reported	The incidence of bleeding at the intermediate/therapeutic doses compared to the prophylactic dose	There was no significant differences in thromboembolic events or all-cause mortality
[18]	China	Campbell Library/Cochrane Library/EMBASE/PubMed/ Web of Science/CBM/CNKI/ CQVIP/WanFang Data Inception — March 23, 2022	76 RCT 50 Systematic Review	TCMs (Traditional Chinese Medicine)	Not reported	XBJ as a TCM was the most common intervention	In terms of treatment, rehabilitation and prevention TCM is a promising alternative
[20]	China	PubMed/the Cochrane Library/Ovid/Embase December 1, 2019 — April 30, 2022	4 RCT 5 Retrospective cohort 1 Prospective cohort 1 Non-experimental comparative study	ACEI/ARB	Not reported	The effects of continuing ACE/ARB treatment may have been influenced by factors such as male sex and the presence of D.M.	Previous ACEI/ARB treatment was associated with lower hospital mortality, ICU admission, and IMV in patients with COVID-19

Table 2. Description of the findings reported in the eligible studies (continued)

Reference	Country	Method (search date and searched databases)	Number of review studies	Current treatment/medicine	Therapeutic dose	Clinical considerations	Main findings
[21]	China	CBM/CNKI/Wanfang/PubMed/Cochrane Library/EMBASE/preprint platforms Date of database creation — March 31, 2021	51 Systematic Reviews	CHM (Chinese Herbal Medicine)	Not reported	Clinical evidence of the benefits of CHM for acute respiratory infections such as COVID-19, SARS, and H1N1 seems more sufficient than other acute infections	Chinese herbal medicine, used alone or in combination with conventional medicine has benefits in relieving symptoms of patients with acute respiratory infections
[22]	India	LiCOVID/Google Scholar/Science Direct/EBSCO/Scopus/Web of Science/EMBASE Search date not reported	11 RCTs 4 Case reports 1 Case-series 4 Retrospective cohort 3 Non-randomized clinical trial 2 Pilot and prospective comparative studies	Ayurvedic medicines and formulations: Ayush-64 Guduchi Ghana vati Chyawanprash	Not reported 500 mg BD 500 mg BD 12–24 g BD	Ayurvedic medicines have antiviral, antioxidant, anti-inflammatory, and immunomodulatory properties	Ayurvedic medicines can be combined with standard treatments to aid in early virus detection, accelerate recovery from COVID-19, expedite hospital discharge, and prevent further deterioration
[23]	India	PubMed/MedRxiv/BioRxiv/FDA/ClinicalTrials.Gov/ctri.nic.in/Google Scholar January 2021 — March 2022	6 RCT: 4 Published 2 Unpublished	Molnupiravir	50–800 mg Bid Or single dose Up to 1600 mg	The drug is well tolerated and safe with no significant adverse events on short-term use	Clinical studies provide evidence that Molnupiravir significantly reduces the risk of hospitalization or death in high-risk mild COVID-19 patients
[26]	Germany	Pubmed/Embase/Scopus/Google Scholar No time constrain	9 RCTs 9 Retrospective cohorts 2 Prospective cohorts 2 Cross-sectional study 1 Case-control	Vitamin C and D Supplementation	Not reported	Vitamin D modulates the innate immune response Vitamin C has antioxidant, anti-inflammatory, antithrombotic, and immunomodulatory functions	Administration of vitamins C and D in COVID-19 patients doesn't impact disease susceptibility, severity, and progression
[27]	Iran	PubMed/Scopus/Web of Sciences Inception — January 1, 2022	46 Reviews	Main intervention: Favipiravir Remdesivir Hydroxychloroquine Ivermectin Lopinavir/Ritonavir Tocilizumab	Not reported	Not reported	The main limitations observed in the included studies were heterogeneity, sample size, follow-up, treatment variations, study design, definitions, synthesis, quality, and search methodology

Reference	Country	Method (search date and searched databases)	Number of review studies	Current treatment/medicine	Therapeutic dose	Clinical considerations	Main findings
[29]	Iran	PubMed/Scopus/Web of Sciences/Embase December 2019 — March 2021	266 <i>in silico</i> 34 <i>in vitro</i> 15 <i>in vivo</i>	Main intervention: Saqueinavir Ritonavir Lopinavir Herbal medicine	Not reported	Discovering drugs that have multitarget antiviral and anti-inflammatory actions is crucial due to the nature of COVID-19 — Certain herbal medicine exhibit this potential	For antiviral development, the main focus has been on targeting the protease and spike glycoprotein
[31]	Greece	Pubmed/Medline and Embase September 2022	3 RCTs 4 Retrospective cohorts 1 Prospective cohort	N-acetyl cysteine (NAC)	The studies by Mousapour, Taher, and de Alencar used 1 g/12 h, 40 mg/kg/day, and 21 g (divided into two doses) respectively	Due to the limited certainty of evidence presented in the studies, it is not possible to provide recommendations for clinical practices	In RCTs, the point estimates for hard clinical outcomes tend to be near the null effect line (lack of significant impact). Observational studies show heterogeneity, with certain studies suggesting positive outcomes
[32]	India	Google Scholar January 2020 to May 2020	49 Studies	Hydroxychloroquine, Lopinavir and Ritonavir, Ultra-violet radiation therapy, Convalescent plasma transfusion (CPT) therapy	Not reported	New drugs are in the premature stage of this pandemic. Further research is needed to fully understand the life cycle of n.COV and expedite the development of drugs and vaccines	ICMR and NIH provide guidelines for Hydroxychloroquine and other antiviral drugs. Ongoing research includes natural products, herbs, combination therapy, UV radiation, MD simulations for vaccine development, and CPT
[33]	USA	Google Scholar and PubMed and medRxiv Search date not reported	3 Cohort 1 Case-control 1 RCT 2 Comparative studies	Arbidol, Lopinavir/Ritonavir	Not reported	Adverse reactions were rarely reported including ECG changes, GI symptoms, bacterial infections, and hepatic and renal dysfunction	Antiviral regimens did not show clear benefits in terms of hospitalization duration and time to negative PCR in mild diseases
[36]	Germany	Cochrane COVID-19 Study Register, Scopus, and WHO COVID-19 Global literature on coronavirus disease database Inception — July 2022	1 RCT 8 Ongoing studies	Nirmatrelvir combined with Ritonavir	Not reported	Ritonavir's role as a CYP3A4 inhibitor, makes Nirmatrelvir/Ritonavir prone to drug interactions, especially in patients with comorbidities	Low certainty evidence suggests that Nirmatrelvir/Ritonavir reduces the risk of all-cause mortality, and hospital admission/death in high-risk, unvaccinated COVID-19 patients with symptom onset within 5 days. Low-moderate certainty evidence suggests the safety of Nirmatrelvir/Ritonavir in patients without prior-concomitant therapies that rely on CYP3A4

Table 2. Description of the findings reported in the eligible studies (continued)

Reference	Country	Method (search date and searched databases)	Number of review studies	Current treatment/medicine	Therapeutic dose	Clinical considerations	Main findings
[38]	USA	EMBASE, PubMed, medRxiv, Scopus, Prospero, and Google Scholar inception — February 2021	4 RCTs 2 Retrospective cohorts 2 Case-controls	Colchicine	Not reported	The use of Colchicine for treating COVID-19 is not recommended. Additional high-quality, multicenter RCTs are needed	3 observational studies showed a decrease in all-cause mortality. 1 observational study showed a decrease in the risk of mechanical ventilation. 2 RCTs showed a reduction in hospitalization
[39]	Germany	Cochrane COVID-19 Study Register, Web of Science, medRxiv, and Research Square Inception — May 2021	11 RCTs	Ivermectin	Not reported	The existing reliable evidence does not support the use of Ivermectin as an effective treatment or preventive measure for COVID-19	Evidence for the effectiveness of Ivermectin in treating COVID-19 is currently uncertain for both in-patients and out-patients with limited/no beneficial effects in different aspects such as viral clearance-clinical improvement and adverse events
[41]	China	PubMed, EMBASE, Cochrane Library, Web of Science databases Inception — October 25, 2022	7 Retrospective cohorts 2 RCTs	Thymosin alpha1 (Ta1)	Not reported	This meta-analysis does not provide support for the utilization of Ta1 in hospitalized adult COVID-19 patients	The meta-analysis results suggest that Ta1 therapy does not have a statistically significant impact on mortality. Subgroup analyses show a beneficial effect on mortality in patients > 60 years with a proportion of females < 40% and with severe COVID-19
[42]	Australia	PubMed, Web of Science, ScienceDirect and Scopus Inception — June 2022	5 Retrospective cohorts 12 Case reports 1 Case series	Convalescent plasma Therapy (CPT)	Not reported	CPT is an effective supportive therapy for COVID-19 patients with hematological malignancies	CPT may lead to improved clinical outcomes, including higher survival rates, enhanced clearance of SARS-CoV-2, presence of anti-SARS-CoV-2 antibodies, shorter hospital discharge time, and better recovery after one month of CPT. The treatment was not associated with adverse events
[43]	India	PubMed, MedRxiv and Google Scholar October 2021 — January 2022	1 RCT 13 Preclinical studies	Molnupiravir	Not reported	Molnupiravir may benefit non-pregnant, unvaccinated adults with COVID-19 who face an elevated risk of severity and hospitalization	Molnupiravir shows promise as a useful agent in reducing death and composite of hospitalization or death in high-risk adult patients with COVID-19. It offers the advantage of being cost-effective
[47]	China	Studies were not restricted by the year of publication, study site, drug dose, or control group	9 RCT	Ivermectin (IVM)	Not reported	In the absence of superior alternatives, clinicians should use IVM with caution in the clinical setting. Self-medication is not recommended for patients	IVM shows potential effectiveness in treating mild to moderately ill patients. Its role as an antiviral drug in COVID-19 is still in the early stages of clinical application

The ACEI/ARB drug class was analyzed in two studies included in this review. The findings of these studies were consistent. The first study examined the use of ACE/ARB among COVID-19 patients of East Asian descent and found no adverse outcomes. Additionally, ACEI/ARB use was associated with shorter hospitalization and reduced mortality rates. The beneficial effects of ACEI/ARB were more pronounced in individuals with hypertension, and the reduction in hospitalization was greater in females compared to males. In the second study, it was concluded that prior ACEI/ARB treatment was linked to lower hospital mortality, ICU admission, and the need for Intermittent Mandatory Ventilation (IMV) in COVID-19 patients [15, 20].

Two studies investigating the effects of vitamin D supplementation, with one study combining it with vitamin C, were included in this review. Vitamin D plays a role in modulating the innate immune response, while vitamin C possesses antioxidant, anti-inflammatory, antithrombotic, and immunomodulatory functions. Administration of vitamins C and D to COVID-19 patients did not demonstrate any influence on disease susceptibility, severity, or progression. Importantly, no adverse events were observed in the trials, indicating the safety of vitamin D supplements at the examined doses [11, 26].

Molnupiravir is an antiviral drug similar to Remdesivir, targeting the RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) enzyme utilized by the coronavirus for transcription and replication of its viral RNA genome [44]. Two reviews encompassing a total of 7 randomized controlled trials (RCTs) provide evidence that Molnupiravir shows promise as a valuable agent, significantly reducing the risk of hospitalization or death in high-risk/mild COVID-19 patients. Additionally, it may benefit non-pregnant, unvaccinated adults with COVID-19 who face an elevated risk of severity and hospitalization. Another advantageous feature of Molnupiravir is its cost-effectiveness. The drug has demonstrated good tolerance and safety with no significant adverse events reported in short-term use at doses ranging from 50–800 mg BID or a single dose up to 1600 mg [23, 43, 44].

Traditional Chinese Medicine (TCM) is a holistic approach that uses herbal formulas, acupuncture, moxibustion, and other modalities to treat various diseases based on the principles of yin-yang balance, qi circulation, and organ function. TCM has been widely used in China to prevent and treat COVID-19 patients with different disease stages and syndromes. Two comprehensive reviews, comprising a total of 76 randomized controlled trials (RCTs) and 101 reviews, have reached a consensus that TCM shows promise as an alternative approach for treatment, rehabilitation, and prevention. Furthermore, when used alone or in conjunction with conventional medicine, TCM has demonstrated benefits in alleviating symptoms among patients with acute respiratory infections. Notably, one intervention that emerged as commonly utilized was Xuebijing (XBJ) injection [18, 21].

Convalescent plasma therapy (CPT) involves the use of plasma collected from individuals who have recovered from COVID-19. This plasma contains neutralizing antibodies against the SARS-CoV-2 virus. CPT has been utilized as a passive immunotherapy for COVID-19 patients, aiming to transfer immunity from donors to recipients [10]. One study has demonstrated that CPT can serve as an effective supportive therapy for COVID-19 patients with hematological malignancies. The findings indicate that CPT may lead to improved clinical outcomes, including higher survival rates, enhanced clearance of SARS-CoV-2, presence of anti-SARS-CoV-2 antibodies, shorter hospital discharge time, and better recovery after one month of CPT. Importantly, the treatment did not show any association with adverse events [31, 42]. Data on the effectiveness of Hydroxychloroquine as an anti-malarial used for treating COVID-19 patients were inconclusive [27, 31]. While there has been an umbrella study on the effects of Hydroxychloroquine and chloroquine therapy in COVID-19 [5], no umbrella review has compared different classes of therapeutic options.

In addition to the above-mentioned treatments, this umbrella review discussed other therapeutic options for COVID-19 patients. These include Thymosin alpha (Ta1), anticoagulants, other antivirals (such as Nirmatrelvir, Saquinavir, Favipiravir), Ultra-violet radiation therapy, Colchicine, Arbidol, N-acetyl cysteine (NAC), Ayurvedic medicines, JAK inhibitors (such as Tofacitinib, Ruxolitinib, Sarilumab), SSRI (Fluvoxamine), Clozapine, Quercetin and Anakinra (immunomodulator). Among these treatment options, Ayurvedic medicines, JAK inhibitors (such as Tofacitinib, Ruxolitinib, Sarilumab), SSRI (Fluvoxamine), colchicine, and Quercetin have shown to be beneficial in treating COVID-19 [6, 9, 16, 22, 39]. On the other hand, NAC, anticoagulants, Clozapine, and Anakinra were non-beneficial [8, 12, 17, 33]. In the case of Thymosin alpha (Ta1), the findings suggest that Ta1 therapy does not have a statistically significant impact on mortality. However, subgroup analyses indicated a beneficial effect on mortality in patients over 60 years of age, with a proportion of females less than 40%, and with severe COVID-19 [41].

The main limitations of this systematic review are the heterogeneity of the included studies in terms of design, population, intervention, comparator, outcome, and quality; the lack of meta-analysis due to the scarcity and diversity of data; and the possibility of publication bias due to the rapid emergence and dissemination of COVID-19 literature. Therefore, the results of this review should be interpreted with caution and updated regularly. Despite the extensive research conducted on treatments for COVID-19, there are still gaps and areas of uncertainty in the existing evidence. For example, there is limited evidence on the effectiveness of certain antiviral drugs or immunomodulatory therapies. Additionally, the long-term effects of these treatments and their impact on specific patient populations, such

as pregnant women or individuals with comorbidities, require further investigation. Therefore, more high-quality RCTs are needed to evaluate the efficacy and safety of these treatments and to identify the optimal dose, duration, timing, and combination of interventions for different subgroups of COVID-19 patients.

Conclusion

In conclusion, this umbrella review offers a comprehensive overview of the current evidence on the effectiveness and safety of various pharmacological and non-pharmacological interventions for COVID-19. Based on the included studies, we found that some interventions, such as Baricitinib, Remdesivir, ACEI/ARB, TCM, and CPT may have beneficial effects on reducing mortality, hospitalization duration, and disease severity in COVID-19 patients. However, the results should be interpreted with caution due to the heterogeneity and potential bias of the studies. Other interventions, such as Lopinavir/Ritonavir, Ivermectin, Vitamin D, and Hydroxychloroquine did not demonstrate clear benefits or provided inconclusive results. Therefore, additional high-quality randomized controlled trials are needed to confirm the efficacy and safety of these interventions, while also investigating optimal dosage, duration, and timing. Furthermore, future research should also consider the potential interactions, adverse events, and cost-effectiveness of the interventions, as well as the individual characteristics and preferences of the patients. The results of this study can be useful for clinicians and physicians who need evidence to choose the best treatment in a critical situation such as COVID-19.

References

1. Albuquerque A.M., Eckert I., Tramuja L., Butler-Laporte G., McDonald E.G., Brophy J.M., Lee T.C. Effect of tocilizumab, sarilumab, and baricitinib on mortality among patients hospitalized for COVID-19 treated with corticosteroids: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Microbiol. Infect.* 2023, vol. 29, no. 1, pp. 13–21. doi: 10.1016/j.cmi.2022.07.008
2. Amstutz A., Speich B., Mentré F., Rueegg C.S., Belhadi D., Assoumou L., Burdet C., Murthy S., Dodd L.E., Wang Y., Tikkinen K.A.O., Ader F., Hites M., Bouscambert M., Traubad M.A., Fralick M., Lee T.C., Pinto R., Barratt-Due A., Lund-Johansen F., Müller F., Nevalainen O.P.O., Cao B., Bonnett T., Griessbach A., Taji Heravi A., Schönenberger C., Janiaud P., Werlen L., Aghlmandi S., Schandelmaier S., Yazdanpanah Y., Costagliola D., Olsen I.C., Briel M. Effects of remdesivir in patients hospitalised with COVID-19: a systematic review and individual patient data meta-analysis of randomised controlled trials. *Lancet Respir. Med.*, 2023, vol. 11, no. 5, pp. 453–464. doi: 10.1016/S2213-2600(22)00528-8
3. Ansems K., Grundeis F., Dahms K., Mikolajewska A., Thieme V., Piechotta V., Metzendorf M.I., Stegemann M., Benstoem C., Fichtner F. Remdesivir for the treatment of COVID-19. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2021, vol. 8, no. 8: CD014962. doi: 10.1002/14651858.CD014962
4. Areri H., Marshall A., Harvey G. Factors influencing self-management of adults living with HIV on antiretroviral therapy in Northwest Ethiopia: a cross-sectional study. *BMC Infect. Dis.*, 2020, vol. 20, no. 1: 879. doi: 10.1186/s12879-020-05618-y
5. Celotto S., Veronese N., Barbagallo M., Ometto F., Smith L., Pardhan S., Barnett Y., Ilie P.C., Soysal P., Lagolio E., Kurotschka P.K., Tonelli R., Demurtas J. An umbrella review of systematic reviews with meta-analyses evaluating positive and negative outcomes of Hydroxychloroquine and chloroquine therapy. *Int. J. Infect. Dis.*, 2021, vol. 103, pp. 599–606. doi: 10.1016/j.ijid.2020.12.018
6. Cheema H.A., Sohail A., Fatima A., Shahid A., Shahzil M., Ur Rehman M.E., Awan R.U., Chinnam S., Nashwan A.J. Quercetin for the treatment of COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *Rev. Med. Virol.*, 2023, vol. 33, no. 2: e2427. doi: 10.1002/rmv.2427
7. Chinta S., Rodriguez-Guerra M., Shaban M., Pandey N., Jaquez-Duran M., Vittorio T.J. COVID-19 therapy and vaccination: a clinical narrative review. *Drugs Context*, 2023, vol. 12: 2022-7-2. doi: 10.7573/dic.2022-7-2
8. Dahms K., Mikolajewska A., Ansems K., Metzendorf M.I., Benstoem C., Stegemann M. Anakinra for the treatment of COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *Eur. J. Med. Res.*, 2023, vol. 28, no. 1: 100. doi: 10.1186/s40001-023-01072-z

Additional information

Ethics approval and consent to participate. Not applicable.

Consent to publication. Not applicable.

Availability of data and material. The authors stated that all information provided in this article could be shared.

Supplementary materials are available at: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-AUR-15080>.

Competing interests. The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this manuscript.

Funding. This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Authors' contributions:

The conception and design of the study: E. Mehraeen, S. SeyedAlinaghi.

Acquisition of data: R. Shahidi, A. Molla, A.M. Afsahi.

Analysis and interpretation of data: A.M. Afsahi.

Drafting the article: E. Mehraeen, P. Mirzapour, H. Siami, F.F. Rad, F. Abbaspour, N. Mozafari, K. Fakhredini.

Revising it critically for important intellectual content: S. SeyedAlinaghi, E. Mehraeen and O. Dadras.

Final approval of the version to be submitted: S. SeyedAlinaghi, E. Mehraeen.

Acknowledgments. The present study was conducted in collaboration with Khalkhal University of Medical Sciences, Iranian Research Center for HIV/AIDS, Tehran University of Medical Sciences.

9. Deng J., Rayner D., Ramaraju H.B., Abbas U., Garcia C., Heybati K., Zhou F., Huang E., Park Y.J., Moskalyk M. Efficacy and safety of selective serotonin reuptake inhibitors in COVID-19 management: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2023, vol. 29, no. 5, pp. 578–586. doi: 10.1016/j.cmi.2023.01.010
10. Dhawan M., Priyanka, Parmar M., Angural S., Choudhary O.P. Convalescent plasma therapy against the emerging SARS-CoV-2 variants: delineation of the potentialities and risks. *Int. J. Surg.*, 2022, vol. 97: 106204. doi: 10.1016/j.ijsu.2021.106204
11. Feiner Solís Á., Avedillo Salas A., Luesma Bartolomé M.J., Santander Ballestín S. The effects of Vitamin D supplementation in COVID-19 patients: a systematic review. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, vol. 23, no. 20: 12424. doi: 10.3390/ijms232012424
12. Giles G., Varghese S., Shymko G., Nguyen T., Waters F. Clozapine therapy and COVID-19: a systematic review of the prevalence rates, health outcomes, hematological markers, and patient perspectives. *Schizophr Bull.*, 2023, vol. 49, no. 1, pp. 53–67. doi: 10.1093/schbul/sbac148
13. Greene C., Wilson J., Griffin H., Tingle A., Cooper T., Semple M.G., Enoch D., Lee A., Loveday H. The role of pandemic planning in the management of COVID-19 in England from an infection prevention and control perspective: results of a national survey. *Public Health.*, 2023, vol. 217, pp. 89–94. doi: 10.1016/j.puhe.2023.01.028
14. Hayden M.K., Hanson K.E., Englund J.A., Lee F., Lee M.J., Loeb M., Morgan D.J., Patel R., El Alayli A., El Mikati I.K., Sultan S., Falck-Ytter Y., Mansour R., Amarín J.Z., Morgan R.L., Murad M.H., Patel P., Bhimraj A., Mustafa R.A. The Infectious Diseases Society of America Guidelines on the diagnosis of COVID-19: antigen testing. *Clin. Infect. Dis.*, 2023: ciad032. doi: 10.1093/cid/ciad032
15. Huang N.X., Yuan Q., Fang F., Yan B.P., Sanderson J.E. Systematic review and meta-analysis of the clinical outcomes of ACEI/ARB in East-Asian patients with COVID-19. *PLoS One*, 2023, vol. 18, no. 1: e0280280. doi: 10.1371/journal.pone.0280280
16. Kramer A., Prinz C., Fichtner F., Fischer A.L., Thieme V., Grundeis F., Spagl M., Seeber C., Piechotta V., Metzendorf M.I., Golinski M., Moerer O., Stephani C., Mikolajewska A., Kluge S., Stegemann M., Laudi S., Skoetz N. Janus kinase inhibitors for the treatment of COVID-19. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2022, vol. 6, no. 6: CD015209. doi: 10.1002/14651858.CD015209
17. Kurniawati D.R., Subagio A., Djuari L. Efficacy and safety of prophylactic-dose anticoagulation therapy with intermediate-therapeutic doses in COVID-19 patients. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 2023, vol. 17, no. 1, pp. 97–101, doi: 10.37506/ijfimt.v17i1.18902
18. Li Y., Qin Y., Chen N., Ge L., Wang Q., Aboudou T., Han J., Hou L., Cao L., Li R., Li M., Mi N., Xie P., Wu S., Hu L., Li X., Song Z., Ji J., Zhang Z., Yang K. Use of traditional Chinese medicine for the treatment and prevention of COVID-19 and rehabilitation of COVID-19 patients: an evidence mapping study. *Front. Pharmacol.*, 2023, vol. 14: 1069879. doi: 10.3389/fphar.2023.1069879
19. Liang W., Liang H., Ou L., Chen B., Chen A., Li C., Li Y., Guan W., Sang L., Lu J., Xu Y., Chen G., Guo H., Guo J., Chen Z., Zhao Y., Li S., Zhang N., Zhong N., He J. China Medical Treatment Expert Group for COVID-19. Development and validation of a clinical risk score to predict the occurrence of critical illness in hospitalized patients with COVID-19. *JAMA Intern. Med.*, 2020, vol. 180, no. 8, pp. 1081–1089. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.2033
20. Liu Q., Fu W., Zhu C.J., Ding Z.H., Dong B.B., Sun B.Q., Chen R.C. Effect of continuing the use of renin-angiotensin system inhibitors on mortality in patients hospitalized for coronavirus disease 2019: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression analysis. *BMC Infect. Dis.*, 2023, vol. 23, no. 1: 53. doi: 10.1186/s12879-023-07994-7
21. Luo X., Zhang Y., Li H., Ren M., Liu Y., Liu Y., Zhang Y., Kuang Z., Cai Y., Chen Y., Ni X. Clinical evidence on the use of Chinese herbal medicine for acute infectious diseases: an overview of systematic reviews. *Front. Pharmacol.*, 2022, vol. 13: 752978. doi: 10.3389/fphar.2022.752978
22. Maideen N.M.P., Balasubramanian R., Manavalan G., Balasubramanian K., Subramanian N., Murugesan T., Solaimalai V.K. An insight of clinical evidence of ayurveda interventions in the management of COVID-19 patients. *Infect. Disord. Drug Targets*, 2022, vol. 22, no. 6: e210322202491. doi: 10.2174/1871526522666220321152504
23. Mali K.R., Eerike M., Raj G.M., Bisoi D., Priyadarshini R., Ravi G., Chaliserry L.F., Janti S.S. Efficacy and safety of Molnupiravir in COVID-19 patients: a systematic review. *Ir. J. Med. Sci.*, 2023, vol. 192, no. 4, pp. 1665–1678. doi: 10.1007/s11845-022-03139-y
24. Mehraeen E., Najafi Z., Hayati B., Javaherian M., Rahimi S., Dadras O., SeyedAlinaghi S., Ghadimi M., Sabatier J.M. Current treatments and therapeutic options for COVID-19 patients: a systematic review. *Infect. Disord. Drug Targets*, 2022, vol. 22, no. 1: e260721194968. doi: 10.2174/1871526521666210726150435
25. Mehraeen E., Oliaei S., SeyedAlinaghi S., Karimi A., Mirzapour P., Afsahi A.M., Barzegary A., Vahedi F., Soleymanzadeh M., Behnezhad F., Javaherian M., Zargari G., Mirghaderi S.P., Noori T., Sabatier J.M. COVID-19 in pediatrics: a systematic review of current knowledge and practice. *Infect. Disord. Drug Targets*, 2022, vol. 22, no. 5: e290921196908. doi: 10.2174/1871526521666210929121705
26. Migliorini F., Vaishya R., Eschweiler J., Oliva F., Hildebrand F., Maffulli N. Vitamins C and D and COVID-19 susceptibility, severity and progression: an evidence based systematic review. *Medicina (Kaunas)*, 2022, vol. 58, no. 7: 941. doi: 10.3390/medicina58070941
27. Mohseni M., Ameri H., Arab-Zozani M. Potential limitations in systematic review studies assessing the effect of the main intervention for treatment/therapy of COVID-19 patients: an overview. *Front. Med. (Lausanne)*, 2022, vol. 9: 966632. doi: 10.3389/fmed.2022.966632
28. Morishita M., Hojo M. Treatment options for patients with severe COVID-19. *Glob. Health Med.*, 2023, vol. 5, no. 2, pp. 99–105. doi: 10.35772/ghm.2023.01024
29. Mousavi S., Zare S., Mirzaei M., Feizi A. Novel drug design for treatment of COVID-19: a systematic review of preclinical studies. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.*, 2022, vol. 2022: 2044282. doi: 10.1155/2022/2044282
30. Niranjana A.K., Patel S.K., Channabasappa N.K., Rana J., Agrawal A., Kumar R., Pandey M.K., Tiwari S.P., Singh D.R. Resurgence of cholera in the COVID-19 era: a global health concern. *Ann. Med. Surg. (Lond.)*, 2023, vol. 85, no. 4, pp. 1321–1322. doi: 10.1097/MS9.0000000000000415
31. Pahari K.P., Vyas S., Aman S., Singh U., Singh P.K., Tiwari R., Dhanawat M., Therapeutic options for the treatment of 2019-novel Coronavirus in India: a review. *Coronaviruses*, 2022, vol. 3, no. 2: e041220188720. doi: 10.2174/2666796701999201204115545
32. Pantsari T., Ali M.M., Ghouri M.H., Alharbi A.M., Alfahemi H. Role of antiviral drugs in management of mild and moderate Coronavirus disease-19: a systematic review. *Adv. Life Sci.* 2022, vol. 9, no. 3, pp. 270–276
33. Paraskevas T., Kantanis A., Karalis I., Michailides C., Karamouzou V., Koniari I., Pierrakos C., Velissaris D. N-acetylcysteine efficacy in patients hospitalized with COVID-19 pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *Rom. J. Intern. Med.*, 2023, vol. 61, no. 1, pp. 41–52. doi: 10.2478/rjim-2023-0001
34. Pashaei Z., SeyedAlinaghi S., Qaderi K., Barzegary A., Karimi A., Mirghaderi S.P., Mirzapour P., Tantuoyir M.M., Dadras O., Ali Z., Voltarelli F., Mehraeen E. Prenatal and neonatal complications of COVID-19: a systematic review. *Health Sci. Rep.*, 2022, vol. 5, no. 2: e510. doi: 10.1002/hsr2.510

35. Patel T.K., Patel P.B., Barvaliya M., Saurabh M.K., Bhalla H.L., Khosla P.P. Efficacy and safety of lopinavir-ritonavir in COVID-19: a systematic review of randomized controlled trials. *J. Infect. Public Health*, 2021, vol. 14, no. 6, pp. 740–748. doi: 10.1016/j.jiph.2021.03.015
36. Popp M., Reis S., Schießer S., Hausinger R.I., Stegemann M., Metzendorf M.I., Kranke P., Meybohm P., Skoetz N., Weibel S. Ivermectin for preventing and treating COVID-19. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2022, vol. 6, no. 6: 015017. doi: 10.1002/14651858.CD015017.pub3
37. RECOVERY Collaborative Group. Lopinavir-ritonavir in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *Lancet*, 2020, vol. 396, no. 10259, pp. 1345–1352. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32013-4
38. Reis S., Metzendorf M.I., Kuehn R., Popp M., Gagyor I., Kranke P., Meybohm P., Skoetz N., Weibel S. Nirmatrelvir combined with ritonavir for preventing and treating COVID-19. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2022, vol. 9, no. 9: 015395. doi: 10.1002/14651858.CD015395.pub2
39. Sanghavi D., Bansal P., Kaur I.P., Mughal M.S., Keshavamurthy C., Cusick A., Schram J., Yarrarapu S.N.S., Giri A.R., Kaur N., Moreno Franco P., Abril A., Aslam F. Impact of colchicine on mortality and morbidity in COVID-19: a systematic review. *Ann. Med.*, 2022, vol. 54, no. 1, pp. 775–789. doi: 10.1080/07853890.2021.1993327
40. SeyedAlinaghi S., Karimi A., Barzegary A., Mojdeganlou H., Vahedi F., Mirghaderi S.P., Shobeiri P., Ramezani M., Yousefi Konjdar P., Mirzapour P., Tantuoyir M.M., Mehraeen E., Dadras O., Voltarelli F. COVID-19 mortality in patients with immunodeficiency and its predictors: a systematic review. *Eur. J. Med. Res.*, 2022, vol. 27, no. 1: 195. doi: 10.1186/s40001-022-00824-7
41. Shang W., Zhang B., Ren Y., Wang W., Zhou D., Li Y. Thymosin alpha use in adult COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis on clinical outcomes. *Int. Immunopharmacol.*, 2023, vol. 114: 109584. doi: 10.1016/j.intimp.2022.109584
42. Shibeel S., Aja I., Al-Jighefe H., Abdallah A.M. Effectiveness of convalescent plasma therapy in COVID-19 patients with hematological malignancies: a systematic review. *Hematol. Rep.*, 2022, vol. 14, no. 4, pp. 377–388. doi: 10.3390/hematolrep14040052
43. Singh A.K., Singh A., Singh R., Misra A. An updated practical guideline on use of molnupiravir and comparison with agents having emergency use authorization for treatment of COVID-19. *Diabetes Metab. Syndr.*, 2022, vol. 16, no. 2: 102396. doi: 10.1016/j.dsx.2022.102396
44. Singh A.K., Singh A., Singh R., Misra A. Molnupiravir in COVID-19: a systematic review of literature. *Diabetes Metab. Syndr.*, 2021, vol. 15, no. 6: 102329. doi: 10.1016/j.dsx.2021.102329
45. Van De Laar C.J., Oude Voshaar M.A.H., Fakhouri W.K.H., Zarella-Pechmann L., De Leonardi F., De La Torre I., Van De Laar M.A.F.J. Cost-effectiveness of a JAK1/JAK2 inhibitor vs a biologic disease-modifying antirheumatic drug (bDMARD) in a treat-to-target strategy for rheumatoid arthritis. *Clinicoecon Outcomes Res.*, 2020, vol. 12, pp. 213–222. doi: 10.2147/CEOR.S231558
46. Wei Q., Lin H., Wei R.G., Chen N., He F., Zou D.H., Wei J.R. Tocilizumab treatment for COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *Infect. Dis. Poverty*, 2021, vol. 10, no. 1: 71. doi: 10.1186/s40249-021-00857-w
47. Yang S., Shen S., Hou N. Is Ivermectin effective in treating COVID-19? *Front. Pharmacol.*, 2022, vol. 13: 858693. doi: 10.3389/fphar.2022.858693

Авторы:

СейедАлиаги С., магистр философии, кандидат наук, клинический эпидемиолог, доцент, зам. руководителя по исследовательской деятельности Иранского исследовательского центра по ВИЧ/СПИД, Иранский институт снижения рискованного поведения, Тегеранский университет медицинских наук, Тегеран, Иран;
Афсахи А.М., доктор философии, кафедра радиологии, медицинский факультет Калифорнийского университета, Сан-Диего, Калифорния, США;
Молла А., студент медицинского факультета Бушерского университета медицинских наук, г. Бушер, Иран;
Мирзапур П., Иранского исследовательского центра по ВИЧ/СПИД, Иранский институт снижения рискованного поведения, Тегеранский университет медицинских наук, Тегеран, Иран;
Шахиди Р., врач, медицинский факультет Бушерского университета медицинских наук, г. Бушер, Иран;
Сиами Х., студент медицинского факультета Исламского университета Азад, Тегеран, Иран;
Рад Ф.Ф., студент медицинского факультета Тегеранского университета медицинских наук, Тегеран, Иран;
Аббаспур Ф., Медицинский факультет Тегеранского университета медицинских наук, Тегеран, Иран;
Мозафари Н., Медицинский факультет Тегеранского университета медицинских наук, Тегеран, Иран;
Фахредини К., студент, Центр исследования поведенческих заболеваний, Институт здравоохранения, Керманшахский университет медицинских наук, г. Керманшах, Иран;
Мехрани Э., кандидат наук, ассистент кафедры медицинских информационных технологий Халхальского медицинского университета, г. Халхал, Иран;
Дадрас О., врач, Департамент глобального общественного здравоохранения и первичной медико-санитарной помощи, Университет Бергена, г. Берген, Норвегия.

Authors:

SeyedAlinaghi S., MD, MPhil, PhD, Clinical Epidemiologist, Associate Professor, Research Deputy of Iranian Research Center for HIV/AIDS (IRCHA), Iranian Institute for Reduction of High-Risk Behaviors, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran;
Afsahi A.M., MD, PhD, Department of Radiology, School of Medicine, University of California, San Diego (UCSD), California, USA;
Molla A., MD Student, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran;
Mirzapour P., Iranian Research Center for HIV/AIDS (IRCHA), Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran;
Shahidi R., MD, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran;
Siami H., MD student, School of Medicine, Islamic Azad University, Tehran, Iran;
Rad F.F., MD student, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran;
Abbaspour F., School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran;
Mozafari N., School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran;
Fakhredini K., PhD, MD student, Behavioral Diseases Research Center, Health Institute, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran;
Mehraeen E., PhD, Assistant Professor, Department of Health Information Technology, Khalkhal University of Medical Sciences, Khalkhal, Iran;
Dadras O., MD, Dr.PH, Bergen Addiction Research, Department of Addiction Medicine, Haukland University Hospital, Bergen, Norway.

Поступила в редакцию 15.07.2023
 Отправлена на доработку 28.08.2023
 Принята к печати 22.09.2023

Received 15.07.2023
 Revision received 28.08.2023
 Accepted 22.09.2023

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНТЕРОАГРЕГАТИВНОГО ШТАММА *ESCHERICHIA COLI* ONT:H30 18-726 (№ В-8857), ВЫДЕЛЕННОГО ОТ ПАЦИЕНТА С ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ, И НОВЫЙ СПОСОБ ПЦР-ИДЕНТИФИКАЦИИ

М.А. Макарова^{1,2}, Е.Е. Круглов^{3,4}, Л.А. Кафтырева^{1,2}

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

³ ЧУ ОО ВО Медицинский университет «Реавиз», г. Самара, Россия

⁴ ФГБУ ГНИИИ военной медицины МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Цель работы — изучить биологические свойства энтероагрегативного штамма *Escherichia coli* (EAgEC), выделенного из биопсийного материала слизистой оболочки толстой кишки пациента с язвенным колитом, а также разработать новый способ ПЦР-идентификации штаммов этой патогруппы. *Материалы и методы.* В исследовании приняли участие 46 пациентов с верифицированным диагнозом «язвенный колит». Выделение 87 штаммов *E. coli* осуществлялось из биопсийного материала толстой кишки, полученного в ходе стандартной эндоскопической процедуры. Описание биохимических свойств бактерий сочеталось с молекулярно-генетическим определением детерминант вирулентности и наличием механизмов антибиотикорезистентности. С использованием набора реагентов «АмплиСенс®Эшерихиозы — FL» был проведен скрининг на наличие диареогенных штаммов *E. coli*, который выявил наличие одного штамма EAgEC. Методический подход по созданию нового способа идентификации штамма базировался на поиске уникальной генетической последовательности в гене глутаматдекарбоксилазы (*gad*). *Результаты.* Штамм *E. coli* 18-726 по биохимическим признакам можно описать как типичный для своего вида. Изученный штамм характеризовался фенотипом множественной резистентности к антимикробным препаратам, а также отсутствием чувствительности к пяти препаратам бактериофагов. Штамм *E. coli* 18-726 имел уникальную последовательность гена, кодирующего O-антиген, которая отличалась от 188 известных O-антигенов (ONT), и по идентичности нуклеотидной последовательности гена, кодирующего синтез H-антигена, принадлежал к серовару H30. Таким образом, антигенная формула штамма EAgEC 18-726 выражалась как ONT:H30. Штамм *E. coli* 18-726 содержал значительный спектр генов, реализующих свойства вирулентности (*iss*, *capU*, *aggA*, *aggB*, *aggC*, *aggD*, *aap*, *aar*) и резистентности к антибиотикам (*bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{TEM-1B}, *aadA1*, *aadA5*, *mph(A)*, *catB3*). Новый способ идентификации EAgEC при хронических заболеваниях кишечника базируется на методе ПЦР с применением праймеров для специфического участка гена глутаматдекарбоксилазы (*gad*). *Заключение.* 1) Проанализированы био-

Адрес для переписки:

Круглов Егор Евгеньевич
195043, Россия, Санкт-Петербург, Лесопарковая ул., 4,
ФГБУ ГНИИИ военной медицины МО РФ.
Тел.: 8 (812) 527-39-57, 8 937 213-19-14 (моб.).
E-mail: krugegr@rambler.ru

Contacts:

Egor E. Kruglov
195043, Russian Federation, St. Petersburg, Lesoparkovaya str., 4,
State Research and Test Institute of Military Medicine.
Phone: +7 (812) 527-39-57, +7 937 213-19-14 (mobile).
E-mail: krugegr@rambler.ru

Для цитирования:

Макарова М.А., Круглов Е.Е., Кафтырева Л.А. Биологическая характеристика энтероагрегативного штамма *Escherichia coli* ONT:H30 18-726 (№ В-8857), выделенного от пациента с язвенным колитом, и новый способ ПЦР-идентификации // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 899–908. doi: 10.15789/2220-7619-BCO-1858

Citation:

Makarova M.A., Kruglov E.E., Kaftyreva L.A. Biological characteristics of the enteroaggregative *Escherichia coli* ONT:H30 18-726 (no. B-8857) strain isolated from a patient with ulcerative colitis and a new method of PCR identification // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 899–908. doi: 10.15789/2220-7619-BCO-1858

химические, антигенные и молекулярно-генетические свойства штамма *E. coli* ONT:H30 18-726 (№ В-8857), выделенного от пациента с гистоморфологически установленным диагнозом «язвенный колит». 2) Создан и запатентован способ ПЦР-идентификации EAgEC, основанный на выявлении специфического участка гена глутаматдекарбоксилазы в геноме штаммов.

Ключевые слова: *Escherichia coli*, EAgEC, язвенный колит, ПЦР, вирулентность, антибиотикорезистентность.

BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE ENTEROAGGREGATIVE *ESCHERICHIA COLI* ONT:H30 18-726 (No. B-8857) STRAIN ISOLATED FROM A PATIENT WITH ULCERATIVE COLITIS AND A NEW METHOD OF PCR IDENTIFICATION

Makarova M.A.^{a,b}, Kruglov E.E.^{c,d}, Kaftyreva L.A.^{a,b}

^a St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

^b Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

^c Reaviz Medical University, Samara, Russian Federation

^d State Research and Test Institute of Military Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The aim of the work is to assess biological properties of the enteroaggregative *Escherichia coli* (EAgEC) strain isolated from the colon mucosa biopsy material from a patient with ulcerative colitis, and to develop a new method for PCR identification of *E. coli* strains. **Materials and methods.** The study involved 46 patients with a verified ulcerative colitis. Isolation of 87 *E. coli* strains was carried out by using colon biopsy material obtained during a standard endoscopic procedure. The description of the biochemical bacterial properties was combined with the molecular genetic detection of virulence determinants and presence of antibiotic resistance mechanisms. Using the “AmpliSense® Escherichiose — FL” reagent kit, a screening for the presence of diarrheagenic *E. coli* strains was performed, which revealed the presence of a single strain of EAgEC. The methodological approach to creating a new method for strain identification was based on the search for a unique genetic sequence within the glutamate decarboxylase (*gad*) gene. **Results.** *E. coli* 18-726 can be described biochemically typical to its species. The studied strain was characterized by a multiple resistance phenotype (MDR) to antibiotics, as well as a lack of sensitivity to five bacteriophages. The *E. coli* 18-726 strain had a unique sequence of the gene encoding the O-antigen, which differed from 188 known O-antigens (ONT) and, by the identity of the nucleotide sequence of the gene encoding the synthesis of the H-antigen, the strain belonged to the H30 serovar. Thus, the antigenic formula of strain EAgEC 18-726 was expressed as ONT:H30. The *E. coli* 18-726 strain contained a significant spectrum of genes that enable properties of virulence (*iss*, *capU*, *aggA*, *aggB*, *aggC*, *aggD*, *aap*, *aar*) and resistance to antibiotics (*bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{TEM-1B}, *aadA1*, *aadA5*, *mph(A)*, *catB3*). A new method for identifying EAgEC in chronic bowel disease is based on the polymerase chain reaction method using primers for a specific region of bacterial glutamate decarboxylase (*gad*) gene. **Conclusion.** 1) The biochemical, antigenic and molecular genetic properties of *E. coli* ONT:H30 18-726 strain (No. B-8857) isolated from a patient with histomorphologically diagnosed ulcerative colitis were analyzed. 2) A method for PCR identification of EAgEC strains based on the detection of a specific region within the bacterial genomic glutamate decarboxylase gene has been created and patented.

Key words: *Escherichia coli*, EAgEC, ulcerative colitis, PCR, virulence, antibiotic resistance.

Введение

В настоящее время в связи с внедрением и использованием молекулярно-генетических методов в лабораторную практику доступным становится изучение микробиома человека не только при инфекционной патологии, но и при различных полиэтиологических нозологиях. Роль микробного фактора является дискуссионным вопросом в отношении воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) человека. Гипотеза, которая находится в процессе экспериментального подтверждения, заключается в выявлении специфического инфекционного агента, вызывающего заболевания, который не был обнаружен до настоящего времени. Также обсуждается вопрос о возник-

новении дисбаланса между индигенной микробиотой и слизистой оболочкой толстой кишки, который приводит к трансформации некоторых представителей нормобиоты, в частности *E. coli* [15]. Высокая пластичность генома *E. coli* способствует неконтролируемому формированию уникальных патогенных штаммов из комменсальных. Установлено, что распространенность штаммов-носителей генетических маркеров известных детерминант персистенции и патогенности в кишечной микробиоте здоровых лиц без признаков острого или хронического заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) не превышает 10%. При снижении концентрации и активности индигенной микробиоты в популяции *E. coli* могут произойти изменения, способствующие увеличению

клонов потенциальных патогенов. Опасность таких микробиологических нарушений становится очевидной, если принять во внимание чрезвычайно широкий спектр факторов вирулентности *E. coli*: эндо- и экзотоксины, цитотоксины, колицины, адгезины, инвазины, а также антилизоцимная, антикомплементарная и гемолизирующая активность, способность подавлять фагоцитоз, гистоповреждающие ферменты и метаболиты, резистентность к антимикробным препаратам (АМП), способность к L-трансформации и др. [3, 14]. В последние годы обсуждается роль адгезивно-инвазивных *E. coli* (AIEC) в инициацию аутоиммунного процесса при болезни Крона (БК) [26]. Известно, что AIEC могут проникать и размножаться в макрофагах, вызывая высвобождение большого количества фактора некроза опухоли (TNF α), который вызывает воспаление кишечника, характерное для БК [23, 27]. При изучении причин возникновения язвенного колита (ЯК), который характеризуется поражением дистальных отделов толстой кишки, в последние годы также высказываются предположения о роли *E. coli* как возможного патобионта-инициатора заболевания [23, 27]. При среднетяжелом и тяжелом течении ЯК современные стандарты лечения регламентируют применение АМП [6, 11, 23].

Цель исследования: изучить биологические свойства штамма *E. coli* ONT:H30 18-726 (№ В-8857) и разработать новый способ детекции энтероагрегативных штаммов *E. coli* из биопсийного материала пациентов с гистоморфологическим диагнозом «язвенный колит».

Материалы и методы

Исследование было проведено на базе эндоскопического отделения Клиник Самарского государственного медицинского университета (г. Самара). Биопсийный материал в соответствии с критериями включения и исключения из исследования был получен в ходе стандартной эндоскопической процедуры при проведении колоноскопии 46 пациентам с гистоморфологически установленным диагнозом «язвенный колит» [4, 10]. Идентификацию штаммов *E. coli* проводили методом времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-ToF MS) с использованием системы Microflex LT (Bruker Daltonics, Германия) [1]. Чувствительность к 18 антимикробным препаратам определяли диско-диффузионным методом с использованием агара Мюллера–Хинтон (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) и дисков (Oxoid, Великобритания). Интерпретацию результатов проводили согласно Клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микро-

организмов к антимикробным препаратам» 2018 г. [7]. Чувствительность к 5 препаратам бактериофагов: «Бактериофаг колипротейный», «Пиобактериофаг поливалентный очищенный», «Секстафаг», «Пиобактериофаг поливалентный», «Пиобактериофаг комплексный», «Интести» (АО «НПО Микроген», Россия) проводили согласно действующим клиническим рекомендациям [9]. Для интерпретации результатов использовали показатели: R – устойчив (0/+), I – промежуточная чувствительность (+/+), S – чувствителен (+++/++++).

Принадлежность штаммов к диареогенным *E. coli* (DEC) проводили молекулярным методом с использованием набора реагентов «АмплиСенс® Эшерихиозы – FL» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия) в режиме «реального времени» (амплификатор «СХТ-1000», Bio-Rad, США). Подготовку библиотеки генома EAgEC проводили с помощью набора TrueSeq (Illumina Inc., США), секвенирование выполняли на платформе MiSeq (Illumina). Аннотацию генома проводили с помощью утилиты Prokka v. 1.11 и геномного сервера FAST. Для анализа последовательностей ДНК полных геномов штаммов *E. coli* использовали веб-сайт Центра геномной эпидемиологии (<https://cge.cbs.dtu.dk/services>). Поиск генетических детерминант патогенности, вирулентности, антибиотикорезистентности и установление антигенной характеристики штамма (О- и Н-антигенов) проводили с использованием онлайн сервисов: PathogenFinder (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/PathogenFinder>); VirulenceFinder (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/VirulenceFinder>); ResFinder 2.1 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder>); SerotypeFinder 1.1 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/SerotypeFinder>).

Разработка детекции штаммов EAgEC, колонизирующих дно язвенной поверхности слизистой оболочки толстой кишки при ЯК, базировалась на ПЦР-методике и заключалась в выявлении уникального сочетания SNP-полиморфизмов гена глутаматдекарбоксилазы (*gad*) *E. coli* ONT:H30 18-726.

Результаты

Скрининг принадлежности штаммов к DEC, проведенный молекулярным методом, выявил наличие специфичных EAgEC участков ДНК в штамме *E. coli* 18-726. По культурально-ферментативным свойствам штамм EAgEC 18-726 характеризовался типичными видовыми признаками *E. coli*: давал положительную реакцию с метиловым красным и отрицательную Фогеса–Проскауэра, не расщеплял мочевины, не образовывал сероводород и фенилаланиндезаминазу, не ферментировал инозит и адонит, не рос на цитратном агаре Симмонса, был индол-поло-

жительным, ферментировал маннит и глюкозу до кислоты и газа, обладал β-галактозидазной активностью. По ферментативным свойствам штамм проявлял вариабельность в отношении углеводов, спиртов и аминокислот (табл. 1).

Результаты изучения чувствительности к АМП EAgEC 18-726 показали, что штамм в соответствии с международными критериями характеризовался фенотипом множественной резистентности (MDR) — резистентность к трем и более классам АМП. Резистентность была отмечена к β-лактамам (аминопенициллины, ингибитор-защищенные аминопенициллины, цефалоспорины III–IV поколения), хинолонам/фторхинолонам, аминогликозидам, тетрациклину, сульфаниламидам и триметоприму. Штамм сохранял чувствительность к карбапенемам (меропенем), хлорамфениколу и нитрофурантоину. Методом «двойных дисков» с цефтазидимом, цефотаксимом, цефепимом и амоксициллин/клавуланатом установлено, что штамм являлся продуцентом бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС).

Изучение спектра литического действия бактериофагов и их активности в отношении штамма EAgEC 18-726 выявило его фагорезистентность ко всем тестируемым препаратам (табл. 2).

Анализ генома EAgEC 18-726 с помощью платформы SerotypeFinder 2.0 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/SerotypeFinder>), онлайн-ресурса «Center for Genomic Epidemiology», показал, что штамм имел уникальную последовательность

гена, кодирующего O-антиген, которая отличалась от 188 известных O-антигенов (ONT). По идентичности нуклеотидной последовательности гена, кодирующего синтез H-антигена, штамм принадлежал к серовару H30. Таким образом, антигенная формула штамма EAgEC 18-726 выражалась как ONT:H30.

В табл. 3 представлены гены вирулентности штамма EAgEC ONT:H30 18-726. Результаты анализа на платформе VirulenceFinder (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/VirulenceFinder>) показали наличие генов вирулентности с идентичностью 100–99,9% референтным образцам: ген *aap* (антиагрегационный белок, дисперзин), ген *aar* (белок-регулятор транскрипционного активатора класса AraC/XylS), ген *aggA* (большая субъединица адгезивно-агрегационных фимбрий I типа), ген *iss* (белок устойчивости к бактерицидному действию сыворотки крови), ген *capU* (гомолог гексозилтрансферазы); с идентичностью 99,7–99,56% референтным образцам: ген *aggC* (периплазматический шаперон, сборщик начального этапа адгезивно-агрегационных фимбрий I типа) и ген *aggD* (шаперон, сборщик адгезивно-агрегационных фимбрий I типа); с идентичностью 98,95% — ген *gad* (глутамат декарбоксилаза) и идентичностью 98,17% — ген *aggB* (белок афимбриальной адгезивной оболочки энтеробактерий AfaD).

Анализ сборки геномных данных с использованием интернет-сервиса ResFinder 4.1 выявил совокупность генетических механизмов реализации устойчивости к антибиотикам, которые описаны в табл. 4.

Таблица 1. Основные ферментативные свойства штамма EAgEC 18-726, выделенного от пациента с язвенным колитом

Table 1. Main enzymatic properties of strain EAgEC 18-726 isolated from a patient with ulcerative colitis

Тест или субстрат Assay or substrate	Штамм EAgEC 18-726 EAgEC 18-726 strain	Тест или субстрат Assay or substrate	Штамм EAgEC 18-726 EAgEC 18-726 strain
Лактоза Lactose	+	Дульцит Dulcitol	+
Сахароза Sucrose	-	Сорбит Sorbitol	-
Арабиноза Arabinose	-	Салицин Salicin	-
Мальтоза Maltose	-	Орнитин Ornithine	+
Ксилоза Xylose	-	Лизин Lysine	+
Рамноза Rhamnose	+	Аргинин Arginine	-

Примечание. «+» — положительная реакция; «-» — отрицательная реакция.

Note. “+” — positive reaction; “-” — negative reaction.

Таблица 2. Чувствительность штамма EAgEC 18-726 к препаратам бактериофагов

Table 2. Sensitivity of strain EAgEC 18-726 to bacteriophage preparations

Бактериофаг Bacteriophage	Наличие лизиса Lysis	Результат Result
Колипротейный Coli- <i>Proteus</i>	-	R
Пиополивалентный очищенный Pyopolyvalent purified	1+	R
Секстафаг Sextaphage	-	R
Комплексный Complex	-	R
Интести Intesti	-	R

Примечание. «-» — отсутствие литической активности; «1+» — низкая литическая активность; R — нечувствителен к бактериофагу.

Note. “-” — lack of lytic activity; “1+” — low lytic activity; R — bacteriophage insensitivity.

Штамм *E. coli* ONT:H30 18-726 был депонирован в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск» ФБУН ГНЦ ПМБ с присвоением регистрационного номера В-8857 и выдачей свидетельства о депонировании от 25.11.2019 г. № 193.

Представленность широкого спектра генов, кодирующих факторы вирулентности, наличие значительного количества мобильных генетических элементов, а также множественная резистентность к АМП и фагоустойчивость *E. coli* ONT:H30 18-726 обосновали необходимость в создании способа выявления аналогичных штаммов в биологическом материале пациентов с ЯК. Метод основан на выявлении уникального сочетания SNP-полиморфизмов гена глутаматдекарбоксилазы (*gad*), расположенных в диапазоне NZ_GL896790.1:2763405–2763726 штамма *E. coli* ONT:H30 18-726 с использованием четырех специфических праймеров. Нуклеотидные последовательности праймеров представлены

в табл. 5. Проведение ПЦР возможно как в режиме «реального времени», так и с последующей электрофоретической детекцией.

Состав реакционной смеси: очищенная вода, пара праймеров — 0,4 мкМ каждого, 1х буфер для амплификации, концентрация Mg²⁺ — 2,5 мМ, 1х SybrGreen для детекции в «режиме реального времени», 1х раствор полимеразы без экзонуклеазной активности, матрица ДНК — 5 мкл на 20 мкл реакционной среды, режим амплификации приведен в табл. 6.

При детекции в режиме «реального времени» о наличии EAgEC свидетельствует повышение интенсивности флуоресценции по каналу FAM в обеих реакционных смесях одновременно, при этом пороговое значение цикла (Ct) — 35. При гель-электрофоретической детекции о наличии энтероагрегативного штамма *E. coli* можно судить по наличию продуктов амплификации специфических длин в обеих реакционных смесях одновремен-

Таблица 3. Характеристика генов вирулентности штамма *E. coli* ONT: H30 18-726, кодирующих механизмы реализации факторов патогенности

Table 3. Characteristics of the virulence genes of *E. coli* ONT: H30 18-726 strain encoding mechanisms to enable pathogenicity factors

Ген Gene	Идентичность, % Identity, %	Референт/образец, п.н. Reference/sample, bp	Функция белка Protein function	Референс-номер Reference No.
<i>aap</i>	100	351/351	Антиагрегационный белок, дисперзин Anti-aggregation protein, dispersin	Z32523
<i>aar</i>	100	201/201	Белок-регулятор транскрипционного активатора класса AraC/XylS AraC/XylS class regulator protein of the transcriptional activator	SSI_AA794
<i>aggA</i>	100	516/516	Большая субъединица адгезивно-агрегационных фимбрий I типа type I adhesive-aggregation fimbriae large subunit	SSI_AA804
<i>aggB</i>	98,17	438/438	Белок афимбриально-адгезивной оболочки энтеробактерий AfaD Enterobacterial afimbrial-adhesive membrane AfaD protein	U12894
<i>aggC</i>	99,7	2311/2385	Периплазматический шаперон, сборщик начального этапа адгезионно-агрегационных фимбрий I типа Periplasmic chaperone, assembler of the initial stage for adhesion-aggregation type I fimbriae	AFRH01000026
<i>aggD</i>	99,56	687/759	Шаперон, сборщик адгезионно-агрегационных фимбрий I типа Chaperone, adhesion-aggregation type I fimbriae collector	U12894
<i>capU</i>	99,9	1016/1089	Гомолог гексозилтрансферазы Hexosyltransferase homologue	CU928145
<i>gad</i>	98,95	1243/1401	Глутаматдекарбоксилаза Glutamate decarboxylase	FN554766
<i>iss</i>	100	294/294	Устойчивость к бактерицидному действию сыворотки крови Resistance to blood serum bactericidal effect	CP001846

Таблица 4. Характеристика генов штамма *E. coli* ONT: H30 18-726, кодирующих механизмы устойчивости к антибактериальным препаратамTable 4. Characteristics of the *E. coli* ONT: H30 18-726 strain genes encoding mechanisms of antibacterial drug resistance

Гены резистентности Resistance genes	Идентичность, % Identity, %	Референт/образец, п.н. Reference/sample, bp	Контиг Contig	Референс-номер Reference No.
Бета-лактамы Beta-lactams				
<i>bla</i> _{CTX-M-15}	100	876/876	NODE_386_length_4574_cov_78.801483	AY04443 6
<i>bla</i> _{TEM-1B}	100	861/861	NODE_474_length_3323_cov_77.119469	AY45
Аминогликозиды Aminoglycosides				
<i>AAC (3)-IIa</i>	99,77	861/861	NODE_90_length_2624_cov_87.983994	X51534
<i>AAC (6')-Ib-кp</i>	100	600/600	NODE_793_length_723_cov_95.589211	DQ30391 8
<i>aadA1</i>	100	789/789	NODE_120_length_24792_cov_89.782104	JQ48015 6
<i>aadA5</i>	100	789/789	NODE_380_length_1006_cov_86.854874	AF13736 1
<i>APH (3'')-Ib</i>	100	803/804	NODE_215_length_4521_cov_79.155052	AF02460 2
<i>APH (3'')-Ib</i>	99,88	804/804	NODE_215_length_4521_cov_79.155052	AF31347 2
<i>APH (3'')-Ib</i>	99,88	804/804	NODE_215_length_4521_cov_79.155052	AF32155 0
<i>APH (3'')-Ib</i>	99,88	804/804	NODE_215_length_4521_cov_79.155052	AF32155 1
<i>APH (6)-Id</i>	100	837/837	NODE_215_length_4521_cov_79.155052	M28829
<i>aadA1</i>	100	789/789	NODE_120_length_24792_cov_89.782104	JQ48015 6
Макролиды Macrolides				
<i>mdf (A)</i>	98.13	1233/1233	NODE_176_length_28514_cov_76.946098	Y08743
<i>mph (A)</i>	100	906/906	NODE_203_length_7502_cov_81.290855	D16251
Хлорамфеникол Chloramphenicol				
<i>catB3</i>	100	442/633	NODE_741_length_781_cov_64.875801	AJ00981 8
<i>catB3</i>	100	442/633	NODE_741_length_781_cov_64.875801	U13880
Хинолоны/Фторхинолоны Quinolones/Fluorquinolones				
<i>gyrA p. S83A*</i>	100	600/600	NODE_793_length_723_cov_95.589211	DQ303918
Сульфаниламиды Sulfonamides				
<i>sul1</i>	100	840/840	NODE_203_length_7502_cov_81.290855	U12338
<i>sul2</i>	100	816/816	NODE_515_length_4637_cov_74.394867	AY03413 8
Тетрациклины Tetracyclines				
<i>tet (D)</i>	100	1185/1185	NODE_474_length_3323_cov_77.119469	AF46707 7
Триметроприм Trimetroprim				
<i>dfrA1</i>	100	474/474	NODE_120_length_24792_cov_89.782104	X00926
<i>dfrA17</i>	100	354/474	NODE_309_length_1052_cov_83.835548	AM9372 44
<i>dfrA17</i>	100	354/474	NODE_309_length_1052_cov_83.835548	FJ460238

Примечание. * — мутации в генах.

Note. * — genes mutation.

Таблица 5. Нуклеотидные последовательности праймеров для детекции SNP-полиморфизмов гена *gad*Table 5. Nucleotide primer sequences for detecting SNP polymorphisms in the bacterial *gad* gene

Праймеры первой реакционной смеси First reaction mix primers	Праймеры второй реакционной смеси Second reaction mix primers
F1: CGTCAGAACCTGGCCACTTTT	F2: TCGACCTGCGTTGCGTAAAC
R1: TATCCGTTGGTTTGCCTGCA	R2: CATCCCAGTAGCGGGCG
Размер ПЦР-продукта: 292 п.н. PCR product size: 292 bp	Размер ПЦР-продукта: 240 п.н. PCR product size: 240 bp

Примечание. Реакции с обеими парами праймеров проводятся отдельно друг от друга.

Note. PCR with both pairs of primers is carried out separately.

но: для первой реакции — 292 п.н., для второй — 240 п.н. [8]. Получен патент на изобретение «Способ выявления энтероагрегативных штаммов *E. coli* из толстой кишки у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника» (№ 2758475 RU от 28.10.2021) [8].

Обсуждение

Воспалительные заболевания кишечника, к которым относится ЯК, являются одной из наиболее серьезных проблем гастроэнтерологии во всех странах. По тяжести течения, частоте осложнений и летальности они занимают ведущее место в структуре болезней [11, 18]. Несмотря на многолетнюю историю изучения, этиология ЯК остается неизвестной, а патогенез недостаточно раскрытым [11].

Патогенные *E. coli* характеризуются широким спектром факторов вирулентности, включая адгезины, токсины, сидерофоры, капсулы и инвазины и др. Такие штаммы могут вызвать патологический процесс практически каждого органа или системы. Не исключена роль *E. coli* при хронических заболеваниях ЖКТ, в инициации и поддержании патологического воспалительного процесса, а также язвенно-некротических реакций [16]. Генетическое разнообразие *E. coli*, наличие специфических генов вирулентности позволяют предположить этиологическую значимость этих микроорганизмов в развитии ЯК [5, 28]. Штаммы EAgEC — одной из шести патогрупп DEC — вызывают острые кишечные инфекции у детей и взрослых во всех странах. Метааналитические эпидемиологические исследования выявили статистически значимую связь EAgEC с диареями: острыми, продолжительными, хроническими, диареями ВИЧ-инфицированных и путешественников [17]. Длительная персистенция EAgEC может вызывать хроническое воспаление кишечника, снижая его абсорбционную функцию, приводя к алиментарной дистрофии, анемии, гипопропротеинемии, нарушениям физического и когнитивного состояния [20]. EAgEC, в отличие от других патогенных *E. coli*, характеризует широкая вариабельность генетических маркеров вирулентности [16, 24]. Это указывает на то, что вызывать воспалительный процесс способны только штаммы EAgEC, несущие специфические гены вирулентности. В то же время ни один из факторов вирулентности не был неопровержимо связан с вирулентностью EAgEC, а гены, кодирующие их, не присутствуют равномерно во всех изолированных штаммах. Эксперименты *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo* убедительно показали, что EAgEC могут адгезироваться на эпителиоциты тощей, подвздошной и толстой кишки, образуя

Таблица 6. Режимы амплификации для детекции SNP-полиморфизмов гена *gad*

Table 6. Amplification modes for detection of *gad* gene SNP polymorphisms

№ цикла Cycle No.	Температура, °C Temperature, °C	Время Time	Количество циклов Number of cycles
1	95	5 мин 5 min	1
2	95	30 с 30 s	40
3	65	65 с 65 s	
4	72	20 с 20 s	
5	72	5 мин 5 min	1

прочную биопленку с последующим цитотоксическим и провоспалительным действием. Патогенез заболевания включает три этапа: а) обильное прилипание к слизистой оболочке кишечника — адгезия и колонизация; б) продукция цитотоксинов и энтеротоксинов; в) индукция воспаления слизистой оболочки. Воспаление, вызванное EAgEC, является результатом обильной колонизации слизистой оболочки кишечника [12, 19].

Проведенный анализ полногеномного секвенирования показал, что у штамма *E. coli* ONT:H30 18-726 (№ В-8857) присутствует несколько детерминант, ассоциированных с адгезией и колонизацией — *aggA*, *aggB*, *aggC* и *aggD*, кодирующих активатор транскрипции экспрессии хромосомных и плазмидо-кодируемых факторов вирулентности, включая антиагрегационный белок дисперзин (ген *aap*), который способствует проникновению бактерии через слизь крипт толстой кишки [25]. Данный метаболический путь может привести к генерализации инфекции — развитию сепсиса — за счет блокировки фибриногена, который участвует в механизме тромбоза — защитной реакции организма при сепсисе [2, 21]. Вирулентный адгезивный аппарат дополнительно представлен геном агрегативного регулона — *aar*, который обеспечивает активность более 40 генетических элементов, ответственных за взаимодействие с эпителиальными клетками кишечника человека [22]. У изученного штамма был идентифицирован ген *iss*, обеспечивающий устойчивость к бактерицидному действию сыворотки крови, наличие которого можно расценивать как потенциал гематогенной генерализации инфекции или существенного ухудшения течения основного заболевания, в настоящем случае — ЯК.

К одним из основных препаратов для лечения ЯК и поддержания ремиссии относятся АМП, поэтому проблема антибиотикорезистентности представляется особо актуальной. Проведенное исследование показало, что штамм *E. coli* ONT:H30 18-726 (№ В-8857) характеризовался множественной устойчивостью к АМП разных групп. Резистентность к цефалоспорином III–IV поколения обусловлена продукцией эпидемически значимой глобально распространенной в популяции грамотрицательных бактерий цефалоспоринызы СТХ-M15. Низкая литическая активность и полная фагоустойчивость к биологическим препаратам — бактериофагам — в отношении изученного штамма предполагает невозможность применения отечественных препаратов к элиминации данного патогена при эмпирической терапии ЯК. Фагоустойчивость к биологическим агентам отмечается в литературе и характеризуется развитием резистентности к препаратам данного типа, а также необходимостью регулярного обновления фармакологического набора фаготерапевтических препаратов [13].

Таким образом, данные, полученные по результатам полногеномного секвенирования штамма EAgEC, выделенного от пациента с гистологически подтвержденным диагнозом «язвенный колит», свидетельствуют, что традиционные культуральные методы изучения

штаммов *E. coli*, колонизирующих кишечник пациентов с ЯК, включая определение чувствительности к АМП, подходят только для фенотипической характеристики выделенного изолята. В виду этого одним из перспективных направлений в детекции EAgEC у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника, а также в изучении механизмов резистентности к АМП, становится применение современных генетических методик. Использование дополнительных методов позволит получить информацию, необходимую клиницисту для принятия решения о назначении адекватной этиотропной терапии пациентов с ЯК. Для получения достоверных данных об этиологии ЯК и роли EAgEC в патогенезе воспаления толстого кишечника требуется проведение дальнейших исследований. Особенно это становится актуальным в связи с широким распространением среди больных ЯК грамотрицательных бактерий с фенотипом множественной резистентности к АМП, продуцирующих БЛРС.

Благодарности

Особая благодарность выражается Никите Андреевичу Буланцеву — выпускнику магистратуры SCAMT ИТМО (Санкт-Петербург) за помощь в обработке массивов сиквенс-данных.

Список литературы/References

1. Баранцевич Е.П., Баранцевич Н.Е. Применение MALDI-ToF масс-спектрометрии в клинической микробиологии // Трансляционная медицина. 2014. № 3. С. 23–28. [Barantsevich E.P., Barantsevich N.E. MALDI-ToF mass spectrometry in clinical microbiology. *Translyatsionnaya meditsina = Translational Medicine*, 2014, no. 3, pp. 23–28. (In Russ.)] doi: 10.18705/2311-4495-2014-0-3-23-28
2. Галстян Г.М., Гапонова Т.В., Жибурт Е.Б., Балашова Е.Н., Берковский А.Л., Быстрых О.А., Купряшов А.А., Оловникова Н.И., Ошоров А.В., Рыбка М.М., Троицкая В.В., Буланов А.Ю., Журавель С.В., Лубнин А.Ю., Мазурок В.А., Недомолкин С.В., Певцов Д.Э., Рогачевский О.В., Салимов Э.Л., Трахтман П.Е., Чжао А.В., Шерстнев Ф.С., Савченко В.Г. Клиническое использование криопреципитата // Гематология и трансфузиология. 2020. Т. 65, № 1. С. 87–114. [Galstyan G.M., Gaponova T.V., Zhiburt E.B., Balashova E.N., Berkovskiy A.L., Bystrykh O.A., Kupryashov A.A., Olovnikova N.I., Oshorov A.V., Rybka M.M., Troitskaya V.V., Bulanov A.Yu., Zhuravel S.V., Lubnin A.Yu., Mazurok V.A., Nedomolkin S.V., Pevtsov D.E., Rogachevskiy O.V., Salimov E.L., Trakhtman P.E., Chzhao A.V., Sherstnev F.S., Savchenko V.G. Clinical guidelines for cryoprecipitate transfusions. *Gematologiya i transfuziologiya = Russian Journal of Hematology and Transfusiology*, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 87–114. (In Russ.)] doi: 10.35754/0234-5730-2020-65-1-87-114
3. Егорова С.А., Кафтырева Л.А., Липская Л.В., Коноваленко И.Б., Пясетская М.Ф., Курчикова Т.С., Ведерникова Н.Б., Морозова О.Т., Смирнова М.В., Попенко Л.Н., Любушкина М.И., Савочкина Ю.А., Макарова М.А., Сужаева Л.В., Останкова Ю.В., Иванова М.Н., Павелкович А.М., Наабер П., Сепп Э., Кыльялг С., Мицюлявичене И., Балод А. Штаммы энтеробактерий, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра и металло-β-лактамазу ndm-1, выделенные в стационарах в странах Балтийского региона // Инфекция и иммунитет. 2013. Т. 3, № 1. С. 29–36. [Egorova S.A., Kaftyreva L.A., Lipskaya L.V., Konvalenko I.B., Pyasetskaya M.F., Kurchikova T.S., Vedernikova N.B., Morozova O.T., Smirnova M.V., Popenko L.N., Lyubushkina M.I., Savochkina Yu.A., Makarova M.A., Suzhaeva L.V., Ostankova Yu.V., Ivanova M.N., Pavelkovich A.M., Naaber P., Sepp E., Kyl'yalg S., Mitsyulyavichene I., Balode A. Enterobacteriaceae, producing ESBLs and metallo-β-lactamase NDM-1, isolated in hospitals of Baltic region countries. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2013, vol. 3, no. 1, pp. 29–36 (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2013-1-29-36
4. Каторкин С.Е., Жестков А.В., Суворова Г.Н., Мякишева Ю.В., Лямин А.В., Андреев П.С., Давыдова О.Е., Круглов Е.Е. Комплексная характеристика клинических, патоморфологических, микробиологических особенностей язвенного колита // Военно-медицинский журнал. 2019. Т. 340, № 10. С. 68–71. [Katorkin S.E., Zhestkov A.V., Suvorova G.N., Myakisheva Yu.V., Lyamin A.V., Andreev P.S., Davydova O.E., Kruglov E.E. Complex characteristics of clinical, pathological and microbiological features of ulcerative colitis. *Voenno-meditsinskiy zhurnal = Military Medical Journal*, 2019, vol. 340, no. 10, pp. 68–71. (In Russ.)]

5. Макарова М.А., Круглов Е.Е., Матвеева З.Н., Зверьякина Н.Н., Кафтырева Л.А. Характеристика штаммов *Escherichia coli*, выделенных при остром аппендиците и хроническом язвенном колите // Проблемы медицинской микологии. 2020. Т. 22, № 4. С. 66–71. [Makarova M.A., Kruglov E.E., Matveeva Z.N., Zver'yakina N.N., Kaftyreva L.A. Characteristics of *Escherichia coli* strains isolated in acute appendicitis and ulcerative colitis. *Problemy meditsinskoi mikologii = Problems in Medical Mycology*, 2020, vol. 22, no. 4, pp. 66–71. (In Russ.)] doi: 10.24412/1999-6780-2020-4-66-71
6. Об утверждении стандарта медицинской помощи больным с язвенным колитом (при оказании специализированной помощи): Приказ Минздравсоцразвития России от 8.06.2007 № 406. [On approval of the standard of medical care for patients with ulcerative colitis (in the provision of specialized care): Order of the Ministry of Health and Social Development of Russia dated June 8, 2007 No. 406. (In Russ.)] URL: <https://docs.cntd.ru/document/902048232> (31.05.2022)
7. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам: рекомендации Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. Версия 2021-01. 222 с. [Assessment of microorganisms sensitivity to antimicrobial agents: Guidelines of the Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. Version 2021-01. 222 p. (In Russ.)] URL: <https://www.antibiotic.ru/minzdrav/category/clinical-recommendations> (31.05.2022)
8. Патент № 2758475 Российская Федерация, МПК C12Q 1/68 (2006.01). Способ выявления энтероагрегативных штаммов *Escherichia coli* из толстой кишки у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника: № 2020140059; заявлено 2020.12.04; опубликовано 2021.10.28 / Круглов Е.Е., Мякишева Ю.В., Викторов Д.А., Соловьев А.В., Лямин А.В., Жестков А.В., Макарова М.А., Кафтырева Л.А. Патентообладатель: Круглов Е.Е. 8 с. [Patent No. 2758475 Russian Federation, Int. Cl. C12Q 1/68 (2006.01). Method for detecting enteroaggregative *Escherichia coli* strains from the colon in patients with inflammatory bowel diseases. No. 2020140059; application: 2020.12.04; date of publication 2020.12.04 / Kruglov E.E., Myakisheva Yu.V., Viktorov D.A., Solov'ev A.V., Lyamin A.V., Zhestkov A.V., Makarova M.A., Kaftyreva L.A. Proprietor: Kruglov E.E. 8 p.]
9. Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике. Федеральные клинические рекомендации. М.: 2014. 39 с. [Rational use of bacteriophages in medical and anti-epidemic practice. Federal clinical guidelines. Moscow, 2014. 39 p. (In Russ.)]
10. Суворова Г.Н., Мякишева Ю.В., Каторкин С.Е., Андреев П.С., Давыдова О.Е., Лямин А.В., Круглов Е.Е., Сухачев П.А. Гистологическая картина и микробный пейзаж при язвенном колите // Вестник новых медицинских технологий. 2018. Т. 25, № 4. С. 170–175. [Suvorova G.N., Myakisheva Yu.V., Katorkin S.E., Andreev P.S., Davydova O.E., Lyamin A.V., Kruglov E.E., Sukhachev P.A. Histology and microbic landscape with ulcerative colitis. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy = Journal of New Medical Technologies*, 2018, vol. 25, no. 4, pp. 170–175. (In Russ.)] doi: 10.24411/1609-2163
11. Язвенный колит: Клинические рекомендации. 2020. ID 193. 69 с. [Clinical guidelines «Ulcerative colitis». 2020. ID 193. 69 p. (In Russ.)] URL: https://cr.minzdravc.gov.ru/recommend/193_1 (31.05.2022)
12. Biran D., Sura T., Otto A., Yair Y., Becher D., Ron E. Surviving serum — the *E. coli* iss gene (increased serum survival) of extraintestinal pathogenic *E. coli* (ExPEC) is required for the synthesis of group 4 capsule. *Infect. Immun.*, 2021, vol. 89, no. 10: e00316-21. doi: 10.1128/IAI.00316-21
13. Bolocan A.S., Callanan J., Forde A., Ross P., Hill C. Phage therapy targeting *Escherichia coli*—a story with no end? *FEMS Microbiol. Lett.*, 2016, vol. 363, no. 22: fnw256. doi: 10.1093/femsle/fnw256
14. Butler D.A., Rana A.P., Krapp F., Patel S.R., Huang Y., Ozer E.A., Hauser A.R., Bulman Z.P. Optimizing aminoglycoside selection for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* with the aminoglycoside-modifying enzyme (AME) gene *aac(6')*-Ib. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2021, vol. 76, no. 3, pp. 671–679. doi: 10.1093/jac/dkaa480
15. Costa R.F.A., Ferrari M.L.A., Bringer M.A., Darfeuille-Michaud A., Martins F.S., Barnich N. Characterization of mucosa-associated *Escherichia coli* strains isolated from Crohn's disease patients in Brazil. *BMC Microbiol.* 2020, vol. 20, no. 1: 178. doi: 10.1186/s12866-020-01856-x
16. Desvaux M., Dalmaso G., Beyrouthy R., Barnich N., Delmas J., Bonnet R. Pathogenicity factors of genomic islands in intestinal and extraintestinal *Escherichia coli*. *Front. Microbiol.*, 2020, vol. 25, no. 11: 2065. doi: 10.3389/fmicb.2020.02065
17. Huang D.B., Nataro J.P., DuPont H.L., Kamat P.P., Mhatre A.D., Okhuysen P.C., Chiang T. Enteroaggregative *Escherichia coli* is a cause of acute diarrheal illness: a meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.*, 2006, vol. 43, no. 5, pp. 556–563. doi: 10.1086/505869
18. Iablokov S.N., Klimenko N.S., Efimova D.A., Shashkova T., Novichkov P.S., Rodionov D.A., Tyakht A.V. Metabolic phenotypes as potential biomarkers for linking gut microbiome with inflammatory bowel diseases. *Front. Mol. Biosci.*, 2021, no. 7: 603740. doi: 10.3389/fmolb.2020.603740
19. Jenkins C. Enteroaggregative *Escherichia coli*. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2018, vol. 416, pp. 27–50. doi: 10.1007/82_2018_105
20. Jensen B.H., Olsen K.E., Struve C., Krogfelt K.A., Petersen A.M. Epidemiology and clinical manifestations of enteroaggregative *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2014, vol. 27, no. 3, pp. 614–630. doi: 10.1128/CMR.00112-13
21. Moraes C., Longo J., Silva L.B., Pimenta D.C., Carvalho E., Morone M.S., da Rós N., Serrano S.M.T., Santos A.C.M., Piazza R.M.F., Barbosa A.S., Elias W.P. Surface protein dispersin of enteroaggregative *Escherichia coli* binds plasminogen that is converted into active plasmin. *Front. Microbiol.*, 2020, no. 11: 1222. doi: 10.3389/fmicb.2020.01222
22. Morin N., Santiago A., Ernst R., Guillot S., Nataro J. Characterization of the AggR regulon in enteroaggregative *E. coli*. *Infect. Immun.*, 2012, vol. 81, no. 10, pp. 122–132. doi: 10.1128/IAI.00676-12
23. Mousavifar L., Roy R. Recent development in the design of small “drug-like” and nanoscale glycomimetics against *Escherichia coli* infections. *Drug Discov. Today*, 2021, vol. 26, no. 9, pp. 2124–2137. doi: 10.1016/j.drudis.2021.02.025
24. Nuesch-Inderbinen M.T., Hofer E., Hächler H., Beutin L., Stephan R. Characteristics of enteroaggregative *Escherichia coli* isolated from healthy carriers and from patients with diarrhoea. *J. Med. Microbiol.*, 2013, vol. 62, no. 12, pp. 1828–1834. doi: 10.1099/jmm.0.065177-0
25. Prieto A., Bernabeu M., Sánchez-Herrero J.F., Pérez-Bosque A., Miró L., Bäuerl C., Collado C., Hüttener M., Juárez A. Modulation of AggR levels reveals features of virulence regulation in enteroaggregative *E. coli*. *Commun. Biol.*, 2021, vol. 4, no. 1: 1295. doi: 10.1038/s42003-021-02820-9

26. Shaler C.R., Elhenawy W., Coombes B.K. The unique lifestyle of Crohn's disease-associated adherent-invasive Escherichia coli. *J. Mol. Biol.*, 2019, vol. 431, no. 16, pp. 2970–2981. doi: 10.1016/j.jmb.2019.04.023
27. Tyakht A.V., Kostyukova E.S., Popenko A.S., Belenikin M.S., Pavlenko A.V., Larin A.K., Karpova I.Y., Selezneva O.V., Semashko T.A., Ospanova E.A., Babenko V.V., Maev I.V., Cheremushkin S.V., Kucheryavyy Y.A., Shcherbakov P.L., Grinevich V.B., Efimov O.I., Sas E.I., Abdulkhakov R.A., Abdulkhakov S.R., Lyalyukova E.A., Livzan M.A., Vlassov V.V., Sagdeev R.Z., Tsukanov V.V., Osipenko M.F., Kozlova I.V., Tkachev A.V., Sergienko V.I., Alexeev D.G., Govorun V.M. Human gut microbiota community structures in urban and rural populations in Russia. *Nat. Commun.*, 2013, no. 4: 2469. doi: 10.1038/ncomms3469
28. Zhang S.L., Wang S.N., Miao C.Y. Influence of microbiota on intestinal immune system in ulcerative colitis and its intervention. *Front. Immunol.*, 2017, no. 8: 1674. doi: 10.3389/fimmu.2017.01674

Авторы:

Макарова М.А., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; доцент кафедры медицинской микробиологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

Круглов Е.Е., к.м.н., доцент кафедры клинической медицины ЧУ ОО ВО Медицинский университет «Реавиз», г. Самара, Россия; научный сотрудник научно-исследовательского испытательного отдела ФГБУ ГНИИИ военной медицины МО РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Кафтырева Л.А., д.м.н., ведущий научный сотрудник группы эпидемиологии брюшного тифа ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; профессор кафедры медицинской микробиологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Makarova M.A., DSc (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Enteric Infections, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Associate Professor, Department of Medical Microbiology, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;

Kruglov E.E., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Clinical Medicine, Reaviz Medical University, Samara, Russian Federation; Researcher, Research and Testing Department, State Research and Test Institute of Military Medicine, St. Petersburg, Russian Federation;

Kaftyreva L.A., DSc (Medicine), Leading Researcher, Typhoid Epidemiology Research Group, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Professor, Department of Medical Microbiology, I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 28.12.2021
Отправлена на доработку 17.01.2022
Принята к печати 28.08.2023

Received 28.12.2021
Revision received 17.01.2022
Accepted 28.08.2023

EPIDEMIC STATUS IN RUSSIA'S NORTHWESTERN FEDERAL DISTRICT: TICK-BORNE ENCEPHALITIS AND IXODES TICK- BORNE BORRELIOSIS (LYME DISEASE), 2002–2021

I.A. Karmokov^{a,b}, E.G. Riabiko^{a,b}, O.V. Blinova^a, E.N. Kolosovskaya^b, N.K. Tokarevich^a

^a St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

^b North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The study's objective was to reveal trends in tick-borne encephalitis (TBE) and Ixodes tick-borne borreliosis (ITBB) epidemic processes in Russia's Northwestern Federal District (NWFD) in 2002–2021. In the NWFD during the analyzed period, more than 1.1 million patients sought medical help following tick bites (14% of all cases registered nationwide). The long-term average tick bite incidence rate in the NWFD exceeded the nation-wide value: 409.5 and 280.7, respectively. In the NWFD, the highest long-term average tick bite incidence rates were recorded in Vologda Oblast, Pskov Oblast, and Novgorod Oblast. The tick bite incidence rate tended to grow in the NWFD, as well as nationally. The growth in tick bite incidence was statistically significant in the Republic of Komi, Kaliningrad Oblast, and Arkhangelsk Oblast. In 2002–2021, more than 6000 TBE cases were registered in the NWFD (11% of all cases registered nationwide), and the TBE long-term average incidence rate in the NWFD exceeded the national value: 2.3 and 2.0, respectively. The Republic of Karelia, Arkhangelsk Oblast, and Vologda Oblast were three NWFD subjects with high TBE epidemical hazard. TBE incidence in the analyzed period tended to decrease, both in the NWFD and nationwide. A statistically significant decrease in TBE incidence was revealed in St. Petersburg, in the Republic of Karelia, in Novgorod Oblast, and in Leningrad Oblast. About 22 000 ITBB cases were reported in the NWFD during the analyzed period (15% of all ITBB cases in Russia). The ITBB long-term average incidence rate in the NWFD exceeded the national value: 7.9 and 4.9, respectively. Vologda Oblast, Kaliningrad Oblast, and Pskov Oblast were three NWFD subjects with high epidemical hazard in terms of ITBB. ITBB incidence during the analyzed period tended to decrease, both in the NWFD and nationwide. The decrease in ITBB incidence was statistically significant in Vologda, Kaliningrad, Novgorod, Leningrad and Pskov Oblasts, as well as in St. Petersburg. In the Republic of Komi, in contrast to other NWFD subjects or national data, there was an uptrend in both TBE and ITBB incidence.

Key words: incidence, tick-borne encephalitis, ixodes tick-borne borreliosis, Lyme disease, tick bite incidence, prophylaxis, Northwestern Federal District of the Russian Federation.

Адрес для переписки:

Кармоков Ислам Анатольевич
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 (812) 644-63-81.
E-mail: karmokov@pasteurorg.ru

Contacts:

Islam A. Karmokov
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 (812) 644-63-81.
E-mail: karmokov@pasteurorg.ru

Для цитирования:

Кармоков И.А., Рябико Е.Г., Блинова О.В., Колосовская Е.Н.,
Токаревич Н.К. Эпидемическая ситуация по клещевому энцефалиту
и иксодовым клещевым боррелиозам (болезни Лайма) в Северо-
Западном федеральном округе Российской Федерации в 2002–
2021 гг. // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 909–922.
doi: 10.15789/2220-7619-TES-12118

Citation:

Karmokov I.A., Riabiko E.G., Blinova O.V., Kolosovskaya E.N., Tokarevich N.K.
Epidemic status in Russia's Northwestern Federal District: tick-borne
encephalitis and ixodes tick-borne borreliosis (Lyme disease), 2002–2021 //
Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023,
vol. 13, no. 5, pp. 909–922. doi: 10.15789/2220-7619-TES-12118

ЭПИДЕМИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО КЛЕЩЕВОМУ ЭНЦЕФАЛИТУ И ИКСОДОВЫМ КЛЕЩЕВЫМ БОРРЕЛИОЗАМ (БОЛЕЗНИ ЛАЙМА) В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2002–2021 гг.

Кармоков И.А.^{1,2}, Рябико Е.Г.^{1,2}, Блинова О.В.¹, Колосовская Е.Н.², Токаревич Н.К.¹

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Целью данной работы является выявление современных тенденций развития и особенностей течения эпидемического процесса клещевого энцефалита (КЭ) и иксодовых клещевых боррелиозов (ИКБ) на территории Северо-Западного федерального округа Российской Федерации (СЗФО) в период с 2002 по 2021 гг. На территории СЗФО на протяжении анализируемого периода было зарегистрировано более 1,1 млн человек, обратившихся за медицинской помощью по поводу присасывания клещей (14% от всех зарегистрированных случаев обращения на территории РФ). Среднемноголетний показатель обращаемости населения за медицинской помощью по поводу присасывания клещей (далее обращаемости) за данный период на территории СЗФО превышает общероссийский (409,5 и 280,7 соответственно). Наиболее высокие уровни среднемноголетнего показателя обращаемости на территории СЗФО были зафиксированы в Вологодской, Псковской и Новгородской областях. Показатель обращаемости в СЗФО, как и в России в целом, имеет тенденцию к росту. Статистически значимый рост показателя обращаемости выявлен в Республике Коми, Калининградской и Архангельской областях. На территории СЗФО за период с 2002 по 2021 гг. было зарегистрировано более 6 тыс. случаев КЭ (11% всех случаев, зарегистрированных на территории РФ). Среднемноголетний показатель заболеваемости КЭ за анализируемый период на территории СЗФО выше, чем общероссийский (2,3 и 2,0 соответственно). К субъектам СЗФО с высоким уровнем эпидемической опасности по КЭ были отнесены Республика Карелия, Архангельская и Вологодская области. Показатель заболеваемости КЭ на протяжении анализируемого периода имеет тенденцию к снижению как в СЗФО, так и в России в целом. Статистически значимое снижение показателя заболеваемости КЭ выявлено в Санкт-Петербурге, Республике Карелия, Новгородской и Ленинградской областях. На территории СЗФО за анализируемый период было зарегистрировано около 22 тыс. случаев ИКБ (15% всех случаев, зарегистрированных на территории РФ). Среднемноголетний показатель заболеваемости ИКБ за данный период на территории СЗФО выше, чем общероссийский (7,9 и 4,9 соответственно). К субъектам с высоким уровнем эпидемической опасности по ИКБ были отнесены Вологодская, Калининградская и Псковская области. Показатель заболеваемости ИКБ на протяжении анализируемого периода имеет тенденцию к снижению как в СЗФО, так и в России в целом. Статистически значимое снижение показателя заболеваемости ИКБ выявлено в Вологодской, Калининградской, Новгородской, Ленинградской и Псковской областях, а также в Санкт-Петербурге. В Республике Коми, в отличие от других субъектов СЗФО и общероссийских показателей, на протяжении анализируемого периода наблюдалась тенденция к росту заболеваемости КЭ и ИКБ.

Ключевые слова: показатель заболеваемости, клещевой энцефалит, иксодовые клещевые боррелиозы, болезнь Лайма, показатель обращаемости, профилактика, Северо-Западный федеральный округ Российской Федерации.

Introduction

Tick-borne encephalitis (TBE) and Ixodes tick-borne borreliosis (ITBB, Lyme disease) are natural focal diseases widespread in the Russian Federation, including the subjects of Russia's Northwestern Federal District (NWFD). The need for research on these infections stems from their high prevalence, degraded quality of life in chronic disease patients, development of persistent complications and disability, lack of specific methods for ITBB prevention, and frequent occurrence of lethal outcomes in the absence of specific treatment for TBE.

TBE is a vital issue in most Russian areas. It is endemic in seven out of eight Federal Districts, including 48 federal subjects ("List of administrative territories of the constituent entities of the Russian Federation endemic for tick-borne viral encephalitis in 2021" attached to the letter No. 02/2510-2022-32

of Rospotrebnadzor dated February 4, 2022 [https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID = 21225]). In addition, TBE foci are currently expanding and increasing in activity in Russia [4], Northern Europe and Eastern Europe [30, 32, 34, 39]. The growth in TBE incidence, and the expansion of TBE foci in Europe, are associated with climate change, increases in both tick and host populations, bird migration, as well as insufficient preventive vaccination in most European countries [30].

Both TBE and ITBB are of great socioeconomic importance. In the Russian Federation in 2011, the annual TBE-associated socioeconomic burden was estimated to be 1.26 billion rubles, while relevant DALYs totaled 4177 [3]. The highest ITBB incidence rates are recorded in Northeastern and Central Europe. ITBB incidence rates in excess of 100 are annually recorded in some districts of Sweden, Norway, Estonia, Lithuania, Poland, Germany, Austria,

Slovenia, and Switzerland, while somewhat lower values (20–90) are registered in Finland, Belgium and France [33].

ITBB cases are annually reported in 67 subjects of the Russian Federation [25]. In 2011, the annual ITBB-associated socioeconomic burden in the Russian Federation was estimated to be 782.9 million rubles, while relevant DALYs totaled 16 370 [23]. The significance of TBE and ITBB highlights the need for research over time on both: disease incidence rates; and tick bite incidence rates (TBIR). These can provide a basis for improving appropriate preventive measures. The study's objective was to identify current developmental trends and features of the TBE and ITBB epidemic processes in the NWFD in 2002–2021.

Geographic and demographic data

The NWFD is located in Russia's European North and Northwest regions. The district is 1687.0 thousand square kilometers, representing 9.9% of Russia's total area. It shares land borders with a number of European countries: Norway and Finland to the northwest; as well as Estonia, Latvia and the Republic of Belarus to the west. The district includes Kaliningrad Oblast which borders Lithuania (north and east) and Poland (to the south). The NWFD borders the Ural Federal District in the east as well as Russia's Central and Volga Federal Districts in the south (Fig. 1).

The NWFD consists of eleven subjects: Arkhangelsk Oblast, Vologda Oblast, Kaliningrad Oblast, Leningrad Oblast, Murmansk Oblast, Novgorod

Oblast, Pskov Oblast, Nenets Autonomous Okrug, the Republic of Karelia, the Republic of Komi, and the federal city of St. Petersburg (hereafter "St. Petersburg"). St. Petersburg is the center of the NWFD. The climate in the NWFD is mostly temperate (Atlantic-continental), with the exception of the north of Murmansk Oblast and the entire Nenets Autonomous Okrug, where the climate is subarctic (marine). The climate is temperate (marine) in the south of Murmansk Oblast and throughout Kaliningrad Oblast. The total population of the NWFD (as of January 1, 2022) was 13 901 100 [24]. The urban population represents 85%. The population density is 8.2 per km².

Materials and methods

We analyzed official data on TBE and ITBB incidence in those eleven subjects, as well as corresponding TBIRs, as published by Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare (Rospotrebnadzor) branches in Arkhangelsk Oblast [8], Vologda Oblast [9], Kaliningrad Oblast [10], Leningrad Oblast [11], Murmansk Oblast [12], Nenets Autonomous Okrug [13], Novgorod Oblast [14], Pskov Oblast [15], the Republic of Karelia [16], the Republic of Komi [17], and St. Petersburg [19].

To break down NWFD subjects into groups of low, medium or high epidemical hazard, we calculated a 95% confidence interval (CI) for long-term average incidence rate (LTAIR). Subjects with LTAIRs less

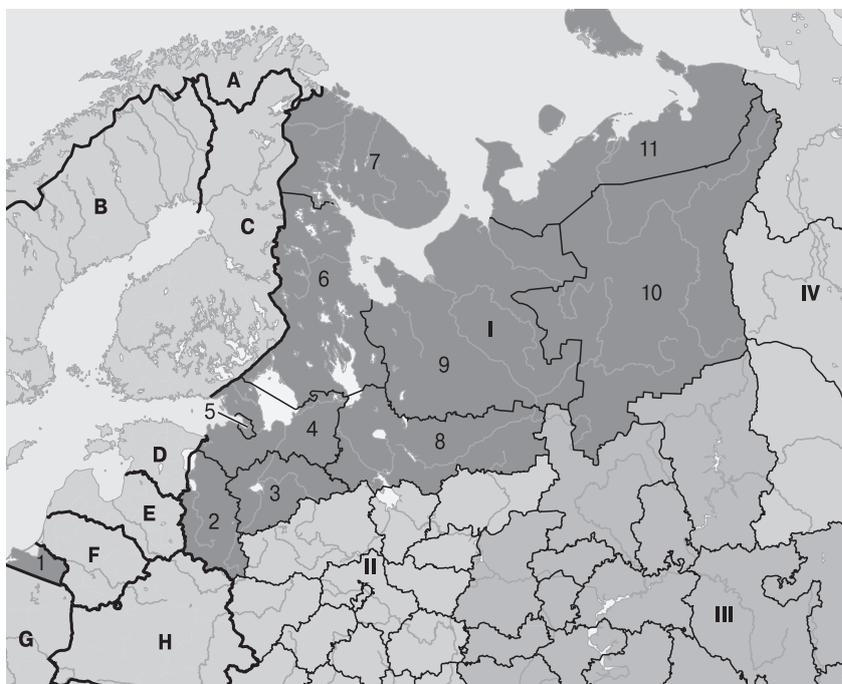


Figure 1. The Northwestern Federal District and adjacent territories

Note. A — Norway, B — Sweden, C — Finland, D — Estonia, E — Latvia, F — Lithuania, G — Poland, H — the Republic of Belarus. Federal Districts (FD): I — Northwestern FD, II — Central FD, III — Volga FD, IV — Ural FD. Regions (oblasts): 1 — Kaliningrad Oblast, 2 — Pskov Oblast, 3 — Novgorod Oblast, 4 — Leningrad Oblast, 5 — St. Petersburg, 6 — the Republic of Karelia, 7 — Murmansk Oblast, 8 — Vologda Oblast, 9 — Arkhangelsk Oblast, 10 — the Republic of Komi, 11 — Nenets Autonomous Okrug.

Table. Trends in the development of the epidemic process (TBE, ITBB) and TBIR, 2002–2021

NWFD subject	Arkhangelsk Oblast	Vologda Oblast	Kaliningrad Oblast	The Republic of Karelia	The Republic of Komi	Leningrad Oblast	Novgorod Oblast	Pskov Oblast	St. Petersburg	NWFD	Russian Federation
LTATBIR in 2002–2021	460.1	1231.9	365.8	589.0	173.5	358.1	584.1	611.0	261.0	409.5	280.7
95% CI	398.0–522.2	1070.2–1393.6	286.7–444.9	532.2–645.8	127.0–220.0	315.3–400.9	505.9–662.3	489.2–732.8	229.9–292.1	366.8–452.2	239.2–322.2
Rincr/Rdecr in 2002–2021, %	5.6	0.4	6.3	-0.4	15.2	-1.2	-0.9	2.2	2.3	1.6	3.2
R², %	60.62	1.04	49.91	19.47	75.28	2.13	2.24	2.91	8.64	6.42	58.99
p	< 0.01	0.67	< 0.01	0.05	< 0.01	0.54	0.53	0.47	0.21	0.28	< 0.01
LTAIR of TBE in 2002–2021	5.5	5.5	1.3	6.3	1.3	1.9	1.6	2.1	1.2	2.3	2.0
95% CI	4.4–6.6	4.5–6.5	0.9–1.7	4.8–7.8	0.9–1.7	1.3–2.5	0.8–2.4	1.2–3.0	0.9–1.5	1.9–2.7	1.6–2.4
Rincr/Rdecr in 2002–2021, %	-1.0	-6.0	-9.0	-7.1	11.4	-13.9	-9.4	-1.5	-6.3	-5.7	-8.3
R², %	12.22	13.33	12.35	64.09	29.69	32.42	45.86	17.83	44.91	51.84	91.32
p	0.13	0.11	0.13	< 0.01	0.01	0.01	< 0.01	0.06	< 0.01	< 0.01	< 0.01
LTAIR of ITBB in 2002–2021	4.7	24.7	11.6	6.8	0.8	5.8	8.0	10.0	7.4	7.9	4.9
95% CI	3.7–5.7	19.9–29.5	8.8–14.4	5.6–8.0	0.5–1.1	4.0–7.6	6.0–10.0	6.0–14.0	6.1–8.7	6.4–9.4	4.4–5.4
Rincr/Rdecr in 2002–2021, %	-2.9	-6.1	-3.8	-0.9	11.9	-13.9	-9.3	-17.1	-4.1	-5.3	-3.3
R², %	16.47	36.63	45.56	11.14	21.75	46.42	40.89	60.13	35.63	50.77	27.03
p	0.08	< 0.01	< 0.01	0.15	0.04	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	0.02

than the lower CI limit were classified as “low epidemiological hazard”, those with LTAIRs within the CI boundaries were assigned to the group “medium epidemiological hazard”, and those with LTAIRs exceeding the CI upper limit were assigned to the group “high epidemiological hazard”.

According to epidemiological hazard, NWFD subjects were ranked as follows. For TBE: low epidemiological hazard corresponded to LTAIRs < 1.9; medium epidemiological hazard corresponded to 1.9 < LTAIRs < 2.7, while high epidemiological hazard corresponded to LTAIRs > 2.7. For ITBB: low epidemiological hazard corresponded to LTAIRs < 6.4; medium epidemiological hazard corresponded to 6.4 < LTAIRs < 9.4; and high epidemiological hazard corresponded to LTAIRs > 9.4.

Ranking of NWFD regions according to relevant LTAIR (TBE, ITBB), and according to TBIR, was performed using the Power BI Desktop program. Results were processed by standard methods of variation statistics using the Microsoft Excel 2016 and R-studio application packages. Trends in epidemic process development were analyzed by the method of linear regression with calculation of the coefficient of determination (R²) and testing the significance

of the regression line slope using p-value (significance level $\alpha = 0.05$).

Trends in TBIR and incidence (TBE, ITBB) during the analyzed period were interpreted as: “pronounced” with an average annual rate of growth (Rincr)/average annual rate of decrease (Rdecr) $\geq 5\%$; «moderate» at Rincr/Rdecr = 4.9–1.1%; or “insignificant” at Rincr/Rdecr $\leq 1\%$.

Results

In 2002–2021 according to official statistics, the number of medical care encounters in Russia as a consequence of tick bites exceeded 8 million [18], of which more than 1.1 million occurred in the NWFD (14% of all registered cases) [8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 29]. For 2002–2021, the long-term average tick bite incidence rate (LTATBIR) in Russia was 280.7 (95% CI: 239.2–322.2) [18], with a moderate uptrend in TBIR values (Table, Fig. 2). Rincr for TBIR was 3.2%.

In the entire NWFD during the analyzed period, the LTATBIR was 409.5 (366.8–452.2) [8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 29]. Statistically significant variations in TBIR were not seen (Table, Fig. 3).

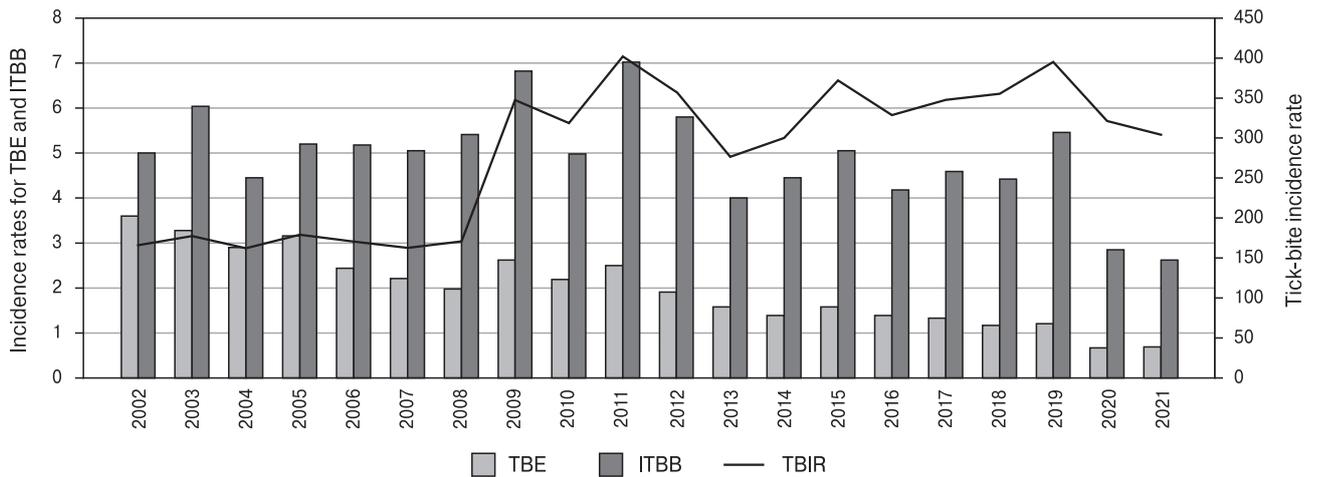


Figure 2. Incidence dynamics (TBIR, TBE, ITBB) in Russia, 2002–2021

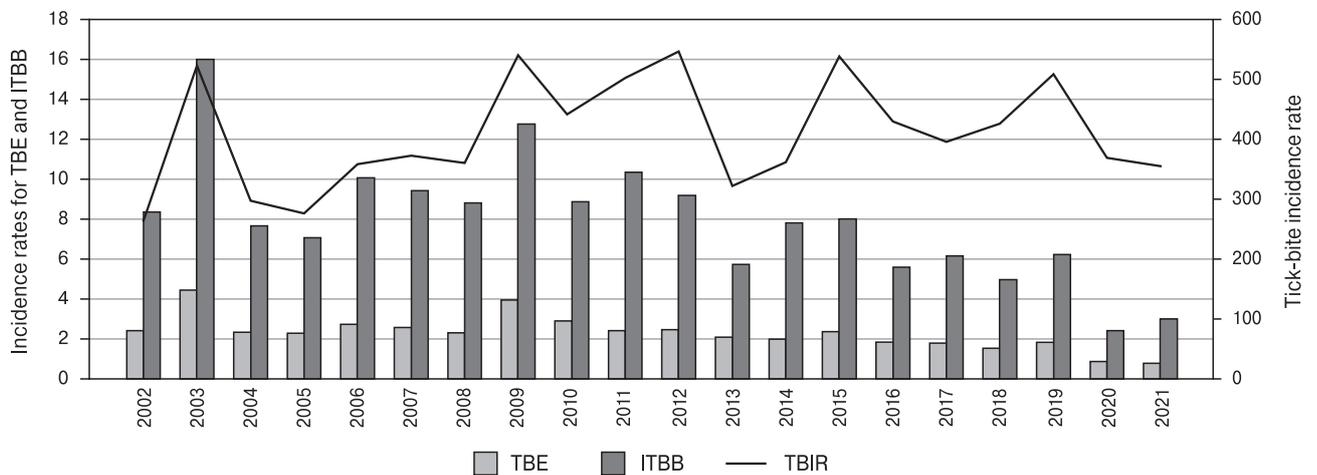


Figure 3. Incidence dynamics (TBIR, TBE, ITBB) in the Northwestern Federal District, 2002–2021

The highest TBIRs were reported in Vologda Oblast, Pskov Oblast, Novgorod Oblast, and in the Republic of Karelia (Table, Fig. 4) [9, 14, 15, 16]. A pronounced uptrend in TBIR was revealed in the Republic of Komi, Kaliningrad Oblast, and Arkhangelsk Oblast. For the other NWFD subjects, no statistically significant TBIR variation was noted during the study period.

Numerous medical care encounters caused by tick bites had taken place in all NWFD subjects. The shares of each subject in tick bite incidence (NWFD) were as follows: Vologda Oblast 26%, St. Petersburg 23%, Leningrad Oblast 11%, Arkhangelsk Oblast 10%, the Republic of Karelia 7%, Novgorod Oblast 7%, Pskov Oblast 7%, Kaliningrad Oblast 6%, the Republic of Komi 2%, and Murmansk Oblast plus Nenets Autonomous Okrug (together 1%).

In some NWFD subjects, LTATBIRs in children (below 17) exceeded those in adults. For example, in Vologda Oblast, LTATBIR in children (below 17) amounted to 1705.2 (1446.2–1965.2), while in adults it was 1100.5 (960.5–1240.5). In the Republic of Karelia, those figures were 630.4 (548.8–669.9) and 553.9 (506.6–613.1), respectively [9, 16].

In the NWFD, *I. ricinus* and *I. persulcatus* ticks are the major vectors of both TBE virus and *B. burgdorferi sensu lato*. Seasonal factors determine the activity of ticks and therefore play a significant role in the infection of humans with TBE and ITBB. Hence, both diseases show pronounced spring-summer seasonality. As a rule, in the analyzed period, adult ticks began to be found in March-April. The maximal tick abundance was recorded in May [2, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 27, 28, 29].

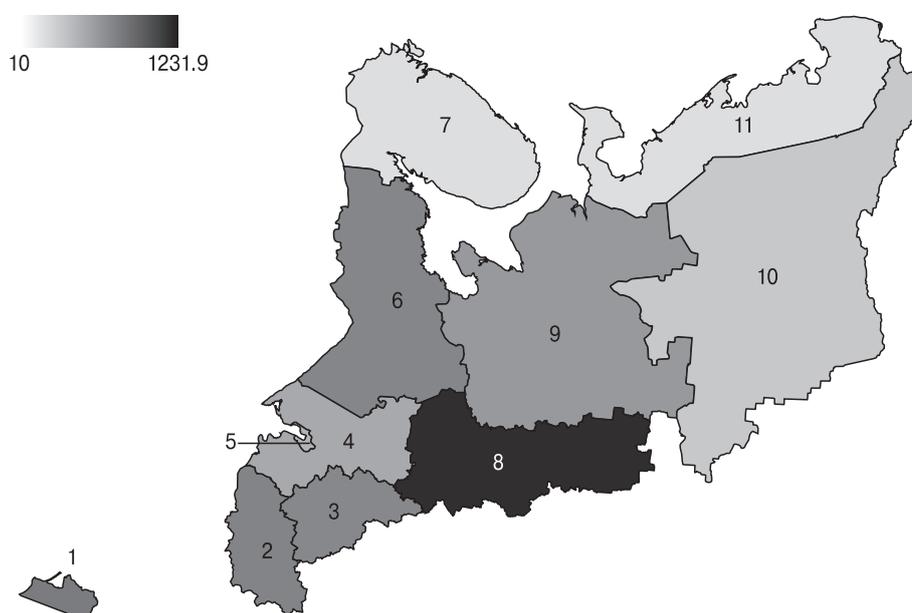


Figure 4. Distribution of NWFD subjects by LTATBIR in 2002–2021

Note. 1 — Kaliningrad Oblast, 2 — Pskov Oblast, 3 — Novgorod Oblast, 4 — Leningrad Oblast, Figure 5 — St. Petersburg, 6 — the Republic of Karelia, 7 — Murmansk Oblast, 8 — Vologda Oblast, 9 — Arkhangelsk Oblast, 10 — the Republic of Komi, 11 — Nenets Autonomous Okrug.

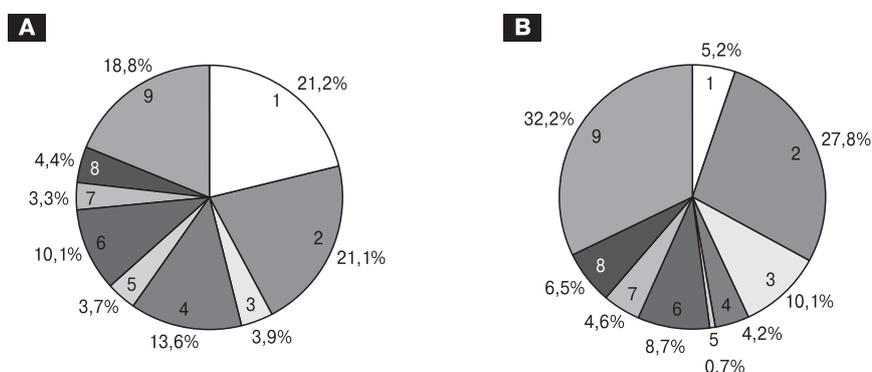


Figure 5. Contribution of each NWFD subject to total TBE (A) and ITBB (B) incidence, %

Note. 1 — Arkhangelsk Oblast, 2 — Vologda Oblast, 3 — Kaliningrad Oblast, 4 — the Republic of Karelia, 5 — the Republic of Komi, 6 — Leningrad Oblast, 7 — Novgorod Oblast, 8 — Pskov Oblast, 9 — St. Petersburg.

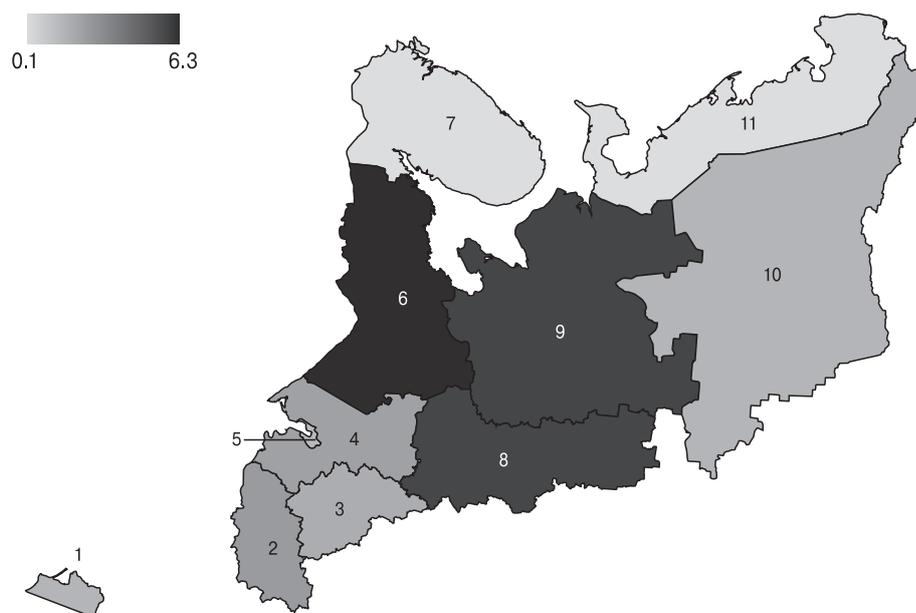


Figure 6. Distribution of NWFD subjects according to TBE LTAIR, 2002–2021

Note. 1 — Kaliningrad Oblast, 2 — Pskov Oblast, 3 — Novgorod Oblast, 4 — Leningrad Oblast, 5 — St. Petersburg, 6 — the Republic of Karelia, 7 — Murmansk Oblast, 8 — Vologda Oblast, 9 — Arkhangelsk Oblast, 10 — the Republic of Komi, 11 — Nenets Autonomous Okrug.

TBE incidence and trends in epidemic process development

More than 57,000 TBE cases were reported in Russia in 2002–2021 [18], with a pronounced downtrend in TBE incidence (Table, Fig. 2). R_{decr} was 8.3%. In the NWFD during the same time period, more than 6,000 TBE cases were registered (i.e., 11% of all cases registered in Russia) [8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 29]. Only a few imported cases of TBE and ITBB were reported in Murmansk Oblast and Nenets Autonomous Okrug. Therefore, those two subjects were not taken into account in our further calculations. In the NWFD during the analyzed period, there was a pronounced downtrend in TBE incidence (Fig. 3) with $R_{decr} = 5.7\%$. TBE incidence in the NWFD varied significantly during the studied period. Its maximal value was 4.5 (in 2003), while the minimum was 0.8 (in 2021) [8, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 19, 29].

The largest TBE incidence values were reported in: Arkhangelsk and Vologda Oblasts (more than 1300 cases in each, i.e. 21% of all TBE cases in the NWFD); St. Petersburg (about 1,200 cases, 19%); and the Republic of Karelia (more than 850 cases, 14%) [8, 9, 16, 19]. The contribution of each NWFD subject to total TBE incidence is shown in Fig. 5A.

NWFD subjects with high TBE epidemical hazard were the Republic of Karelia, Arkhangelsk Oblast, and Vologda Oblast. Subjects with a medium level were Pskov Oblast and Leningrad Oblast. Subjects with a low level were Novgorod Oblast, Kaliningrad Oblast, the Republic of Komi, and St. Petersburg (Table, Fig. 6).

A pronounced downtrend in TBE incidence during this period was revealed in St. Petersburg,

the Republic of Karelia, Novgorod Oblast, and Leningrad Oblast. In contrast, a pronounced upward trend in TBE incidence was revealed in the Republic of Komi ($R_{incr} = 11.4\%$, $p = 0.01$). For the other NWFD subjects, there were no significant trends in TBE incidence during the analyzed period.

The LTAIR of TBE in children (below 17) in the studied period was lower than that in adults. In the Republic of Karelia, the share of children among all registered TBE cases was about 9%. The corresponding LTAIR was 2.3 (1.0–3.5), while in adults it was 5.0 (4.0–6.1). In St. Petersburg, the share of children was about 11%. The corresponding LTAIR was 0.9 (0.5–1.2) in children, while in adults it was 1.2 (1.0–1.4) [16, 19].

Febrile and meningeal TBE dominate among all other clinical forms [8, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 19, 29]. In Leningrad Oblast, 63% of patients had febrile TBE, while 35% manifested meningeal forms. In St. Petersburg, the shares were 35% and 40%, respectively [11, 19]. Mixed infections (TBE plus ITBB) were also reported. In Leningrad Oblast, the share of mixed forms reached 18% [11]. Despite the strong predominance of the tick-bite route of transmission, alimentary-acquired TBE has also been reported (e.g., a number of cases in St. Petersburg, Leningrad Oblast and Pskov Oblast) [11, 15, 19].

ITBB incidence and trends in epidemic process development

About 142 000 ITBB cases were reported in Russia in 2002–2021 [18], with a moderate downward trend in incidence (Table, Fig. 2). The corresponding R_{decr} was 3.3%. In the NWFD during the same time

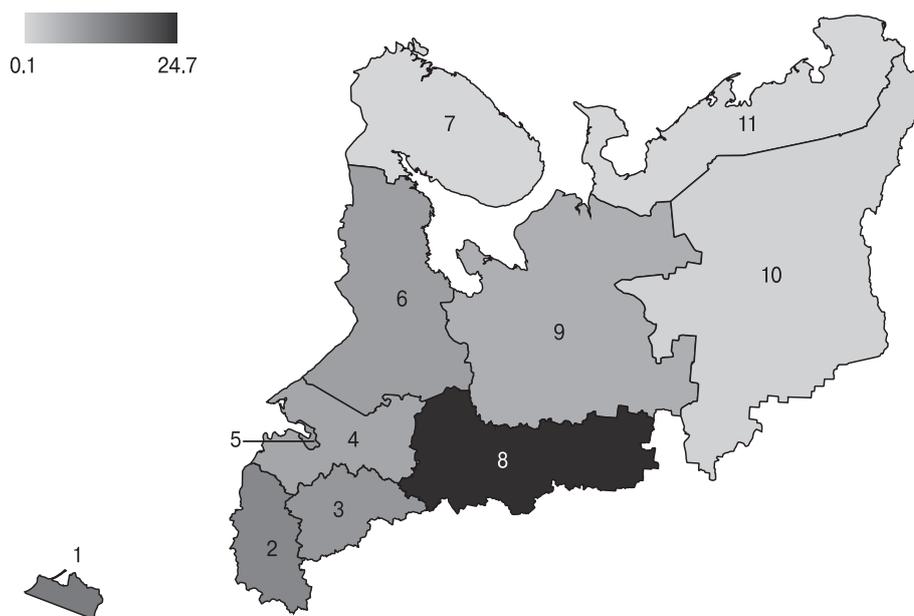


Figure 7. Distribution of NWFD subjects according to ITBB LTAIR, 2002–2021

Note. 1 — Kaliningrad Oblast, 2 — Pskov Oblast, 3 — Novgorod Oblast, 4 — Leningrad Oblast, 5 — St. Petersburg, 6 — the Republic of Karelia, 7 — Murmansk Oblast, 8 — Vologda Oblast, 9 — Arkhangelsk Oblast, 10 — the Republic of Komi, 11 — Nenets Autonomous Okrug.

period, about 22 000 ITBB cases were reported (i.e., 15% of all ITBB cases in Russia) [8, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 19, 29]. In the NWFD as a whole during the analyzed period, there was a pronounced downtrend in ITBB incidence (Fig. 3) with $R_{decr} = 5.3\%$.

ITBB incidence in the NWFD varied significantly during the studied period. Its maximal value was 16.0 (in 2003), while the minimum was 2.4 (in 2020) [8, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 19, 29]. St. Petersburg ranked first in terms of ITBB incidence in the NWFD in 2002–2021: about 7000 cases (i.e., 32% of all ITBB cases reported). Vologda Oblast reported 6000 cases (28%), and Kaliningrad Oblast reported 2200 cases (10%) [9, 10, 19]. The contribution of NWFD subjects to ITBB incidence is shown in Figure 5B.

In terms of the ITBB LTAIR in 2002–2021, the following classifications apply. Three NWFD subjects (Vologda Oblast, Kaliningrad Oblast, Pskov Oblast) fell into the group “high epidemical hazard”. Novgorod Oblast, St. Petersburg, and the Republic of Karelia fell into the group “medium epidemical hazard”. Leningrad Oblast, Arkhangelsk Oblast, and the Republic of Komi fell into the group “low epidemical hazard” (Table, Fig. 7).

A pronounced downtrend in ITBB incidence over this twenty-year period was revealed in Vologda Oblast, Novgorod Oblast, Leningrad Oblast, and Pskov Oblast. A moderate downtrend was seen in St. Petersburg and Kaliningrad Oblast. In contrast, a pronounced uptrend was revealed in the Republic of Komi ($R_{incr} = 11.9\%$, $p = 0.04$). For the remaining NWFD subjects, no statistically significant trends in ITBB incidence were seen.

The urban population prevails in the structure of ITBB patients. Thus, in 2002–2021 among all reported ITBB cases in Vologda Oblast, urban residents accounted for 68%, while the rural population accounted for 32% [9]. However, in terms of LTAIR, the ratio is different. For example, in Vologda Oblast, the ITBB LTAIR was 23.1 (15.2–30.9) in the rural population, while 19.6 (13.4–25.8) in the urban population [9].

The ITBB LTAIR in children (below 17) was less than that in adults. In Kaliningrad Oblast during the studied period, about 7% of all ITBB patients were children under 17. The corresponding LTAIR was 3.6 (2.0–5.2), while for adults it was 11.7 (8.4–14.9). In contrast, in St. Petersburg where children under 17 accounted for about 14% of all ITBB cases, the LTAIR for children was 6.0 (4.9–7.1), i.e. quite close to that of adults, 6.9 (5.6–8.1) [10, 19].

In the structure of ITBB clinical forms, a predominance of erythematous forms over non-erythematous forms was revealed. In St. Petersburg, the share of erythematous ITBB was about 68% [19]. To reveal differences in epidemic process dynamics (TBE, ITBB) in NWFD subjects, the analyzed period was broken down into four equal intervals: I — 2002–2006; II — 2007–2011; III — 2012–2016; and IV — 2017–2021.

During the study period in some NWFD subjects, the rise in incidence was later followed by falling values for both TBE and ITBB. TBE incidence in Arkhangelsk Oblast was on the rise in 2002–2009. It was 8.6 in 2007, achieving 9.9 (maximum) in 2009, followed by a considerable decrease. In 2007–2011,

the TBE LTAIR was 1.6-fold higher than in 2002–2006, but in 2012–2016 it decreased by 1.2-fold. ITBB incidence in Arkhangelsk Oblast also increased from 2002 to 2010. The maximum was achieved in 2009–2010 (8.0), and incidence began decreasing considerably after 2011. The ITBB LTAIR in 2007–2011 increased by 1.8-fold as compared to 2002–2006, but decreased by almost 2-fold in 2012–2016. Meanwhile, the TBIR was on rise till the end of the period under study [8].

Something similar was observed in Vologda Oblast and in the Republic of Komi. TBE incidence in Vologda Oblast was increasing after 2002 to reach its maximum (10.9) in 2009, followed by a decline. The TBE LTAIR in 2007–2011 increased by 1.2-fold as compared to 2002–2006, but decreased by 1.5-fold in 2012–2016. In Vologda Oblast, ITBB incidence increased from 28.7 in 2002 to 46.3 in 2003. It then it decreased markedly, but the decline was followed by a second rise from 2005 to 2009 (40.8 in 2009). Starting from 2012, ITBB incidence went into decline once more. The ITBB LTAIR in 2007–2011 increased by 1.2-fold as compared to 2002–2006, but decreased by 1.5-fold in 2012–2016 [9].

In the Republic of Komi during the analyzed period, two series of incidence rate rises and falls were observed for both for TBE and ITBB. For TBE, the first rise in incidence took place in 2002–2010 (3.3 in 2010). The second occurred in 2015–2019 (1.9 in 2019). The TBE LTAIR in 2007–2011 increased by 3.6-fold in comparison with 2002–2006, but decreased somewhat in 2012–2016. Regarding ITBB, the first rise in incidence occurred in 2002–2011 (2.2 in 2011). The second took place in 2015–2019 (1.8 in 2019). The ITBB LTAIR in 2007–2011 increased by 4.4-fold as compared with 2002–2006, but decreased somewhat in 2012–2016. In contrast, TBIR continued to grow until the end of the study period [17].

Discussion

The epidemic situation with TBE and ITBB in the NWFD has its own peculiarities. The LTATBIR during the analyzed period in the NWFD exceeded the national rate by 1.5-fold [8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 29]. Although the significance of the TBIR is inevitably limited by incomplete registration of tick bites [2], long-term analysis of its values makes it possible to estimate epidemical hazards related to ticks, albeit indirectly. The pronounced uptrend in TBIR revealed in the Republic of Komi and Arkhangelsk Oblast, together with information on the regional distribution of tick bites [2, 36], proves the northward expansion of ticks in both NWFD subjects. In the view of some researchers, the habitat of ticks in the Republic of Komi, Arkhangelsk Oblast, and the Republic of Karelia has expanded northward by 150–200 km over the past decades [2, 27, 36].

There may be a variety of reasons for the growth of the TBIR registered. On the one hand, raising public awareness of the dangerous consequences of tick bites and improved availability of medical care likely plays a role. On the other hand, there are certain social changes that increase the risk of human exposure to ticks, such as: development of the wood-working industry [1]; land use for summer house construction in tick habitats [20]; climate changes that provide better living conditions for ixodid ticks in northern regions [37]; an increase in the number of ticks in natural habitats [7]; and others.

Of particular concern are LTATBIRs in children (below 17). In Vologda Oblast, they were 1.5-fold higher than in adults [9]. Both in the NWFD and nationwide, the TBIR trend line had the opposite direction compared to trend lines for TBE and ITBB incidence. TBE and ITBB incidence during the analyzed period tended to decrease both in the NWFD and nationally. Regarding TBE, the nationwide downtrend is even more apparent than that in the NWFD. It is probable that reductions in reported incidence rates (TBE, ITBB) in 2020–2021 were due to less attention to both those infections amid the COVID-19 pandemic, including decreased volumes of associated laboratory diagnostics required for detection. The decreases in reported TBE and ITBB incidence are probably associated with significant overloads of the healthcare system during that period, including significant redistribution of inpatient and outpatient medical care in favor of patients with COVID-19 [6, 25].

In the NWFD during the analyzed period, the TBE LTAIR was 1.2-fold higher than nationwide [8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 29]. In Vologda Oblast, Arkhangelsk Oblast, and in the Republic of Komi, undulations in TBE and ITBB incidence rates were observed. In other NWFD subjects, those incidence rates decreased rather evenly. During the analyzed period in the Republic of Komi, there was a pronounced uptrend in incidence rates of both TBE and ITBB. This was unlike the nationwide trend and those of other NWFD subjects. A pronounced rise in the TBIR was observed both in the Republic of Komi and in Arkhangelsk Oblast.

The highest LTATBIR was reported in Vologda Oblast. In the Republic of Karelia, it was also rather high, albeit lower. Both are subjects with high TBE epidemical hazard. The Republic of Komi (in the northern part of the NWFD) is a subject with low epidemical hazard. However, the pronounced uptrend in local TBE incidence allows, in our opinion, one to consider this subject as an area that requires special attention in relation to this infection.

In some NWFD subjects, local LTATBIRs in children exceed those in adults, but TBE LTAIRs in children were lower. This may be thanks to closer attention to the health of children. The predominance of mild forms (febrile, meningeal) is typical for TBE clinical courses, both in the NWFD and in some

countries of Northern and Eastern Europe [30, 39]. In the Far East, severe focal forms with a higher mortality rate are common [7].

The downtrend in TBE incidence in all NWFD subjects (except for an upward trend in the Republic of Komi) is possibly due to increased TBE vaccination. Long-term average (LTA) share of the population vaccinated against TBE in 2010–2021 amounted to: $0.41 \pm 0.08\%$ (Rincr = 5.7%) in Pskov Oblast; $0.68 \pm 0.08\%$ (Rincr = 2.5%) in St. Petersburg; $0.74 \pm 0.24\%$ (Rincr = 13.1%) in Kaliningrad Oblast; $2.00 \pm 0.15\%$ (Rincr = 1.2%) in the Republic of Karelia; $2.15 \pm 0.62\%$ (Rincr = 15.2%) in Leningrad Oblast; $2.86 \pm 0.45\%$ (Rincr = 5.6%) in Arkhangelsk Oblast; $3.44 \pm 0.99\%$ (Rincr = 17.8%) in the Republic of Komi; and $7.92 \pm 0.66\%$ (Rincr = 3.4%) in Vologda Oblast [8, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 19].

Modern TBE vaccines protect 95–98% of persons bitten by infected ticks [21], and immunoprophylaxis prevents the development of manifest TBE forms in 79% of cases on average [22]. Strictly speaking, however, vaccination does not guarantee protection. In 2019, thirty-two cases of TBE were reported in vaccinated individuals in Russia (2.1%) [7].

Rises in natural immunization may also cause declines in TBE incidence. TBE virus seroprevalence in the unvaccinated population is rather high in some NWFD subjects [28, 36]. However, latent immunization of humans in TBE foci does not guarantee protection insofar as the acquired antibody prevalence decays significantly over a few months. Hence, humoral immunity may not provide resistance to infectious doses of TBE virus [5].

Another possible reason for TBE incidence declines within the studied period in some NWFD subjects was a decrease in TBE virus prevalence in ticks collected from vegetation or removed from victims. For example, the Rdecr of TBE virus prevalence in ticks removed from victims was: 12% (LTA = $2.6 \pm 0.9\%$) in the Republic of Karelia; 16% (LTA = $1.4 \pm 0.4\%$) in Kaliningrad Oblast; and 24% (LTA = $3.4 \pm 1.5\%$) in Pskov Oblast [10, 15, 16]. In the Republic of Karelia, the Rdecr of TBE virus prevalence in ticks collected from vegetation was 29% (LTA = $2.7 \pm 1.8\%$). In Leningrad Oblast, it was 17% (LTA = $1.7 \pm 1.5\%$) [11, 16].

However, TBE virus prevalence in ticks at the site of collection may differ from that of the region as whole. Moreover, according to some sources [5], the most informative indicator of potential epidemical hazard in a natural TBE focus is “the density of heavily infected ticks.” Those authors believe that clinically apparent disease develops only in patients who receive a high dose of the virus.

The pronounced uptrend in TBE and ITBB incidence in the Republic of Komi to a certain extent is possibly accounted for by expansion of ticks into the northern territories, where inhabitants are at increased risk of infection due to low natural immunity

against those infections as well as insufficient vaccination against TBE [2].

Similar trends revealed for TBE and ITBB epidemic processes in some NWFD subjects also support the theory of tick northward distribution. This probably contributed to the increase in TBE incidence up until 2010, and ITBB incidence before 2011, in those locations. In the Republic of Komi, the process was probably developing further, as evidenced by the repeated rise in incidence rates (TBE, ITBB) from 2015 to 2019.

The trends in epidemic process development and TBE incidence in the NWFD feature peculiarities in compared with neighboring countries. TBE incidence rates in Lithuania, Latvia, Estonia, and Sweden exceeded those in the NWFD. TBE incidence rates in Finland, Norway, and Poland tended to increase, unlike that of the NWFD [31].

In Russia, TBE incidence rates recorded in the Siberian and Ural Federal Districts exceed that of the NWFD. In all Russian Federal Districts including the NWFD, there was either a downward trend in TBE incidence or no statistically significant changes [6].

During the analyzed period, the downtrend in ITBB incidence in the NWFD was even more pronounced than nationwide. At the same time, the ITBB LTAIR in the NWFD was 1.6-fold higher than that nationwide [8, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19]. The highest ITBB LTAIR was reported in Vologda Oblast. In the Republic of Komi, there was a pronounced uptrend in ITBB incidence that requires special consideration.

Regarding ITBB LTAIR, attention should also be paid to the fact that St. Petersburg is classified with subjects of medium epidemical hazard, while Leningrad Oblast (LO) is a subject with low epidemical hazard. However, about 70% of St. Petersburg inhabitants who sought medical help after tick bites had been bitten by ticks in Leningrad Oblast [19]. In our opinion, this indicates that there is some underdiagnosis of ITBB in LO.

ITBB incidence rates are rather high both in northeastern and central Europe, with noticeable reduction both to the west and south. An upward trend in ITBB incidence has been recorded in many European countries, especially in northern and central Europe [33, 35, 38].

Regarding Russia, the Siberian, Ural and Central Federal Districts have recorded local ITBB incidence rates exceeding that of the NWFD. However, unlike other Federal Districts (and Russia overall), there is a pronounced tendency towards an increase in ITBB incidence in the Central Federal District [26].

In the NWFD and nationwide in 2002–2021, ITBB LTAIRs exceeded those of TBE. However, in Arkhangelsk Oblast and the Republic of Komi, ITBB LTAIRs were less than those of TBE. This may

be due to some underdiagnosis of ITBB in those two subjects. In some NWFD subjects, ITBB LTAIRs of the rural population exceed those of the urban population, possibly due to more frequent contacts of the rural population with natural ITBB foci. The predominance of erythematous forms over those non-erythematous in the overall structure of ITBB clinical forms may be due to underdiagnosis of this infection.

The decrease in ITBB incidence, recorded in the context of TBIR growth and an uptrend in *B. burgdorferi sensu lato* prevalence in ticks, may also be related to: underdiagnosis of ITBB due to an increase in the share of non-erythematous forms in the structure of ITBB clinical forms; and/or decreases in the volume of laboratory diagnostics with associated impacts on reported ITBB incidence. In Kaliningrad Oblast for example, *B. burgdorferi sensu lato* prevalence in ticks collected from vegetation increased from 5.4% in 2002 to 16.9% in 2021 (LTA = $9.5 \pm 1.5\%$, Rincr = 7%) [10]. In other NWFD subjects, Rincr was

lower, but *B. burgdorferi sensu lato* prevalence in ticks was rather high. In St. Petersburg, the average long-term *B. burgdorferi sensu lato* prevalence in ticks was $19 \pm 3.5\%$. Other values were: $20 \pm 6.5\%$ in Vologda Oblast; $32 \pm 6.4\%$ in the Republic of Karelia; and $34 \pm 4.4\%$ in Leningrad Oblast [9, 11, 16, 19].

It can also be assumed that incidence rates of TBE and ITBB are also influenced by yet incompletely studied biocenotic patterns that cause cyclic changes in natural foci loimopotential. Thus, the epidemical situation regarding TBE and ITBB in the NWFD continues to be tense. Its efficient control is only possible under the conditions of increased attention to diagnostic problems, as well as with improvements and increases in the volume of preventive measures. The northward expansion in range of ixodid ticks justifies the need for studies on the prevalence of tick-borne pathogens in those ticks as well as serological surveys of the local population in order to increase the effectiveness of preventive measures.

References

1. Вайда О.В., Бойко А.А. Состояние и тенденции развития деревообрабатывающей промышленности // Менеджмент социальных и экономических систем. 2016. № 3. С. 4–10. [Vayda O.V., Boyko A.A. State and tendencies of development of the woodworking industry. *Menedzhment sotsial'nykh i ekonomicheskikh sistem = Social and Economic Systems Management*, 2016, no. 3, pp. 4–10. (In Russ.)]
2. Гнатив Б.Р., Токаревич Н.К. Результаты многолетнего мониторинга клещевого вирусного энцефалита и клещевого боррелиоза в Республике Коми // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 4. С. 707–722. [Gnativ B.R., Tokarevich N.K. Long-term monitoring of tick-borne viral encephalitis and tick-borne borreliosis in the Komi Republic. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 4, pp. 707–722. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-ROL-1299
3. Колясникова Н.М., Авксентьев Н.А., Авксентьева М.В., Деркач Е.В., Платонов А.Е. Социально-экономическое бремя клещевого энцефалита в Российской Федерации // Медицинские технологии. Оценка и выбор. 2013. № 3. С. 56–69. [Kolyasnikova N.M., Avksentyev N.A., Avksentyeva M.V., Derkach E.V., Platonov A.E. The social and economic burden of tick borne encephalitis in the Russian Federation. *Meditsinskiiye tekhnologii. Otsenka i vybor = Medical Technologies. Evaluation and Selection*, 2013, no. 3, pp. 56–69. (In Russ.)]
4. Колясникова Н.М., Герасимов С.Г., Ишмухаметов А.А., Погодина В.В. Эволюция клещевого энцефалита за 80-летний период: основные проявления, вероятные причины // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2020. Т. 19, № 3. С. 78–88. [Kolyasnikova N.M., Gerasimov S.G., Ishmukhametov A.A., Pogodina V.V. Evolution of tick-borne encephalitis over an 80-year period: main manifestations, probable causes. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2020, vol. 19, no. 3, pp. 78–88. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-78-88
5. Коренберг Э.И., Помелова В.Г., Осин Н.С. Природно-очаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. М.: ООО «Коммент», 2013. 465 с. [Korenberg E.I., Pomelova V.G., Osin N.S. Infections with natural foci transmitted by ixodid ticks. *Moscow: OOO Comment*, 2013. 465 p. (In Russ.)]
6. Никитин А.Я., Андаев Е.И., Толмачёва М.И., Аюгин Н.И., Яцменко Е.В., Матвеева В.А., Туранов А.О., Балахонov С.В. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации за 2011–2021 гг. и краткосрочный прогноз ее развития // Проблемы особо опасных инфекций. 2022. № 1. С. 15–23. [Nikitin A.Y., Andaev E.I., Tolmacheva M.I., Ayugin N.I., Yatsmenko E.V., Matveeva V.A., Turanov A.O., Balakhonov S.V. Epidemiological situation on tick-borne viral encephalitis in the Russian Federation in 2011–2021 and short-term forecast of its development. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2022, no. 1, pp. 15–23. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2022-1-15-23
7. Никитин А.Я., Андаев Е.И., Яцменко Е.В., Трушина Ю.Н., Толмачева М.И., Веригина Е.В., Туранов А.О., Балахонov С.В. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации в 2019 г. и прогноз на 2020 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2020. № 1. С. 33–42. [Nikitin A.Y., Andaev E.I., Yatsmenko E.V., Trushina Yu.N., Tolmacheva M.I., Verigina E.V., Turanov A.O., Balakhonov S.V. Epidemiological situation on tick-borne viral encephalitis in the Russian Federation in 2019 and forecast for 2020. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2020, no. 1, pp. 33–42. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2020-1-33-42
8. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Архангельской области. Государственный доклад. Архангельск: Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Архангельской области, 2006–2021. [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in the Arkhangelsk Oblast. State Report. Arkhangelsk: Office of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in the Arkhangelsk Oblast, 2006–2021. (In Russ.)] URL: <https://29.rospotrebnadzor.ru/534;jsessionid=60D51CE6F66583FB5759CDDC211FB659>

9. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Вологодской области. Государственный доклад. Вологда: Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Вологодской области, 2003–2021. [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in the Vologda Oblast. State Report. Vologda: Office of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in the Vologda Oblast, 2003–2021. (In Russ.)] URL: <http://35.rospotrebnadzor.ru/Default.aspx?mnu=3f313a0530034742baf4975d37ddef85>
10. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Калининградской области. Государственный доклад. Калининград: Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Калининградской области, 2005–2021. [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in the Kaliningrad Oblast: State Report. Kaliningrad: Office of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in the Kaliningrad Oblast, 2005–2021. (In Russ.)] URL: <https://39.rospotrebnadzor.ru/334>
11. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Ленинградской области. Государственный доклад. Санкт-Петербург: Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Ленинградской области, 2005–2021. [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in the Leningrad Oblast. State Report. Saint Petersburg: Office of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in the Leningrad Oblast, 2005–2021. (In Russ.)] URL: <http://47.rospotrebnadzor.ru/document/doclad>
12. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Мурманской области. Государственный доклад. Мурманск: Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Мурманской области, 2010–2021. [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in the Murmansk Oblast. State Report. Murmansk: Office of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in the Murmansk Oblast, 2010–2021. (In Russ.)] URL: <https://51.rospotrebnadzor.ru/content/866/>
13. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Ненецком автономном округе. Государственный доклад. Нарьян-Мар: Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Ненецкому автономному округу, 2014. [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in the Nenets Autonomous Okrug. State Report. Naryan-Mar: Office of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in the Nenets Autonomous Okrug, 2014. (In Russ.)] URL: <http://83.rospotrebnadzor.ru/244>
14. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Новгородской области. Государственный доклад. Великий Новгород: Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Новгородской области, 2017, 2021. [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in the Novgorod Oblast. State Report. Veliky Novgorod: Office of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in the Novgorod Oblast, 2017, 2021. (In Russ.)] URL: <https://www.53.rospotrebnadzor.ru/?cat=77>
15. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Псковской области. Государственный доклад. Псков: Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Псковской области, 2004–2021. [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in the Pskov Oblast. State Report. Pskov: Office of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in the Pskov Oblast, 2004–2021. (In Russ.)] URL: <http://60.rospotrebnadzor.ru/282>
16. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Республике Карелия. Государственный доклад. Петрозаводск: Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Карелия, 2012–2021. [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in the Republic of Karelia. State Report. Petrozavodsk: Office of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in the Republic of Karelia, 2012–2021. (In Russ.)] URL: http://10.rospotrebnadzor.ru/news/gosudarstvennye_doklady/
17. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Республике Коми. Государственный доклад. Сыктывкар: Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Коми, 2005–2021. [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in the Republic of Komi. State Report. Syktyvkar: Office of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in the Republic of Komi, 2005–2021. (In Russ.)] URL: <https://11.rospotrebnadzor.ru/239>
18. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации. Государственный доклад. Москва: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2012–2021. [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in the Russian Federation. State Report. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2012–2021. (In Russ.)] URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/documents.php?back_url_admin=%2Fbitrix%2Fadmin%2Fiblock_admin.php%3Ftype%3Ddocuments%26lang%3Dru%26admin%3DY&clear_cache=Y&arrFilter_ff%5BNAME%5D=&arrFilter_pf%5BVID_DOC%5D=97&arrFilter_pf%5BNUM_DOC%5D=&arrFilter_pf%5BGOD%5D%5BLEFT%5D=&arrFilter_pf%5BGOD%5D%5BRIGHT%5D=&set_filter=%CD%E0%E9F2%E8&set_filter=Y
19. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Санкт-Петербурге. Государственный доклад. Санкт-Петербург: Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по городу Санкт-Петербургу, 2016–2021. [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in Saint Petersburg. State Report. Saint Petersburg: Office of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing for the city of Saint Petersburg, 2016–2021. (In Russ.)] URL: <http://78.rospotrebnadzor.ru/703>
20. Пеньевская Н.А., Рудаков Н.В. Оценка эффективности профилактики клещевых трансмиссивных инфекций: проблемы теории и практики. Омск: ИЦ Омский научный вестник, 2020. 416 с. [Penyevskaya N.A., Rudakov N.V. Evaluation of tick-borne infections prevention effectiveness: problems of theory and practice. *Omsk: Omsk scientific Bulletin publishing center, 2020. 416 p. (In Russ.)*]

21. Пенъевская Н.А., Рудаков Н.В., Рудакова С.А. Проблемные аспекты оценки эпидемиологической эффективности вакцинопрофилактики клещевого энцефалита // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2018. Т. 17, № 5. С. 78–88. [Penyevskaya N.A., Rudakov N.V., Rudakova S.A. Problematic Aspects of the Evaluation of the Epidemiological Effectiveness of Vaccination against Tick-Borne Encephalitis. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2018, vol. 17, no. 5, pp. 78–88. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2018-17-5-78-88
22. Пенъевская Н.А., Рудаков Н.В. Эффективность применения препаратов иммуноглобулина для постэкспозиционной профилактики клещевого энцефалита в России (обзор полувекового опыта) // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2010. № 1. С. 53–59. [Penyevskaya N.A., Rudakov N.V. The effectiveness of the use of immunoglobulin preparations for post-exposure prophylaxis of tick-borne encephalitis in Russia (review of half a century of experience). *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni = Medical Parasitology and Parasitic Diseases*, 2010, no. 1, pp. 53–59. (In Russ.)]
23. Платонов А.Е., Авксентьев Н.А., Авксентьева М.В., Деркач Е.В., Платонова О.В., Титков А.В., Колясникова Н.М. Социально-экономическое бремя пяти природно-очаговых инфекций в Российской Федерации // Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. 2015. Т. 8, № 1. С. 47–56. [Platonov A.E., Avksentyev N.A., Avksentyeva M.V., Derkach E.V., Platonova O.V., Titkov A.V., Kolyasnikova N.M. Social and economic burden of five natural focal infections in the Russian Federation. *Farmakoekonomika. Sovremennaya farmakoekonomika i farmakoepidemiologiya = Farmakoekonomika. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology*, 2015, vol. 8, no. 1, pp. 47–56. (In Russ.)]
24. Регионы России. Основные характеристики субъектов Российской Федерации. 2022. Статистический сборник. М.: Росстат, 2022. 853 с. [Regions of Russia. Main characteristics of the subjects of the Russian Federation. 2022: statistical digest. Moscow: Rosstat, 2022. 853 p. (In Russ.)]
25. Рудакова С.А., Пенъевская Н.А., Блох А.И., Рудаков Н.В., Транквилевский Д.В., Савельев Д.А., Теслова О.Е., Канешова Н.Е. Обзор эпидемиологической ситуации по иксодовым клещевым боррелиозам в Российской Федерации в 2010–2020 гг. и прогноз на 2021 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2021. № 2. С. 52–61. [Rudakova S.A., Pen'evskaya N.A., Blokh A.I., Rudakov N.V., Trankvilevsky D.V., Savel'ev D.A., Teslova O.E., Kaneshova N.E. Review of the epidemiological situation on ixodic tick-borne borreliosis in the Russian Federation in 2010–2020 and prognosis for 2021. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2021, no. 2, pp. 52–61. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2021-2-52-61
26. Рудакова С.А., Теслова О.Е., Муталинова Н.Е., Пенъевская Н.А., Блох А.И., Рудаков Н.В., Савельев Д.А., Кузьменко Ю.Ф., Транквилевский Д.В. Обзор эпидемиологической ситуации по иксодовым клещевым боррелиозам в Российской Федерации в 2013–2022 гг. и прогноз на 2023 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2023. № 2. С. 75–87. [Rudakova S.A., Teslova O.E., Mutalinova N.E., Pen'evskaya N.A., Blokh A.I., Rudakov N.V., Savel'ev D.A., Kuz'menko Yu.F., Trankvilevsky D.V. Review of the epidemiological situation on ixodic tick-borne borreliosis in the Russian Federation in 2013–2022 and forecast for 2023. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2023, no. 2, pp. 75–87. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2023-2-75-87
27. Субботина Н.С., Доршакова Н.В., Петрова А.В. Эпидемиологическая характеристика клещевого энцефалита в Северо-Западном регионе России // Экология человека. 2007. № 7. С. 15–19. [Subbotina N.S., Dorshakova N.S., Petrova A.V. Epidemiological characteristic of tick-borne encephalitis in North-West region of Russia. *Ekologiya cheloveka = Human Ecology*, 2007, no. 7, pp. 15–19. (In Russ.)]
28. Сюзюмова Е.А., Тельнова Н.В., Шапарь А.О., Асланов Б.И., Стоянова Н.А., Токаревич Н.К. Эколого-эпидемиологическая характеристика клещевого энцефалита в Санкт-Петербурге // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 533–542. [Siuziumova E.A., Telnova N.V., Shapar A.O., Aslanov B.I., Stoyanova N.A., Tokarevich N.K. Ecological and epidemiological characteristics of tick-borne encephalitis in St. Petersburg. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 533–542. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-EAE-924
29. Токаревич Н.К., Стоянова Н.А., Грачева Л.И., Трифонова Г.Ф., Тронин А.А., Шумилина Г.М., Глушкова Л.И., Галимов Р.Р., Митина Т.П., Рочева Г.Н., Федькина Т.В., Сафонова Н.М., Бузинов Р.В., Котов В.М., Волощук М.В., Пятовская А.А., Флягина А.Н., Лесникова М.В., Титова Н.М., Маликова Э.В., Антыкова Л.П., Бычкова Е.М., Шапарь А.О., Пьяных В.А., Игнатъева В.Н., Емельянова О.Н., Никифоров С.В., Александрова Т.В., Груздова В.И., Груничева Т.П., Селюк В.Н., Баяра Е.А., Труханова Л.П. Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, в Северо-Западном федеральном округе России. Аналитический обзор. СПб.: Феникс, 2008. 120 с. [Tokarevich N.K., Stoyanova N.A., Gracheva L.I., Trifonova G.F., Tronin A.A., Shumilina G.M., Glushkova L.I., Galimov R.R., Mitina T.P., Rocheva G.N., Fedkina T.V., Safonova N.M., Buzinov R.V., Kotov V.M., Voloshchuk M.V., Pyatovskaya A.A., Flyagina A.N., Lesnikova M.V., Titova N.M., Malikova E.V., Antykova L.P., Bychkova E.M., Shapar A.O., Pyanykh V.A., Ignatieva V.N., Yemelyanova O.N., Nikiforov S.V., Alexandrova T.V., Gruzdova V.I., Grunicheva T.P., Selyuk V.N., Bayura E.A., Trukhanova L.P. Infections transmitted by ixodid ticks in the North-West Federal Region of Russia. Analytical review. St. Petersburg: Phoenix, 2008. 120 p. (In Russ.)]
30. Утенкова Е.О., Савиных Н.А. Клещевой энцефалит в России и Европе (обзор) // Медицинский альманах. 2021. Т. 67, № 2. С. 13–21. [Utenkova E.O., Savinykh N.A. Tick-borne encephalitis in Russia and Europe (review). *Meditsinskij al'manah = Medical Almanac*, 2021, vol. 67, no. 2, pp. 13–21. (In Russ.)]
31. Beate J., Spiteri G., Warns-Petit E., Zeller H. Tick-borne encephalitis in Europe, 2012 to 2016. *Euro Surveill.*, 2018, vol. 23, no. 45: 1800201. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.45.1800201
32. Jenkins V.A., Silbernagl G., Baer L.R., Hoet B. The epidemiology of infectious diseases in Europe in 2020 versus 2017–2019 and the rise of tick-borne encephalitis (1995–2020). *Ticks Tick Borne Dis.*, 2022, vol. 13, no. 5. doi: 10.1016/j.ttbdis.2022.101972
33. Mead P. Epidemiology of Lyme Disease. *Infect. Dis. Clin. North Am.*, 2022, vol. 36, no. 3, pp. 495–521. doi: 10.1016/j.idc.2022.03.004
34. Slunge D., Boman A., Studahl M. Burden of Tick-Borne encephalitis, Sweden. *Emerg. Infect. Dis.*, 2022, vol. 28, no. 2, pp. 314–322. doi: 10.3201/eid2802.204324
35. Sykes R.A., Makiello P. An estimate of Lyme borreliosis incidence in Western Europe. *J. Public Health*, 2017, vol. 39, no. 1, pp. 74–81. doi: 10.1093/pubmed/fdw017

36. Tokarevich N.K., Tronin A.A., Buzinov R.V., Sokolova O.V., Unguryanu T.N. Analyzing risks of incidence of tick-borne encephalitis in areas with different climatic and geographical conditions. *Health Risk Analysis*, 2021, no. 4, pp. 127–135. doi: 10.21668/health.risk/2021.4.14.eng
37. Tokarevich N., Tronin A., Gnativ B., Revich B., Blinova O., Evengard B. Impact of air temperature variation on the ixodid ticks habitat and tick-borne encephalitis incidence in the Russian Arctic: the case of the Komi Republic. *Int. J. Circumpolar Health*, 2017, vol. 76, no.1. doi: 10.1080/22423982.2017.1298882
38. Vandekerckhove O., De Buck E., Van Wijngaerden E. Lyme disease in Western Europe: an emerging problem? A systematic review. *Acta. Clin. Belg.*, 2021, vol. 76, no. 3, pp. 244–252. doi: 10.1080/17843286.2019.1694293
39. Zavadska D., Odzelevica Z., Karelis G., Liepina L., Litauniece Z.A., Bormane A., Lucenko I., Perevoscikovs J., Bridina L., Veide L., Krumina A., Storozenko J., Erber W., Htar M.T.T., Schmitt H.J. Tick-borne encephalitis: a 43-year summary of epidemiological and clinical data from Latvia (1973 to 2016). *PLoS One*, 2018, vol. 13, no. 11: e0204844. doi: 10.1371/journal.pone.0204844

Авторы:

Кармоков И.А., младший научный сотрудник лаборатории зооантропонозных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; ординатор кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

Рябико Е.Г., младший научный сотрудник лаборатории зооантропонозных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; ординатор кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

Блинова О.В., к.х.н., младший научный сотрудник лаборатории зооантропонозных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Колосовская Е.Н., д.м.н., доцент, профессор кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

Токаревич Н.К., д.м.н., профессор, зав. лабораторией зооантропонозных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Karmokov I.A., Junior Researcher, Laboratory of Zoonoses, St.Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Resident Physician, Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

Riabiko E.G., Junior Researcher, Laboratory of Zoonoses, St.Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Resident Physician, Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

Blinova O.V., PhD (Chemistry), Junior Researcher, Laboratory of Zoonoses, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Kolosovskaya E.N., DSc (Medicine), Associate Professor, Professor of the Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfectology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

Tokarevich N.K., DSc (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Zoonoses, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОПИСТОРХОЗОМ ПРИ НАЛИЧИИ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ К ОСТЕОПОРОЗУ

Л.В. Курлаева, Т.Ф. Степанова, К.Б. Степанова, А.Н. Косырева, И.В. Бакштановская,
Г.А. Кальгина, С.А. Григорьева

ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Тюмень, Россия

Резюме. Для выявления особенностей функционирования иммунной системы у больных хроническим описторхозом с наличием мутаций в локусах, ассоциированных с предрасположенностью к развитию остеопороза, проведены комплексные исследования клеточного и гуморального звеньев иммунитета. Состояние фагоцитарной системы оценивали, изучая показатели поглотительной, метаболической активности и образования активных форм кислорода по восстановлению нитросинего тетразолия (НСТ тест спонтанный и стимулированный). Фенотип лимфоцитов определяли методом проточной цитометрии. Гуморальное звено системы иммунитета оценивали по количеству иммуноглобулинов классов М, G, А и Е. Выявлены различия в функциональном состоянии различных звеньев иммунной системы. У больных хроническим описторхозом при наличии полиморфизма rs1544410 гена, кодирующего внутриклеточный рецептор витамина D, достоверно ниже относительное количество Т-хелперов, чем в группе с нормальным аллелем. При наличии полиморфизма rs1800012 гена, кодирующего $\alpha 1$ -цепь коллагена I типа, достоверно выше абсолютное количество лимфоцитов, ниже — показатели спонтанного и стимулированного НСТ-теста, значительно ниже — количество DN-Т лимфоцитов (как в относительном, так и в абсолютном значении). При наличии мутации rs3736228 гена, кодирующего трансмембранный рецептор липопротеинов низкой плотности, ниже уровень миелопероксидазы и индекс стимуляции нейтрофилов, выше поглотительная активность нейтрофилов. Наличие мутации rs2234693 гена рецептора эстрогена приводит к достоверному повышению показателя стимулированного НСТ-теста и концентрации IgG. Таким образом, у пациентов с хроническим описторхозом при наличии мутаций генов COL1 A1, LRP5, ESR1(rs2234693) изменяются как неспецифические врожденные реакции иммунной системы, так и показатели адаптивного звена иммунитета; мутации гена VDR приводят к изменениям только адаптивного иммунитета. Анализ полученных результатов позволяет предполагать, что наличие мутаций, связанных с развитием остеопороза, оказывает модулирующий эффект на иммунный ответ при хронической описторхозной инвазии. Выявление поли-

Адрес для переписки:

Курлаева Любовь Владимировна
625026, Россия, г. Тюмень, ул. Республики, 147,
ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии
Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (905) 820-29-34.
E-mail: kuzolii@mail.ru

Contacts:

Lyubov' V. Kurlaeva
625026, Russian Federation, Tyumen, Respubliki str., 147,
Tyumen Region Infection Pathology Research Institute.
Phone: +7 (905) 820-29-34.
E-mail: kuzolii@mail.ru

Для цитирования:

Курлаева Л.В., Степанова Т.Ф., Степанова К.Б., Косырева А.Н.,
Бакштановская И.В., Кальгина Г.А., Григорьева С.А. Иммунологические
показатели у больных хроническим описторхозом при наличии мутаций
в генах, ассоциированных с предрасположенностью к остеопорозу //
Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 923–930. doi: 10.15789/2220-
7619-IPI-8486

Citation:

Kurlaeva L.V., Stepanova T.F., Stepanova K.B., Kosyрева A.N.,
Bakshantovskaya I.V., Kalgina G.A., Grigorieva S.A. Immunological
parameters in patients with chronic opisthorchiasis bearing gene mutations
associated with osteoporosis-predisposition // Russian Journal of Infection
and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 923–930.
doi: 10.15789/2220-7619-IPI-8486

морфных генов, связанных с метаболическими нарушениями костной ткани и изучение иммунологического профиля у пациентов с хронической описторхозной инвазией позволит реализовать индивидуальный подход в лечении этих больных.

Ключевые слова: иммунный ответ, неспецифическая резистентность, адаптивный иммунитет, хронический описторхоз, генетические полиморфизмы, остеопороз.

IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH CHRONIC OPISTHORCHIASIS BEARING GENE MUTATIONS ASSOCIATED WITH OSTEOPOROSIS-PREDISPOSITION

Kurlaeva L.V., Stepanova T.F., Stepanova K.B., Kosyreva A.N., Bakstanovskaya I.V., Kalgina G.A., Grigorieva S.A.

Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russian Federation

Abstract. To identify the features of the immune system functioning in patients with chronic opisthorchiasis bearing mutations in loci associated with predisposition to developing osteoporosis, comprehensive studies of cellular and humoral arms were carried out. The state of the phagocytic system was assessed by assessing absorption, metabolic activity and reactive oxygen species formation to restore nitrosine tetrazolium (spontaneous and stimulated NBT test). The phenotype of lymphocytes was determined by flow cytometry. The humoral immune arm was evaluated by the number of immunoglobulin classes M, G, A and E. Differences in the functional state of various arms of the immune system were revealed. In patients with chronic opisthorchiasis in the presence of rs1544410 polymorphism of the gene encoding the intracellular vitamin D receptor, the relative number of T-helper cells is significantly lower than in the group with the normal allele. In the presence of rs1800012 polymorphism of the gene encoding the α 1-chain of type I collagen, the absolute lymphocyte count is significantly higher, spontaneous and stimulated NBT test were lower, the number of DN-T lymphocytes is significantly lower (both in relative and absolute values). In the presence of the rs3736228 mutation of the gene encoding the transmembrane low-density lipoprotein receptor, the level of myeloperoxidase and the neutrophil stimulation index are lower, the absorption activity of neutrophils is higher. The presence of the rs2234693 mutation for estrogen receptor gene leads to significantly increased level of stimulated NBT test and IgG concentration. Thus, patients with chronic opisthorchiasis bearing mutations in the COL1 A1, LRP5, ESR1(rs2234693) genes, have altered both nonspecific innate reactions and parameters of the adaptive immune arm; mutation of the VDR gene solely affects adaptive immunity. Analysis of the results suggests that the presence of mutations associated with the development of osteoporosis has a modulating effect on the immune response in chronic opisthorchiasis invasion. The identification of polymorphic genes associated with metabolic disorders of bone tissue and the study of the immunological profile in patients with chronic opisthorchiasis invasion will allow to implement an individual approach in the treatment of such patients.

Key words: immune response, nonspecific resistance, adaptive immunity, chronic opisthorchiasis, genetic polymorphisms, osteoporosis.

Введение

Вопросы о механизмах функционирования иммунной системы при хроническом описторхозе по-прежнему актуальны. В хронической фазе описторхоза основное значение имеют воспалительно-пролиферативные процессы, важны интенсивность и длительность инвазии [15]. Многолетние исследования иммунного статуса у людей с хронической описторхозной инвазией продемонстрировали активацию неспецифической резистентности (повышение значений кислородзависимой бактерицидности (НСТ-тест)), активности миелопероксидазы нейтрофильных гранулоцитов, повышение концентрации IL-8, высокое содержание хелперов и Т-лимфоцитов с поздним маркером активации (CD3⁺HLA-DR⁺), снижение показателей адаптивного клеточного иммунитета (сниженное количество цитотоксических лимфоцитов), активацию гуморального звена иммунитета (повышение концентрации общих IgA, IgM и IgE), повышение концентрации циркулирующих иммунных комплексов) [2, 4].

Существует взаимосвязь между функционированием костной и иммунной систем организма. В регуляции дифференцировки костной ткани и активации иммунной системы принимают участие одни и те же белки (интерлейкины-1 и -6, фактор некроза опухоли и др.). Обнаружены общие для клеток обеих систем рецепторы, факторы транскрипции, сигнальные пути. Остеобласты участвуют в регуляции образования иммуноцитов, синтезируя гранулоцитарный, макрофагальный колониестимулирующие факторы. Клетки иммунной системы с помощью синтезируемых ими медиаторов способны как усиливать процессы костной резорбции, так и тормозить их. Так, например, прямым ингибитором остеокластогенеза является IL-10, а трансформирующий фактор роста TGF- β , который синтезируют макрофаги и Т-лимфоциты, способен вызывать хемотаксис остеобластов, усиливать их пролиферацию [16]. Это дает основания предполагать, что полиморфизмы генов, ассоциированных с развитием остеопороза,

роза, влияющие на перестройку и активацию метаболических процессов организма, тем самым могут воздействовать на иммунный ответ у больных хроническим описторхозом.

Целью исследования было выявление взаимосвязи между наличием полиморфизмов, ассоциированных с развитием остеопороза, и особенностями функционирования иммунной системы у пациентов с хронической описторхозной инвазией.

Материалы и методы

Исследованы образцы венозной крови 22 пациентов с диагнозом «Описторхоз, хроническая фаза заболевания». Все пациенты дали информированное согласие на использование биологического материала в настоящем исследовании. Медиана возраста обследуемых составила 48 лет (IQR 38–59). Проведено комплексное исследование иммунологических показателей. Фагоцитарная активность нейтрофилов (ФАН) определялась по способности клеток поглощать частицы латекса с $d = 10$ мкм (ООО «ДИАЭМ», Россия) — процент нейтрофилов из 200 проанализированных, содержащих частицы латекса [11]. Метаболическую активность нейтрофилов определяли цитохимическим методом восстановления нитросинего тетразолия до диформаза (НСТ-тест спонтанный и стимулированный 10% раствором пирогенала) [11]. Спонтанный НСТ-тест отражал степень активации кислородзависимого метаболизма и связанную с ним наработку свободных радикалов, стимулированный вариант (*in vitro*) характеризовал функциональный резерв [17]. Уровень миелопероксидазы нейтрофилов выявляли спектрофотометрическим методом [17]. Исследование фенотипа лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии цельной периферической крови с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, США), меченых FITC (fluorescein isothiocyanate), PE (phycoerythrin), ECD (phycoerythrin-Texas Red-X) и PC5 (phycoerythrin-cyanin5) на проточном цитофлуориметре «Cytomics FC-500» (Beckman Coulter, США). Использовалось трехцветное иммунофенотипирование по панелям: CD3/CD4/CD45, CD3/CD8/CD45, CD3/CD16+56/CD45 и CD3/CD19/CD45. Основные фенотипы лимфоцитов: Т-лимфоциты (CD3⁺CD19⁻CD16/56⁻CD45⁺), Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺CD45⁺), Т-цитотоксические (CD3⁺CD8⁺CD45⁺), НК-клетки (CD3⁻CD16/56⁺CD45⁺), В-лимфоциты (CD3⁻CD19⁺CD45⁺). Абсолютные значения были получены по двухплатформенной технологии с использованием результатов гематологического анализа. Концентрацию иммуноглобулинов М, G, А, и Е в сыворотке крови опре-

деляли иммуноферментным методом с помощью коммерческих наборов «Иммуноскрин-G, М, А-ИФА-БЕСТ» и «IgE-общий-ИФА-БЕСТ» (Вектор-Бест, Россия). Концентрацию цитокинов (IFN γ , IL-4, IL-8, IL-10) определяли иммуноферментным методом с помощью коммерческих наборов «Гамма-интерферон-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-4-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-8-ИФА-БЕСТ», «Интерлейкин-10-ИФА-БЕСТ» (Вектор-Бест, Россия).

Выделение тотальной ДНК человека из образцов крови проводили с использованием коммерческих наборов «ДНК-сорб В» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора). Генетические полиморфизмы выявляли методом пиросеквенирования с применением системы генетического анализа PyroMark24 и коммерческих наборов реагентов (АмплиСенс Пироскрин «ОСТЕО-скрин»), предназначенных для оценки предрасположенности к развитию остеопороза путем обнаружения полиморфизмов в локусах:

- rs1544410 гена VDR (Рецептор к витамину D);
- rs1800012 гена COL1 A1 (Коллаген тип 1);
- rs3736228 гена LRP5 (Рецептор к липопротеинам низкой плотности);
- rs2234693 и rs9340799 гена ESR1 (Эстрогеновый рецептор);
- rs4988235 гена LCT (Лактаза).

Статистическая обработка полученных результатов выполнена лицензионным программным обеспечением SPSS, версия 22.0, предназначенным для научных исследований и доказательной медицины. Оценка значимости различий между группами с нормальным распределением значений (подтвержденным тестом Шапиро–Уилка) проводилась с помощью t-критерия Стьюдента (Т-тест). Оценка значимости различий между группами при распределении, отличном от нормального, проводилась с использованием непараметрического U-критерия Манна–Уитни (U-тест). Критический уровень значимости принимался $< 0,05$. Сравнивали показатели иммунной системы в группах больных хроническим описторхозом с наличием и отсутствием мутаций, ассоциированных с предрасположенностью к остеопорозу. В статье представлены достоверно различающиеся показатели ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

Результаты нашего исследования показали: у пациентов полиморфизмом rs1544410 гена, кодирующего внутриклеточный рецептор витамина D, выявлено достоверно ($p = 0,02$, Т-тест) меньшее относительное количество Т-хелперов $40,5 \pm 3,24$ по сравнению с пациентами без данной мутации — $49 \pm 1,24$. Такое отсутствие повышения количества Т-хелперов может быть

связано с недостаточностью иммунного ответа на описторхозную инвазию у пациентов с наличием минорного аллеля. Ген VDR кодирует белок-рецептор витамина D, способный изменять экспрессию генов, вовлеченных как в гомеостаз кальция, так и в иммунный ответ [13]. Ферменты, метаболизирующие витамин D, и рецепторы к витамину D присутствуют во многих типах клеток, включая иммунные (антигенпрезентирующие клетки, Т-клетки, В-клетки и моноциты) [25]. Витамин D влияет как на врожденный, так и на адаптивный иммунитет, участвует в клеточной пролиферации и дифференцировке [5, 14], усиливает противомикробное действие макрофагов и моноцитов, повышает фагоцитарную функцию иммунных клеток, увеличивает продукцию IL-10, ингибирует цитокины IL-2 и IL-17 [20]. Применение высоких доз кальцитриола у здоровых людей приводит к значительному снижению уровня провоспалительного цитокина — IL-6 [14]. Количество VDR на CD3⁺CD4⁺ лимфоцитах коррелирует со степенью их дифференцировки, что говорит о потенциальной восприимчивости Т-хелперов к витамину D [9] и может быть связано с изменением их реакции на описторхозную инвазию при наличии исследуемой мутации.

У пациентов с хронической описторхозной инвазией при наличии полиморфизма rs1800012 гена COL1A1 обнаружены отличия от группы без мутации по нескольким показателям (табл. 1).

В реакциях врожденного иммунитета наблюдается достоверное снижение образования активных форм кислорода нейтрофилами в спонтанном НСТ-тесте $11,50 \pm 1,85\%$ по сравнению с лицами без данной мутации — $22,44 \pm 2,09\%$, а также меньшие значения показателя стимулированного НСТ-теста — $34,25 \pm 2,25$ против $44,06 \pm 2,05\%$ соответственно. При этом в группе с наличием мутантного аллеля показатели находятся в пределах границ физиологической нормы, в отличие от группы без мутации, где регистрируется их более выраженная реакция на описторхозную инвазию. Сохранение нормальной реакции нейтрофилов у больных описторхозом с наличием минорного аллеля свидетельствует о менее выраженной реакции на антиген, а также о сохранении высокого бактерицидного потенциала этих клеток. У больных с мутантным аллелем обнаружено достоверно более высокое абсолютное количество лимфоцитов $2122 \pm 120,54$ кл/мкл, чем в группе без мутации $1721 \pm 66,5$ кл/мкл. Таким образом, мутация в гене коллагена I типа, влияющая на структурно-функциональные характеристики самого распространенного протеина костного матрикса и способствующая развитию остеопороза [1, 7], способна модифицировать иммунную реакцию на описторхозную инвазию, снижая реакции врожденного иммунитета.

У больных ХО при наличии мутации rs3736228 гена LRP5 выявлены изменения в показателях врожденного иммунитета (табл. 2).

Таблица 1. Иммунологические показатели у пациентов с хроническим описторхозом в зависимости от наличия или отсутствия минорного аллеля rs1800012 гена COL1 A1

Table 1. Immunological parameters in patients with chronic opisthorchiasis, depending on the presence or absence of a minor allele rs1800012 of the gene COL1 A1

Показатели Indicators	Наличие минорного аллеля, n = 4 Presence of a minor allele, n = 4 M±m/Me (Q ₂₅ -Q ₇₅)	Отсутствие минорного аллеля, n = 18 Absence of a minor allele, n = 18 M±m/Me (Q ₂₅ -Q ₇₅)	P
НСТ, % NBT, %	11,5±1,85	22,44±2,09	0,002 T-test
НСТ ст., % NBT st., %	34,25±2,25	44,06±2,05	0,03 T-test
Лимфоциты, кл/мкл Lymphocytes, cells/μl	2122±120,54	1721±66,5	0,03 T-test

Таблица 2. Иммунологические показатели у пациентов с хроническим описторхозом в зависимости от наличия или отсутствия минорного аллеля rs3736228 гена LRP5

Table 2. Immunological parameters in patients with chronic opisthorchiasis with or without minor allele rs3736228 of the LRP5 gene

Показатели Indicators	Наличие минорного аллеля, n = 7 Presence of a minor allele, n = 7 M±m	Отсутствие минорного аллеля, n = 15 Absence of a minor allele, n = 15 M±m	P
МП, у.е. MP, c.u.	482±87,01	797±111	0,04 T-test
ФАН, % PAN, %	85,17±1,01	76,13±1,94	0,01 T-test

Таблица 3. Иммунологические показатели у пациентов с хроническим описторхозом в зависимости от наличия или отсутствия минорного аллеля rs2234693 гена ESR1

Table 3. Immunological parameters in patients with chronic opisthorchiasis with or without minor allele rs2234693 of the ESR1 gene

Показатели Indicators	Наличие минорного аллеля, n = 14 Presence of a minor allele, n = 14 M±m/Me (Q₂₅-Q₇₅)	Отсутствие минорного аллеля, n = 8 Absence of a minor allele, n = 8 M±m/Me (Q₂₅-Q₇₅)	P
НСТ ст., % NBT st., %	42,86±2,32	34,63±3,2	0,04 T-test
IgG, мг/мл IgG, mg/ml	20,95 (IQR 13–25)	10,05 (IQR 8–14)	0,04 U-test

При наличии минорного аллеля достоверно ниже уровень фермента нейтрофилов миелопероксидазы (482 ± 87 у.е.) по сравнению с уровнем миелопероксидазы у пациентов без минорного аллеля (797 ± 111 у.е.), что можно оценивать как протективное влияние мутации, так как в ответ на описторхозную инвазию резко повышается активность миелопероксидазы, а этот фермент, будучи сильным окислителем, способен вызвать повреждение окружающих тканей макроорганизма. Обнаружен более высокий процент фагоцитарной активности нейтрофилов — $85,17 \pm 1,01$ против $76 \pm 1,94\%$, что говорит об большей активации показателей неспецифической резистентности организма в исследуемой группе больных ХО по сравнению с больными ХО без мутации.

LRP5 — трансмембранный рецептор липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), который служит корецептором Wnt сигнального пути и играет ключевую роль в пролиферации и дифференциации различных клеток [8, 12]. Полиморфные варианты рецептора к ЛПНП зависят от нарушения передачи сигналов системой Wnt и тем самым влияют на метаболизм остеобластов во время остеогенеза, связаны с минеральной плотностью кости и с предрасположенностью к остеопорозу [19, 23, 24]. ЛПНП принимают участие в иммунном ответе, связанном с процессами воспаления и зависящем от воздействия провоспалительных цитокинов, фактора некроза опухоли, IL-1 β и IL-6 [3]. Полиморфизм rs3736228 гена LRP5, как и полиморфизмы других участников Wnt-сигнального пути, ассоциирован с состояниями иммунной системы, обеспечивающими самоподдерживающееся воспаление [21], что может объяснять выявленные изменения в реакциях врожденного иммунитета у больных ХО при наличии исследуемой мутации LRP5.

У пациентов с ХО — носителей минорного аллеля rs2234693 гена ESR1 достоверно выше показатель стимулированного НСТ-теста ($42,86 \pm 2,32\%$), чем у пациентов без мутации ($34,63 \pm 3,2\%$), а также концентрация IgG — $20,95$ (IQR 13–25) мг/мл против $10,05$ (IQR

8–14) мг/мл (табл. 3). Следовательно, у пациентов с наличием полиморфизма rs2234693 гена эстрогенового рецептора выявляется более высокий бактерицидный потенциал нейтрофилов, а также более выраженная активация гуморального иммунного ответа, чем у больных ХО без мутации.

Полиморфизмы генов эстрогеновых рецепторов ассоциированы с минеральной плотностью костной ткани, костным ремоделированием и переломами костей [6]. Женские половые гормоны подавляют синтез факторов дифференцировки и активности остеокластов, стимулируют синтез остеопротегерина, подавляющего активность остеокластов и способствующего их апоптозу, а также TGF- β , который увеличивает продолжительность существования остеобластов за счет снижения их апоптоза [10]. Наряду с влиянием на костную ткань и участием в развитии остеопороза известно существенное влияние эстрогенов на иммунную систему: рецепторы эстрогена обнаружены во многих типах иммунных клеток, включая В- и Т-лимфоциты, дендритные и НК-клетки. Эстрогены влияют на реакции врожденного иммунитета — стимулируют синтез так называемых молекул адгезии (благодаря которым лимфоциты могут закрепиться в очаге повреждения), повышают уровень Т-хелперов и снижают содержание Т-супрессоров, активируют В-систему иммунитета, что приводит к повышению содержания антител [18]. Синтез цитокинов (TNF α , IL-1, IL-6) макрофагами регулируется эстрогенами, в частности, путем модуляции экспрессии CD16 [22]. Возможно поэтому в настоящем исследовании удалось выявить изменения иммунологических показателей врожденного и гуморального иммунитета у больных ХО с наличием минорного аллеля rs2234693 гена ESR1.

При наличии мутаций rs9340799 гена ESR1 и rs4988235 гена LCT у обследованных с хроническим описторхозом не выявлено достоверных отличий в исследованных показателях иммунной системы от лиц без данных мутаций.

Заключение

Анализ иммунологических показателей и молекулярно-генетических маркеров, ассоциированных с повышенным риском возникновения остеопороза, у больных хроническим описторхозом выявил отличия в функционировании иммунной системы у лиц с наличием мутаций от пациентов, у которых исследуемые мутации не обнаружены.

Полученные результаты показывают, что мутации генов COL1A1, LRP5, ESR1 (rs2234693) при хроническом описторхозе оказывают влияние как на неспецифические врожденные реакции иммунной системы, так и на адаптивное звено иммунитета.

Мутация гена VDR у пациентов с ХО приводит к изменениям только адаптивного иммунного ответа. Наличие минорного аллеля полиморфизма rs1544410 гена, кодирующего внутриклеточный рецептор витамина D, препятствует повышению содержания Т-хелперов в периферической крови при описторхозной инвазии.

Обнаружено, что мутация rs1800012 гена COL1A1 модифицирует врожденный иммунный ответ на описторхозную инвазию — отсутствие активности кислородзависимой бактерицидности нейтрофилов.

Показано модифицирующее влияние полиморфизма rs3736228 гена LRP5 на реакции врожденного иммунитета: при наличии минорного аллеля, меняющем проведение сигналов Wnt-пути, наблюдается усиление фагоцитарной способности нейтрофилов и предотвращение активации фермента миелопероксидазы.

В нашем исследовании среди полиморфизмов гена ESR1 только rs2234693 оказался связан с повышением бактерицидного потенциала нейтрофилов и гуморального иммунного ответа на описторхозную инвазию.

Часть выявленных нами отличий в функционировании компонентов иммунной системы в группах с минорным аллелем могут рассматриваться как компенсирующие нарушения, вызванные описторхозной инвазией (например, активность миелопероксидазы нейтрофилов при наличии мутации rs 3736228 гена LRP5), а часть — как усугубляющие их. Анализ результатов позволяет предполагать, что наличие исследованных мутаций в генах VDR, COL1A1, LRP5, ESR1 (rs2234693) оказывает влияние на иммунологические показатели описторхозной инвазии и проявления особенностей иммунного ответа у больных хроническим описторхозом.

Список литературы/References

1. Гребенникова Т.А., Трошина В.В., Белая Ж.Е. Маркеры и генетические предикторы остеопороза в рутинной клинической практике // *Consilium Medicum*. 2019. Т. 21, № 4. С. 97–102. [Grebennikova T.A., Troshina V.V., Belaia Zh.E. Markers and genetic predictors of osteoporosis in routine clinical practice *Consilium Medicum*, 2019, vol. 21, no. 4, pp. 97–102. (In Russ.)] doi: 10.26442/20751753.2019.4.190323
2. Григорьева С.А., Косырева А.Н., Степанова Т.Ф., Степанова К.Б., Бакштановская И.В., Кальгина Г.А., Курлаева Л.В. Показатели иммунной системы у пациентов с хроническим описторхозом в зависимости от полиморфизмов генов, ассоциированных с развитием ишемической болезни сердца // *Инфекция и иммунитет*. 2021. Т. 11, № 1. С. 177–183. [Grigorieva S.A., Kosyreva A.N., Stepanova T.F., Stepanova K.B., Bakshtanovskaya I.V., Kalgina G.A., Kurlaeva L.V. Immune system parameters in chronic opisthorchiasis patients related to genes polymorphisms associated with developing ischemic heart disease *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 1, pp. 177–183. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-ISI-1334
3. Доценко М., Алексейчик Д., Панкратова Ю., Алексейчик С., Доценко К., Санкович Е. Холестерин и иммунитет: клинико-иммунологические параллели // *Наука и инновации*. 2015. № 4 (146). С. 59–64. [Dotsenko M., Alekseychik D., Pankratova Yu., Alekseychik S., Dotsenko K., Sankovich E. Cholesterol and immunity: clinical and immunological parallels *Nauka i innovatsii = Science and Innovation*, 2015, no. 4 (146), pp. 59–64. (In Russ.)]
4. Кальгина Г.А., Степанова Т.Ф., Степанова К.Б., Григорьева С.А., Курлаева Л.В. Клетки иммунной системы и цитокины у людей с хронической описторхозной инвазией // *Важнейшие вопросы инфекционных болезней: шестой сборник научных работ*. Тюмень, 2018. С. 41–44. [Kalgina G.A., Stepanova T.F., Stepanova K.B., Grigorieva S.A., Kurlaeva L.V. Immune system cells and cytokines in people with chronic opisthorchiasis invasion. In: *The most important issues of infectious diseases: The sixth collection of scientific papers*. Tyumen, 2018, pp. 41–44. (In Russ.)]
5. Корнишева В.Г., Кукушкина К.С. Значение витамина D в иммунной системе и патогенезе аутоиммунных процессов кожи (обзор) // *Проблемы медицинской микологии*. 2018. Т. 20, № 3. С. 15–20 [Kornisheva V.G., Kukushkina K.S. Significance of vitamin D in the immune system and the pathogenesis of autoimmune processes of the skin (review) *Problemy meditsinskoi mikologii = Problems in Medical Mycology*, 2018, vol. 20, no. 3, pp. 15–20. (In Russ.)]
6. Крылов М.Ю., Греченко А.В., Самаркина Е.Ю., Торопцова Н.В., Короткова Т.А., Никитинская О.А., Мякоткин В.А., Беневоленская Л.И. Ассоциация минеральной плотности костной ткани с полиморфизмом гена альфа рецептора эстрогена (ESRα) при постменопаузальном остеопорозе // *Научно-практическая ревматология*. 2005. № 1. С. 8–11. [Krylov M.Yu., Grechenko A.V., Samarkina E.Yu., Toropectsova N.V., Korotkova T.A., Nikitinskaya O.A., Myakotkin V.A., Benevolenskaya L.I. Association of bone mineral density with polymorphism of the estrogen receptor alpha gene (ESRα) in postmenopausal osteoporosis *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Scientific and Practical Rheumatology*, 2005, no. 1, pp. 8–11. (In Russ.)] doi: 10.14412/1995-4484-2005-548

7. Майлян Э.А. Ассоциация полиморфизма SP1 гена COL1A1 с развитием остеопороза у женщин с различной длительностью постменопаузы // Вятский медицинский вестник. 2017. Т. 3, № 55. С. 35–41. [Mailyan E.A. Association of polymorphism SP1 of the COL1A1 gene with the development of osteoporosis in women with different duration of postmenopause *Vyatskii meditsinskii vestnik = Vyatka Medical Bulletin*, 2017, vol. 3, no. 55, pp. 35–41. (In Russ.)]
8. Майлян Э.А. Мультифакторность этиопатогенеза остеопороза и роль генов канонического WNT-сигнального пути // Остеопороз и остеопатии. 2015. № 2. С. 15–19. [Maylyan E.A. Multifactorial etiopathogenesis of osteoporosis and the role of genes of the canonical WNT signaling pathway *Osteoporoz i osteopatii = Osteoporosis and Osteopathies*, 2015, no. 2, pp. 15–19. (In Russ.)]
9. Мальцев С.В., Рылова Н.В. Витамин D и иммунитет // Практическая медицина. 2015. Т. 1, № 86. С. 114–120. [Maltsev S.V., Rylova N.V. Vitamin D and immunity. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine*, 2015, vol. 1, no. 86, pp. 114–120. (In Russ.)]
10. Маслова К.А., Крылов М.Ю., Торопцова Н.В., Никитинская О.А., Короткова Т.А., Мякоткин В.А., Беневоленская Л.И. Полиморфизмы генов эстрогеновых рецепторов α и β при постменопаузальном остеопорозе // Научно-практическая ревматология. 2008. Т. 46, № 3. С. 16–22. [Maslova K.A., Krylov M.Y., Toroptsova N.V., Nikitinskaya O.A., Korotkova T.A., Myakotkin V.A., Benevolenskaya L.I. Estrogenic receptors α and β gene polymorphisms in postmenopausal osteoporosis. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*, 2008, vol. 46, no. 3, pp. 16–22. (In Russ.)] doi: 10.14412/1995-4484-2008-654
11. Меньшиков И.В., Бедулева Л.В. Основы иммунологии: лабораторный практикум. Ижевск: Удмуртский университет, 2001. 133 с. [Menshikov I.V., Beduleva L.V. Fundamentals of immunology: laboratory practice. *Izhevsk: Udmurt University*, 2001, 133 p. (In Russ.)]
12. Мякоткин В.А., Крылов М.Ю., Казеева А.Ю., Маслова К.А., Торопцова Н.В., Никитинская О.А., Беневоленская Л.И. Оценка значимости полиморфизмов генов LRP5, BMP4, TGF β 1 при постменопаузальном остеопорозе // Научно-практическая ревматология. 2008, Т. 46, № 3. С. 8–15. [Myakotkin V.A., Krylov M.Yu., Kazeeva A.Yu., Maslova K.A., Toroptsova N.V., Nikitinskaya O.A., Benevolenskaya L.I. Evaluation of the significance of polymorphisms of the LRP5, BMP4, TGF β 1 genes in postmenopausal osteoporosis *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*, 2008, vol. 46, no. 3, pp. 8–15. (In Russ.)] doi: 10.14412/1995-4484-2008-653
13. Пальшина А.М., Пальшина С.Г., Сафонова С.Л., Пальшин В.Г. На заметку клиницисту: современный взгляд на метаболизм витамина D и полиморфизм гена рецептора витамина D // Вестник Северо-Восточного Федерального университета имени М.К. Аммосова. 2018. № 3 (12). С. 34–42. [Palshina A.M., Palshina S.G., Safonova S.L., Palshin V.G. For the clinician's note: a modern view on vitamin D metabolism and polymorphism of the vitamin D receptor gene *Vestnik Severo-Vostochnogo Federal'nogo universiteta imeni M.K. Ammosova = Bulletin of the Northeastern Federal University named after M.K. Ammosov*, 2018, no. 3 (12), pp. 34–42. (In Russ.)] doi: 10.25587/SVFU.2018.3(13).18855
14. Пигарова Е.А., Плещева А.В., Дзеранова Л.К. Влияние витамина D на иммунную систему // Иммунология. 2015. Т. 36, № 1. С. 62–66. [Pigarova E.A., Plesheva A.V., Dzeranova L.K. The effect of vitamin D on the immune system. *Immunologiya = Immunology*, 2015, vol. 36, no. 1, pp. 62–66. (In Russ.)]
15. Степанова Т.Ф. Описторхоз: новые взгляды на инвазионную болезнь, основы клинической реабилитации, методологию крупномасштабных оздоровительных работ. Тюмень: Тюм Г.У., 2002. 196 с. [Stepanova T.F. Opisthorchiasis: new views on invasive disease, the basics of clinical rehabilitation, the methodology of large-scale recreational work. *Tyumen: Tyumen State University*, 2002, 196 p. (In Russ.)]
16. Струков В.И., Виноградова О.П., Сергеева-Кондраченко М.Ю., Марченкова Л.А., Елистратов Д.Г. Иммуноterapia постменопаузального остеопороза и других заболеваний костно-суставной системы на фоне гормональной недостаточности // Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучение. 2022. Т. 10, № 2 (36). С. 47–55. [Strukov V.I., Vinogradova O.P., Sergeeva-Kondrachenko M.Yu., Marchenkova L.A., Elistratov D.G. Immunotherapy of postmenopausal osteoporosis and other diseases of the osteoarticular system against the background of hormonal insufficiency. *Akusherstvo i ginekologiya: Novosti. Mneniya. Obucheniya = Obstetrics and Gynecology: News, Opinions, Training*, 2022, vol. 10, no. 2 (36), pp. 47–55. (In Russ.)] doi: 10.33029/2303-9698-2022-10-2-47-55
17. Хайтов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Методические рекомендации по оценке иммунного статуса человека. В кн.: Экологическая иммунология. М.: ВНИРО, 1995. С. 126–127. [Khaitov R.M., Pinegin B.V., Istamov H.I. Methodical recommendations for evaluation of human immune status. In: *Ecological Immunology. Moscow: VNIRO*, 1995, pp. 126–127. (In Russ.)]
18. Шабанова С.Ш., Алекберова З.С. Нейроэндокринология и аутоиммунитет — современные аспекты // Научно-практическая ревматология. 2010. Т. 48, № 1. С. 24–31. [Shabanova S.Sh., Alekberova Z.S. Neuroendocrinology and autoimmunity — modern aspects. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*, 2010, vol. 48, no. 1, pp. 24–31. (In Russ.)] doi: 10.14412/1995-4484-2010-1403
19. Gong Y., Slee R.B., Fukai N., Rawadi G., Roman-Roman S., Reginato A.M., Wang H., Cundy T., Glorieux F.H., Lev D., Zacharin M., Oexle K., Marcelino J., Suwairi W., Heeger S., Sabatakos G., Apte S., Adkins W.N., Allgrove J., Arslan-Kirchner M., Batch J.A., Beighton P., Black G.C., Boles R.G., Boon L.M., Borrone C., Brunner H.G., Carle G.F., Dallapiccola B., De Paep A., Floege B., Halfhide M.L., Hall B., Hennekam R.C., Hirose T., Jans A., Juppner H., Kim C.A., Keppeler-Noreuil K., Kohlschuetter A., LaCombe D., Lambert M., Lemyre E., Letteboer T., Peltonen L., Ramesar R.S., Romanengo M., Somer H., Steichen-Gersdorf E., Steinmann B., Sullivan B., Superti-Furga A., Swoboda W., van den Boogaard M.J., Van Hul W., Vikkula M., Votruba M., Zabel B., Garcia T., Baron R., Olsen B.R., Warman M.L.; Osteoporosis-Pseudoglioma Syndrome Collaborative Group. LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. *Cell*, 2001, vol. 107, no. 4, pp. 513–523. doi: 10.1016/s0092-8674(01)00571-2
20. Hewison M. Vitamin D and immune function: an overview. *Proc. Nutr. Soc.*, 2012, vol. 71, no. 1, pp. 50–61. doi: 10.1017/s0029665111001650
21. Huang Q., Wang C.C., Liu Y.G., Zhao C.M., Zhang T.P., Liu Y., Wang H. Clinical relevance of genetic polymorphisms in WNT signaling pathway (SFRP1, WNT3A, CTNNB1, WIF-1, DKK-1, LRP5, LRP6) on pulmonary tuberculosis in a Chinese population. *Front. Immunol.*, 2022, vol. 13: 1011700. doi: 10.3389/fimmu.2022.1011700

22. Kramer P.R., Kramer S.F., Guan G. 17beta-estradiol regulates cytokine release through modulation of CD16 expression in monocytes and monocyte-derived macrophages. *Arthritis Rheum*, 2004, vol. 50, no. 6, pp. 1967–1975. doi: 10.1002/art.20309
23. Krishnan V., Bryant H.U., Macdougald O.A. Regulation of bone mass by Wnt signaling. *J. Clin. Invest.*, 2006, vol. 116, no. 5, pp. 1202–1209. doi: 10.1172/JCI28551
24. Little R.D., Carulli J.P., Del Mastro R.G., Dupuis J., Osborne M., Folz C., Manning S.P., Swain P.M., Zhao S.C., Eustace B., Lappe M.M., Spitzer L., Zweier S., Braunschweiler K., Benchekroun Y., Hu X., Adair R., Chee L., FitzGerald M.G., Tulig C., Caruso A., Tzellas N., Bawa A., Franklin B., McGuire S., Nogues X., Gong G., Allen K.M., Anisowicz A., Morales A.J., Lomedico P.T., Recker S.M., Van Eerdewegh P., Recker R.R., Johnson M.L. A mutation in the LDL receptor-related protein 5 gene results in the autosomal dominant high-bone-mass trait. *Am. J. Hum. Genet.*, 2002, vol. 70, no. 1, pp. 11–19. doi: 10.1086/338450
25. Prietl B., Theiber G., Pieber T.R., Amrein K. Vitamin D and immune function. *Nutrients*, 2013, vol. 5, no. 7, pp. 2502–2521. doi: 10.3390/nu5072502

Авторы:

Курлаева Л.В., младший научный сотрудник группы клинической и экспериментальной иммунологии ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, г. Тюмень, Россия;

Степанова Т.Ф., д.м.н., профессор, директор ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, г. Тюмень, Россия;

Степанова К.Б., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клиники и иммунологии биогельминтозов ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, г. Тюмень, Россия;

Косырева А.Н., научный сотрудник группы молекулярно-генетических и паразитологических исследований ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, г. Тюмень, Россия;

Бакштановская И.В., к.б.н., ведущий научный сотрудник группы молекулярно-генетических и паразитологических исследований, ученый секретарь ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, г. Тюмень, Россия;

Кальгина Г.А., к.б.н., ведущий научный сотрудник группы клинической и экспериментальной иммунологии ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, г. Тюмень, Россия;

Григорьева С.А., научный сотрудник группы клинической и экспериментальной иммунологии ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, г. Тюмень, Россия.

Authors:

Kurlaeva L.V., Junior Researcher, Clinical and Experimental Immunology Group, Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russian Federation;

Stepanova T.F., DSc (Medicine), Professor, Director of the Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russian Federation;

Stepanova K.B., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Clinics and Immunology of Biohelminthiasis, Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russian Federation;

Kosyreva A.N., Researcher, Molecular Genetic and Parasitological Research Group, Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russian Federation;

Bakshtanovskaya I.V., PhD (Biology), Leading Researcher, Clinical and Experimental Immunology Group, Scientific Secretary, Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russian Federation;

Kalgina G.A., PhD (Biology), Leading Researcher, Clinical and Experimental Immunology Group, Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russian Federation;

Grigorieva S.A., Researcher, Clinical and Experimental Immunology Group, Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russian Federation.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СКОРОСТИ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ У ПАЦИЕНТОВ С ИНФИЛЬТРАТИВНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

Д.С. Эсмедляева¹, Н.П. Алексеева², М.Е. Дьякова¹

¹ ФГБУ Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Эффективность химиотерапии при инфильтративном туберкулезе легких (ИТЛ) определяется своевременностью и адекватностью лечения, а скорость репаративных изменений легочной паренхимы связана с эффективностью терапии. Различные классы протеиназ участвуют в ремоделировании внеклеточного матрикса посредством деградации его компонентов, а также в воспалительной реакции, регулируя ряд провоспалительных цитокинов. Целью данного исследования было определить взаимосвязь направленности репаративных изменений с показателями системы протеиназы/ингибиторы у пациентов инфильтративным туберкулезом легких (ИТЛ) с различной лекарственной устойчивостью (ЛУ) штаммов *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) к противотуберкулезным препаратам (ПТП). **Материалы и методы.** Ретроспективное исследование включало 60 и 55 пациентов с впервые выявленным ИТЛ, выделяющих лекарственно-чувствительные (ЛЧ) и лекарственно-устойчивые (ЛУ) штаммы возбудителя к ПТП соответственно. Абацеллирование с закрытием полости распада по окончании интенсивной фазы терапии рассматривали как выраженную положительную динамику, а с сохранением полости распада — как замедленную динамику процесса репарации. В сыворотке крови определяли уровни матриксных металлопротеиназ ММП-1, ММП-3, ММП-8, ММП-9 и их ингибитора ТИМП-1, нейтрофильной эластазы (НЭ), альфа-2-макроглобулина (МГ) и протеиназного ингибитора (ПИ). Применяли Statistica 10.0 и R. **Результаты.** Структура воспалительного ответа организма при ИТЛ определялась не только различной резистентностью возбудителя, но и объемом поражения. Пациенты с ограниченным и распространенным процессом, выделяющие ЛЧ штаммы возбудителя составили I и II группы, а ЛУ — III и IV группы соответственно. Согласно дискриминантному анализу в оценке прогноза репарации в I и II группах определяющим являлось число нейтрофилов с уровнями протеиназ ММП-8, ММП-9 (I группа) или с уровнями ингибиторов ТИМП-1 и ПИ (II группа). В III и IV группах прогнозирование возможно только по сочетанию биохимических данных (уровни протеиназ) с результатами лучевых методов исследования (отсутствие/наличие полостных изменений). **Выводы.** Комбинации из показателей системы протеиназы/ингибиторы информативны в оценке скорости репаративных изменений при ИТЛ и различаются не только в зависимости от ЛЧ штаммов МБТ к ПТП, но и от объема поражения легочной паренхимы. Различия в комбинациях показателей обусловлены давностью специфического процесса.

Ключевые слова: туберкулез, репарация, биомаркеры, матриксные металлопротеиназы, тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ, нейтрофильная эластаза.

Адрес для переписки:

Эсмедляева Диляра Салиевна
191036, Россия, Санкт-Петербург, Лиговский пр., 2–4,
ФГБУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский
институт фтизиопульмонологии.
Тел.: 8 921 183-50-35. E-mail: diljara-e@yandex.ru

Contacts:

Dilyara S. Esmedlyaeva
191036, Russian Federation, St. Petersburg, Ligorovskiy pr., 2–4,
St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology.
Phone: +7 921 183-50-35. E-mail: diljara-e@yandex.ru

Для цитирования:

Эсмедляева Д.С., Алексеева Н.П., Дьякова М.Е. Биохимические маркеры скорости репаративных процессов у пациентов с инфильтративным туберкулезом легких // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 931–938. doi: 10.15789/2220-7619-BMA-8034

Citation:

Esmedlyaeva D.S., Alekseeva N.P., Dyakova M.E. Biochemical markers assessing rate of reparative processes in patients with infiltrative pulmonary tuberculosis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 931–938. doi: 10.15789/2220-7619-BMA-8034

BIOCHEMICAL MARKERS ASSESSING RATE OF REPARATIVE PROCESSES IN PATIENTS WITH INFILTRATIVE PULMONARY TUBERCULOSIS

Esmedlyeva D.S.^a, Alekseeva N.P.^b, Dyakova M.E.^a

^a St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

^b St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The effectiveness of chemotherapy for infiltrative pulmonary tuberculosis (ITL) is determined by proper timing and adequacy of treatment. The speed of reparative changes in the pulmonary parenchyma is associated with the effectiveness of therapy. Different classes of proteinases are involved in extracellular matrix remodeling. The aim of the study was to evaluate a potential of using the markers of proteinase/inhibitors axis for predicting effectiveness of therapy in patients with ITL due to varying resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to anti-tuberculosis drugs (PTP). **Materials and methods.** A retrospective study included 60 and 55 ITL patients with the drug sensitive (DS) and drug resistance (DR) Mtb strains, respectively. Patients were divided into two groups according to therapy effectiveness. The levels of blood serum matrix metalloproteinase MMP-1, MMP-3, MMP-8, MMP-9 and their TIMP-1 inhibitor, neutrophil elastase (NE), alpha-2 macroglobulin (MG) and proteinase inhibitor (PI) were determined. Statistica 10.0 and R software packages were used. **Results.** According to the model of discriminant analysis, the pattern of host inflammatory response in ITL was accounted for not only by varying pathogen resistance, but also by the different size of lung damage. Patients with a limited and widespread process with the DS of the pathogen strains were assigned to group I and II, and DR — to group III and IV group, respectively. The decisive in the speed of tissue repair was the number of neutrophils bearing various levels of proteinase MMP-8, MMP-9 (I group) or TIMP-1 and PI inhibitors (II group). Only combining biochemical data with the those on radiation methods are possible for prognosis in a group of patients with DR (III and IV). **Conclusions.** Combinations of the markers of the proteinase/inhibitors axis are informative in assessing a rate of reparative changes in ITL and differ not only depending on the pathogen DS strains, but also from the size of destructed pulmonary parenchyma. Differences in parameter combinations are accounted for by history of a specific disease.

Key words: tuberculosis, repair, biomarkers, matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of matrix metalloproteinases, neutrophil elastase.

Введение

Эффективность терапии туберкулеза легких (ТЛ) определяется своевременностью и адекватностью лечения и характеризуется скоростью репаративных изменений легочной паренхимы [4]. Предсказать ответ организма по совокупности клинико-рентгенологических параметров до начала лечения не представляется возможным, что делает перспективным поиск прогностических биомаркеров неспецифической реактивности макроорганизма для определения вероятности неблагоприятных исходов лечения [17].

В соответствии с потребностями роста и репарации одним из наиболее важных механизмов регуляции внеклеточного компонента межклеточного матрикса (ВКМ) является протеолитический процессинг, опосредуемый различными классами протеиназ, среди которых можно выделить сериновые и матриксные металлопротеиназы (ММП). В норме эти протеиназы участвуют в процессах, включающих адгезию, пролиферацию, миграцию клеток, апоптоз, модулируют действия цитокинов, вызывая расщепление биоактивных молекул. Субстратом типичного представителя сериновых протеиназ — нейтрофильной эластазы (НЭ) — являются эластины межклеточного вещества, а также коллагены IV и V типов базальной мембраны, а среди ММП,

согласно субстратной специфичности, выделяют — коллагеназы (ММП-1, ММП-8, ММП-13), желатиназы (ММП-2, ММП-9), стромелизины (ММП-3, ММП-10, ММП-11), матрилизины (ММП-7) и др. Источниками ММП могут быть различные типы клеток включая моноциты, нейтрофилы, клетки эпителия, фибробласты. Ферменты продуцируются как зимогены, а в периферической крови их активность регулируется протеиназным ингибитором (ПИ), α 2-макроглобулином (МГ) и тканевыми ингибиторами металлопротеиназ (ТИМП). Нарушение баланса между ММП и ингибиторами играет важную роль в патологических состояниях, включая воспаление, фиброз, аутоиммунные заболевания и канцерогенез [12].

Известно, что *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) и ее основные клеточные антигенные компоненты стимулируют высвобождение ММП, но роль ММП в механизме разрушения соединительной ткани, вызванных МБТ, до конца не исследована [10]. Между сериновыми протеиназами и ММП существует взаимосвязь. Показано, что ММП-8, ММП-9 разрушая ПИ могут восстановить активность сериновых протеаз, в основном НЭ, тогда как НЭ, инактивируя ТИМП-1, опосредованно участвует в активации ММП [13]. Показано, что НЭ и представитель ММП (ММП-8) входят в состав нейтрофильных внеклеточных ловушек (NETs),

которые напрямую воздействуют на МБТ [14, 15]. Повышение уровней НЭ и ММП связано с рентгенологическими показателями тяжести процесса при различных заболеваниях легких [19]. Возможность использовать показатели системы протеиназы/ингибиторы в прогнозировании результатов интенсивной фазы терапии обсуждалась в единичных исследованиях [7, 11].

Целью данного исследования было определение взаимосвязи направленности репаративных изменений с показателями системы протеиназы/ингибиторы у пациентов инфильтративным туберкулезом легких (ИТЛ) с различной лекарственной устойчивостью (ЛУ) штаммов МБТ к противотуберкулезным препаратам (ПТП).

Материалы и методы

Ретроспективное исследование включало 115 больных (65 мужчин и 50 женщин) со средним возрастом (39 лет) с впервые выявленным ИТЛ, находившихся на лечении в клинике ФГБУ «СПбНИИ фтизиопульмонологии» МЗ РФ. Критериями исключения служили внелегочные формы туберкулеза, сахарный диабет, острая воспалительная реакция нетуберкулезного генеза, ВИЧ и беременность. Исследование респираторного материала проводили методом микроскопии, посева в системе ВАСТЕС MGIT 960 (Becton Dickinson, США) и молекулярно-генетическим методом (ПЦР). ЛУ изолятов МБТ определяли в соответствии с Приказом № 109. С учетом цели исследования в качестве группирующих факторов использовали тип чувствительности изолятов возбудителя и эффективность интенсивной фазы противотуберкулезной терапии. ЛЧ и ЛУ штаммы возбудителя к ПТП выделяли 60 и 55 пациентов соответственно. Выраженный положительный эффект терапии (1 вариант динамики процесса) характеризовался исчезновением симптомов интоксикации, абациллированием и ликвидацией полостей распада ($n = 46$). Замедленная динамика процесса (2 вариант) характеризовалась исчезновением симптомов интоксикации, абациллированием и частичным рассасыванием инфильтративных изменений с уменьшением полостей распада ($n = 69$). Компьютерные исследования (КТ) были выполнены на спиральном компьютерном томографе Aquilion Prime (Toshiba) с оценкой структурных изменений легочной паренхимы (пакет прикладных программ Nodule Analysis и Lung Volume Analysis) [3].

Взятие крови осуществлялось перед назначением адекватной терапии, после определения ЛУ изолятов МБТ. Методом твердофазно-

го иммуноферментного анализа в сыворотке крови определяли уровни показателей системы протеиназы/ингибиторы: концентрации ММП-1, ММП-3, ММП-8, ММП-9 и их тканевого ингибитора-1 (ТИМП-1) с использованием наборов реагентов «R&D Systems» (Minneapolis, MN, США); активность МГ, НЭ и ее ингибитора ПИ оценивали спектрофотометрически по торможению синтетических субстратов [2, 20].

Для статистического анализа данных были использованы программные продукты Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.) и R (свободная программная среда вычислений с открытым исходным кодом). Для описания в группах категориальных переменных использовались частоты градаций, представленные в процентах, значимость различия которых проверялась при помощи точного критерия Фишера. После проверки на нормальность распределения (Шапиро–Уилка), характеристики метрических переменных представлялись в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей (Me , Q_1 – Q_3). Для проверки значимости их различий применяли непараметрические критерии Вилкоксона, Краскела–Уоллиса с учетом поправки Бонферрони, в корреляционном анализе использовали критерий Спирмена (r).

Для решения задачи делимости популяций больных с разной скоростью репаративных процессов и изучения вопроса о возможности прогнозирования результатов лечения на основе биохимических данных и результатов КТ, применялась статистическая процедура классификации с кросс-валидацией 20%. В качестве возможных предикторов ($n = 23$) рассматривались показатели системы протеиназы/ингибиторы, данные об основных популяциях лейкоцитов (общее количество лейкоцитов, общее количество лимфоцитов, сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов) до начала терапии и результаты рентгенологических исследований до и после интенсивной фазы лечения (суммарный объем поражения и деструкции, наличие полостных изменений).

В основу построения дифференциально-диагностической модели был положен метод классификации с расслоением [1], в котором предварительно ищутся категориальные переменные для такого расслоения выборки, при котором возможные предикторы в отдельных подвыборках отличались бы наибольшим образом. В группах с разной ЛЧ штаммов МБТ к ПТП и с разной распространенностью процесса был применен линейный дискриминантный анализ (на основе более чем 30 функций) с зависимой переменной в виде характера эффективности интенсивной фазы лечения. Исследование подтверждено этическим комитетом НИИФ от 2020 г.

Результаты

Предварительно проведенная классификация с расслоением данных показала необходимость анализа показателей системы протеиназы/ингибиторы не только в зависимости от ЛЧ штаммов МБТ, но и от объема поражения [1]. В связи с этим последующее построение модели дискриминантного анализа (ДА) с ретроспективной оценкой эффективности терапии проводилась в четырех группах: у пациентов с ограниченным и распространенным процессом, выделяющих как ЛЧ (I и II группы), так и ЛУ штаммы МБТ к ПТП (III и IV) соответственно (табл. 1).

Согласно ретроспективной оценке эффективности интенсивной фазы терапии, среди пациентов с ЛЧ штаммами МБТ к ПТП, независимо от распространенности процесса (I и II группы), «выраженная положительная» и «замедленная динамика» процесса выявлялись почти в равном проценте случаев, а среди пациентов с ЛУ штаммами МБТ (III и IV группы) «замедленная динамика» процесса отмечалась в 2 раза чаще. Исходные отличия «замедленной» динамики от «выраженной положительной» динамики процесса в группе пациентов с ЛУ штаммами возбудителя к ПТП, проявлялись более выраженным деструктивным компонентом как по объему, так и по характеру процесса, наличию полостей деструкции в 62,16% против 37,84% случаев и бактериовыделением, оцениваемым методом микроскопии, в 37,5% против 13,3% случаев, что соответствует данным литературы о особенностях замедленной скорости репаративных изменений [5].

Следует обратить внимание, что в группе пациентов с исходно адекватной терапией (с ЛЧ штаммами возбудителя) не только при распространенных, но и при ограниченных процессах, замедленная скорость репарации отмечалась почти у половины пациентов. Учитывая, что эти изменения выявлялись до назначения ПТП, возможным объяснением полученных различий может служить фактор, который мы не включили в исследование — оценка давности заболевания. Обоснованием такой гипотезы является то, что по мере увеличения длительности воспалительного процесса отмечается изменение его патоморфоза в сторону нарастания фиброзных изменений.

Представленный ниже анализ данных проводился в выделенных группах до начала терапии. Согласно ретроспективной оценке динамики процесса, попарное сравнение исходных уровней показателей протеиназно-ингибиторной системы не выявило значимых отличий внутри каждой из четырех групп. Независимо от динамики процесса, во всех группах отмечалось значимое повышение уровней представ-

вителей разных классов протеиназ: сериновой протеиназы (НЭ) и одной из ММП — желатиназы — при сохранении концентраций коллагеназ (ММП-1, ММП-8) и стромелизина-1 (ММП-3) на уровне здоровых пациентов. Была установлена сниженная активность МГ и отсутствие изменений ТИМП-1 и ПИ относительно референтного уровня. Избыток концентрации ММП-9 и относительный дефицит ТИМП-1 при низкой активности МГ свидетельствовал о нарушении баланса в сторону повышения ММП.

С увеличением суммарного объема фокуса были связаны концентрации ММП-1 в I ($r = 0,51$, $p = 0,05$) и IV группах ($r = 0,31$, $p = 0,02$), ММП-8 во II ($r = 0,54$, $p = 0,03$), ММП-9 в III ($r = 0,48$, $p = 0,05$) и IV ($r = 0,43$, $p = 0,007$) соответственно. Выявленные закономерности согласуются с полученным нами ранее выводом о том, что изменения ММП являются объективным критерием распространенности специфического процесса [7, 10].

Для оценки прогноза скорости репарации по показателям протеиназно-ингибиторной системы модель ДА формировалась для каждой из четырех группы отдельно. Для того чтобы оценить вклад каждой из переменных, были вычислены их коэффициенты корреляций с итоговой моделью ДА, составленной более чем по 30 функциям (табл. 2). Анализируя данные таблицы, следует подчеркнуть, что сочетания из маркеров, определяющие скорость репаративных изменений, отличались между 4 группами.

В группе с ЛЧ к ПТП штаммами МБТ сопоставление коэффициентов корреляций и направленности знаков перед переменными в модели ДА показало, что менее выраженный эффект терапии характеризуется особенностью воспалительной реакции с преобладанием нейтрофильного компонента. При ограниченном процессе (I группа) увеличение числа нейтрофилов ($r = 0,59$, $p = 0,035$) не сопровождалось ростом концентраций протеиназ нейтрофильного происхождения, таких как ММП-8 и ММП-9 ($r = -0,67$, $p = 0,023$; $r = -0,57$, $p = 0,007$ соответственно). При распространенном процессе (II группа) на фоне роста числа нейтрофилов ($r = 0,88$, $p = 0,001$) не наблюдалось компенсаторного роста ингибитора ТИМП-1 ($r = 0,57$, $p = 0,008$) и отмечалось снижение основного ингибитора нейтрофильных протеиназ — ПИ ($r = -0,51$, $p = 0,01$). Роль ПИ в ингибировании нейтрофильных протеаз является важным отрицательным модулятором активности внеклеточных ловушек и считается его ключевой функцией.

В группе пациентов с ЛУ к ПТП штаммам МБТ, согласно модели ДА, при ограниченном процессе (III группа) возникла необходимость в качестве предикторов замедленной скорости

Таблица 1. Эффективность терапии в группах с различной резистентностью в зависимости от объема поражения легочной ткани

Table 1. The effectiveness of therapy in groups with various resistance depending on the size of pulmonary tissue lesions

	Группы Groups			
	Пациенты с ЛЧ штаммы МБТ к ПТП Patients with DS strains <i>Mycobacterium tuberculosis</i> in anti-tuberculosis therapy		Пациенты ЛУ штаммы МБТ к ПТП Patients with DR strains <i>Mycobacterium tuberculosis</i> in anti-tuberculosis therapy	
Динамика Dynamics of the process	I Ограниченный Limited process	II Распространенный Extended process	III Ограниченный Limited process	IV Распространенный Extended process
1/2	64,00/36,00	45,80/54,17	33,00/67,70 *p = 0,01	26,92/73,08 *p = 0,03

Примечание. ЛЧ — лекарственно чувствительные, ЛУ — лекарственно устойчивые штаммы МБТ штаммы *Mycobacterium tuberculosis* к противотуберкулезным препаратам; *p — значимость различий внутри группы.

Note. DS drug-sensitive strains, DR — drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains in anti-tuberculosis therapy; *p — a in-group significant difference.

Таблица 2. Коэффициенты корреляции между итоговой дискриминантной функцией и составляющими ее переменными в группах с различной резистентностью и объемами поражения при замедленной скорости репарации

Table 2. The correlation coefficients between the final discriminant function and its variables in groups with various resistance and size of damage with a slow repair rate

	Группы Groups			
	Пациенты с ЛЧ штаммы МБТ к ПТП Patients with DS strains <i>Mycobacterium tuberculosis</i> in anti-tuberculosis therapy		Пациенты с ЛУ штаммы МБТ к ПТП Patients with DR strains <i>Mycobacterium tuberculosis</i> in anti-tuberculosis therapy	
Переменные Variables	I Ограниченный Limited process n = 28	II Распространенный Extended process n = 32	III Ограниченный Limited process n = 21	IV Распространенный Extended process n = 34
ММП-1 MMP-1	0,26	0,15	0,46 *p = 0,009	-0,25
ММП-3 MMP-3	0,01	0,03	0,57 *p = 0,05	0,03
ММП-8 MMP-8	-0,67 *p = 0,023	0,50	0,57 *p = 0,006	0,50
ММП-9 MMP-9	-0,57 *p = 0,007	-0,40	0,57 *p = 0,001	0,08
ТИМП-1 TIMP-1	0,05	0,57 *p = 0,008	0,46 *p = 0,008	-0,09
МГ MG	0,11	0,03	-0,13	-0,11
НЭ NE	0,13	-0,04	0,68 *p = 0,001	0,22
ПИ PI	-0,41	-0,51 *p = 0,01	-0,12	0,31
Число палочкоядерных нейтрофилов Number of stab neutrophils	0,59 *p = 0,03	0,88 *p = 0,001	0,18	0,87 *p = 0,001
Наличие полости Presence of a cavity	0,29	0,19	0,36 *p = 0,005	-0,14
Объем поражения Size of lesion	0,01	-0,06	0,28	-0,37 *p = 0,001

Примечание. ЛЧ МБТ — лекарственно-чувствительные или ЛУ МБТ лекарственно-устойчивые к противотуберкулезным препаратам штаммы *Mycobacterium tuberculosis*, ММП — металлопротеиназы, ТИМП-1 — тканевый ингибитор-1 металлопротеиназ, МГ — α 2-макроглобулин, ПИ — протеиназный ингибитор, НЭ — нейтрофильная эластаза; *p — значимость по критерию Спирмена.

Note. DS — drug-sensitive strains, DR — drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains in anti-tuberculosis therapy, MMP — matrix metalloproteinases, TIMP-1 — tissue inhibitor of metalloproteinases, MG — α 2-macroglobulin, NE — neutrophilic elastase, PI — proteinase inhibitor, *p — a statistical significance according to Spearman's criterion.

репарации учитывать не только биохимические характеристики (концентрации протеиназ), но и данные КТ (наличие полости). Полученные результаты можно расценить как проявление взаимодействия моноцитов (ММП-1 в сочетании с ее активатором ММП-3) и нейтрофилов (ММП-8, ММП-9, НЭ) при увеличении объема специфического поражения. На тканевом уровне сочетанное действие различных классов протеиназ, обладающих эластолитической активностью (НЭ с ММП-9), проявляется в способности вызывать большую деградацию белков легочной ткани, по крайней мере, эластина. Таким образом, можно предположить, что предпосылкой более длительного процесса заживления является вовлечение в протеолитический каскад деградации ВКМ различных классов ММП, формирующих увеличение объема поражения (размеры полости). Снижение скорости репарации будет отмечаться при общем повышении уровней различных ММП на фоне роста ингибитора ТИМП-1, что согласуется с данными литературы об ухудшении прогноза заболевания и его прогрессировании [8]. В группе пациентов с ЛУ (IV группа) и распространенным процессом к окончанию интенсивной фазы терапии в 90% случаев отмечалось сохранение полости и высокий уровень нейтрофилов, что не позволило нам выделить дискриминантные функции (ДФ). Процент правильной классификации скорости репаративных изменений в описанных моделях составил 90–100%.

Обсуждение

Поиск более эффективных схем лечения туберкулеза затруднен из-за отсутствия надежных прогностических биомаркеров, которые определяют стратегию лечения. Математический аппарат, который мы применили, доказал эффективность поиска комбинаций из показателей протеиназно-ингибиторной системы для оценки прогноза терапии при отсутствии значимых различий при бинарном анализе переменных. На сегодня опубликовано единственное исследование, доказывающее связь исходных уровней ММП и ТИМП с результатами лечения [11]. Было выявлено, что комбинация из ММП-2, ММП-7 и ТИМП-1 обладает высокой точностью при классификации благоприятных и неблагоприятных исходов лечения (с чувствительностью в 84% и специфичностью в 83%) в группе пациентов с ЛЧ к ПТП штаммами МБТ.

Преимуществом нашего анализа было получение ДФ с учетом резистентности штаммов МБТ. Основным выводом текущего исследования следует считать, что комбинации из биохимических маркеров деструкции, прогнозирующие направленность и скорость

репарации, различаются не только в группах с различной резистентностью штаммов возбудителя, но и зависят от объема поражения. В группе пациентов с ЛЧ к ПТП штаммами МБТ ведущим оказалось влияние нейтрофильного компонента воспаления. Наши данные согласуются с литературными о том, что деструкция легочной паренхимы и бактериовыделение наиболее тесно связаны с относительной экспансией нейтрофилов, особенно палочкоядерных и снижением отношения лимфоцитов к нейтрофилам [16]. Различия в составе выделенных комбинаций в зависимости от объема поражения могут быть объяснимы с точки зрения соотношения нейтрофилов с умеренным или выраженным проявлением воспалительной реакции. Следует помнить, что оценка нейтрофилов не ограничивается их количеством. Необходимо учитывать их пластичность и спектр функциональных возможностей, среди которых также отмечена способность к дегрануляции или высвобождению во внеклеточное пространство из NETs НЭ, ММП-8 наряду с ядерной ДНК, IL-17, катепсином-G и протеиназой-3 [9]. Полученные нами данные согласуются с тем, что количественные параметры антигенспецифического Th1-ответа играют не столь выраженную роль в определении тяжести течения ТЛ, как общие сдвиги в гранулоцитарном и лимфоцитарном ростках, формируя важный фактор патогенеза специфического воспаления [16].

Подтверждением нашей гипотезы о влиянии длительности заболевания на скорость репарации на тканевом уровне являются различия в соотношении инфильтративных и фиброзных изменений легочной паренхимы, которые могут определяться раньше по биохимическим маркерам деструкции и ремоделирования, чем по данным КТ. Наличие фиброзных изменений, препятствует проникновению препаратов, способствует снижению эффективности (50%) лечения. Избыточное разрушение ВКМ приводит к деструкции тканей, тогда как преобладание избыточной продукция его компонентов над деградацией вызывает фиброз [18]. Установлено, что ММП не только вовлечены в воспалительный процесс, но могут активировать цитокины, инициирующие легочный фиброз, такие как трансформирующий фактор роста β (TGF- β). Предполагаемый механизм формирования фиброза заключается в последовательной стимуляции свободными радикалами кислорода и НЭ протеаз (ММП-9), которые активируют находящийся в латентном состоянии TGF- β .

В пользу нашей гипотезы о влиянии фиброзных изменений на скорость репарации служат данные литературы о том, что в течении трех

лет у 26,7% больных ИТЛ с бактериовыделением и сохраненной ЛЧ к препаратам первого ряда процесс переходит в хроническую форму [6]. Полученный нами вывод о необходимости учитывать не только биохимические характеристики, но и данные КТ в группе больных с ЛУ штаммами возбудителя согласуется с данными литературы о снижении вероятности положительной динамики процесса при наличии полостных изменений с 54,5 до 31,5% [5].

Заключение

Применение статистической модели классификации на основе ДА выявило различия в структуре воспалительного ответа организма при ИТЛ в зависимости от объема поражения

в группах с различной резистентностью возбудителя. Была показана информативность комбинаций из показателей системы протеиназы/ингибиторы в оценке направленности и скорости репаративных изменений. Построенные нами ДФ показали, что взаимодействие «микроорганизм—макроорганизм» в зависимости от скорости репарации характеризуется различной выраженностью неспецифического воспалительного ответа. Различия в комбинациях показателей протеиназно-ингибиторной системы свидетельствуют о том, что для достижения эффективности терапии следует учитывать биохимические данные, характеризующие исходный фон, на котором будут происходить репаративные изменения, обусловленные давностью специфического процесса.

Список литературы/References

1. Алексеева Н.П., Горлова И.А., Бондаренко Б.Б. Возможности прогнозирования возникновения артериальной гипертензии на основе метода проективной классификации // Артериальная гипертензия. 2017. Т. 23, № 5. С. 472–480. [Aleksееva N.P., Gorlova I.A., Bondarenko B.B. Forecasting hypertension risk based on the method of projective classification. *Arterial'naya gipertenziya = Arterial Hypertension*, 2017, vol. 23, no. 5, pp. 472–480. (In Russ.)] doi: 10.18705/1607-419X-2017-23-5-472-480
2. Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.И. Протеолиз в норме и при патологии. Киев: Здоровье, 1988. 319 с. [Veremeenko K.N., Goloborod'ko O.P., Kizim A.I. Proteolysis is normal and with pathology. Kiev: Zdorov'e, 1988. 319 p. (In Russ.)]
3. Гаврилов П.В., Баулин И.А., Лукина О.В. Стандартизованная интерпретация и контроль выявленных одиночных образований в легких по системе lung imaging reporting and data system (lung-rads™) // Медицинский альянс. 2017. № 3. С. 17–27. [Gavrilov P.V., Baulin I.A., Lukina O.V. Standardized interpretation and control of identified single lung nodule by the Lung Imaging Reporting and Data System (Lung-RADS™). *Meditsinskii al'yans = Medical Alliance*, 2017, no. 3, pp. 17–27 (In Russ.)]
4. Ерохин В.В. О некоторых механизмах патогенеза туберкулеза // Туберкулез и болезни легких. 2009. Т. 86, № 11. С. 3–8. [Erokhin V.V. About some mechanisms of tuberculosis pathogenesis. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*, 2009, vol. 86, no. 11, pp. 3–8. (In Russ.)]
5. Мишин В.Ю. Химиотерапия туберкулеза легких // Пульмонология. 2008. Т. 3. С. 5–14. [Mishin V.Yu. Chemotherapy of pulmonary tuberculosis *Pul'monologiya = Pulmonology*, 2008, vol. 3, pp. 5–14. (In Russ.)] doi: 10.18093/0869-0189-2008-0-3-5-14
6. Пильник Г.В., Ханин А.Л., Башева С.А. Непосредственные и отдаленные результаты лечения впервые выявленных больных деструктивным туберкулезом легких с применением комплексной физиотерапии // Вестник современной клинической медицины. 2017. Т. 10, вып. 3. С. 38–43. [Pil'nik G.V., Khanin A.L., Basheva S.A. Immediate and long-term results of treatment of newly diagnosed patients with destructive pulmonary tuberculosis using complex physiotherapy. *Vestnik sovremennoi klinicheskoi meditsiny = Bulletin of Modern Clinical Medicine*, 2017, vol. 10, iss. 3, pp. 38–43. (In Russ.)] doi: 10.20969/VSKM.2017.10(3).38-43
7. Эсмедляева Д.С., Алексеева Н.П., Сапожникова Н.В., Дьякова М.Е., Перова Т.Л., Кирюхина Л.Д., Журавлев В.Ю. Система матричные металлопротеиназы/ингибиторы при инфильтративном туберкулезе легких и ее роль в оценке интенсивной фазы лечения // Биомедицинская химия. 2016. Т. 62, № 5. С. 593–598. [Esmedlyayeva D.S., Aleksееva N.P., Sapozhnikova N.V., D'yakova M.E., Perova T.L., Kiryukhina L.D., Zhuravlev V.Yu. The system of matrix metalloproteinases/inhibitors in infiltrate pulmonary tuberculosis and its function for assessment of the intensive phase of treatment. *Biomeditsinskaya khimiya = Biomedicinskaya Khimiya*, 2016, vol. 62, no. 5, pp. 593–598. (In Russ.)] doi: 10.18097/PBMC20166205593
8. Cabral-Pacheco G.A., Garza-Veloz I., Castruita-De la Rosa C., Ramirez-Acuña J.M., Perez-Romero B.A., Guerrero-Rodriguez J.F., Martinez-Avila N., Martinez-Fierro M.L. The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, vol. 21, no. 24: 9739. doi: 10.3390/ijms21249739
9. De Melo M.G., Mesquita E.D., Oliveira M.M., Silva-Monteiro C., Silveira A.K., Malaquias T.S., Dutra T.C., Galliez R.M., Kritski A.L., Silva E.C. Imbalance of NET and alpha-1-antitrypsin in tuberculosis patients is related with hyper inflammation and severe lung tissue damage. *Front. Immunol.*, 2019, vol. 9: 3147. doi: 10.3389/fimmu.2018.03147
10. Hrabec E., Strek M., Zieba M., Kwiatkowska S. Circulation level of matrix metalloproteinase-9 is correlated with disease severity in tuberculosis patients. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 2002, vol. 6, no. 8, pp. 713–719.
11. Kumar N.P., Moideen K., Nancy A., Viswanathan V., Thiruvengadam K., Sivakumar S., Hissar S., Nair D., Banurekha V.V., Kornfeld H., Babu S. Association of plasma matrix metalloproteinase and tissue inhibitors of matrix metalloproteinase levels with adverse treatment outcomes among patients with pulmonary tuberculosis. *JAMA Netw. Open*, 2020, vol. 3, no. 12: e2027754. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.27754
12. Lee H.S., Kim W.J. The role of matrix metalloproteinase in inflammation with a focus on infectious diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, vol. 23, no. 18: 10546. doi: 10.3390/ijms231810546
13. Liu Z., Zhou X., Shapiro S.D., Shipley J.M., Twining S.S., Diaz L.A., Senior R.M., Werb Z. The serpin alpha1-proteinase inhibitor is a critical substrate for gelatinase B/MMP-9 in vivo. *Cell*, 2000, vol. 102, no. 5, pp. 647–655. doi: 10.1016/s0092-8674(00)00087-8

14. Muefong C., Owolabi O., Donkor S., Charalambous S., Mendy J., Sey I., Bakuli A., Rachow A., Geldmacher C., Sutherland J. Major neutrophil-derived soluble mediators associate with baseline lung pathology and post-treatment recovery in tuberculosis patients. *Front. Immunol.*, 2021, vol. 23, no. 12: 740933. doi: 10.3389/fimmu.2021.740933
15. Ong C., Elkington P., Brilha S., Ugarte-Gil C., Tome-Esteban M., Tezera L., Pabisiak P., Moores R., Sathyamoorthy T., Patel V., Gilman R., Porter J., Friedland J. Neutrophil-derived MMP-8 drives AMPK-dependent matrix destruction in human pulmonary tuberculosis. *PLoS Pathog.*, 2015, vol. 11, no. 5: e1004917. doi: 10.1371/journal.ppat.1004917
16. Pantelev A.V., Nikitina I.Y., Burmistrova I.A., Kosmiadi G.A., Radaeva T.V., Amansahedov R.B., Sadikov P.V., Serdyuk Y.V., Larionova E.E., Bagdasarian T.R., Chernousova L.N., Ganusov V.V., Lyadova I.V. Severe tuberculosis in humans correlates best with neutrophil abundance and lymphocyte deficiency and does not correlate with antigen-specific CD4 T-cell response. *Front. Immunol.*, 2017, vol. 8: 963. doi: 10.3389/fimmu.2017.00963
17. Rockwood N., du Bruyn E., Morris T., Wilkinson R.J. Assessment of treatment response in tuberculosis. *Expert Rev. Respir. Med.*, 2016, vol. 10, no. 6, pp. 643–654. doi: 10.1586/17476348.2016.1166960
18. Sonbol H.S. Extracellular matrix remodeling in human disease. *J. Microsc. Ultrastruct.*, 2018, vol. 6, no. 3, pp. 123–128. doi: 10.4103/jmau.jmau_4_18
19. Ugarte-Gil C., Elkington P., Gilman R., Coronel J., Tezera L., Bernabe-Ortiz A., Gotuzzo E., Friedland J., Moore D. Induced sputum MMP-1, -3 & -8 concentrations during treatment of tuberculosis. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 4: e61333. doi: 10.1371/journal.pone.0061333
20. Visser L., Blout E.R. The use of p-nitrophenyl N-tert-butylloxycarbonyl-L-alaninate as substrate for elastase. *Biochim. Biophys. Acta*, 1972, vol. 268, no. 1, pp. 257–260. doi: 10.1016/0005-2744(72)90223-9

Авторы:

Эсмедляева Д.С., к.б.н., старший научный сотрудник отдела фундаментальной медицины ФГБНУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт физиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия;
Алексеева Н.П., к.ф.-м.н., доцент кафедры статистического моделирования математико-механического факультета Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург, Россия;
Дьякова М.Е., д.б.н., старший научный сотрудник отдела фундаментальной медицины ФГБНУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт физиопульмонологии, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Esmedlyaeva D.S., PhD (Biology), Senior Researcher, Department of Fundamental Medicine, St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation;
Alekseeva N.P., PhD (Physics and Mathematics), Associate Professor, Senior Researcher, Scientific Technical Information Department, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation;
Dyakova M.E., DSc (Biology), Senior Researcher, Department of Fundamental Medicine, St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 06.03.2023
Принята к печати 13.10.2023

Received 06.03.2023
Accepted 13.10.2023

ВЛИЯНИЕ ИНГАЛЯЦИОННОЙ БАКТЕРИОФАГ-ТЕРАПИИ НА МУКОЗАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ТОНЗИЛЛИТОМ

Ш.Т. Турдиева, Д.К. Ганиева, Г.Р. Насирова

Ташкентский педиатрический медицинский институт, Ташкент, Узбекистан

Резюме. Целью исследования являлось изучение влияния ингаляционной бактериофаг-терапии на мукозальный иммунитет ротовой полости у детей с острым тонзиллитом. *Материалы и методы.* Были обследованы 212 пациентов от 4 до 15 лет с острым тонзиллитом и 110 практически здоровых детей аналогичного возраста. Методы исследования включали расчет коэффициента соотношения нейтрофилов к лимфоцитам (NLR), в периферической крови, саливадиагностику с определением секреторного иммуноглобулина А (sIgA) и провоспалительного цитокина (TNF α). Учитывая схему проводимого лечения, пациенты были разделены на взаимосравнимые группы: в первую группу вошли пациенты с острым тонзиллитом, получавшие стандартное общепринятое лечение в зависимости от клинической формы патологии, без применения бактериофаг-терапии — $n = 107$ (50,5%), во вторую группу — пациенты, которым одновременно со стандартной общепринятой схемой лечения проводили курс нейбулайзерной бактериофаг-терапии с использованием жидкого комплексного пиобактериофага (PCL) (НПО «Микроген», Россия) — $n = 105$ (49,95%). *Результаты.* На фоне использования бактериофаг-терапии на 6 сутки лечения отмечается повышение уровня sIgA у пациентов младшего возраста — до 97,2%, у пациентов старшего возраста — до 97,2% ($p \leq 0,05$ по отношению к контрольной группе). При этом у пациентов, получавших только стандартное лечение, данные показатели составили 75,8 и 81,6% соответственно ($p \leq 0,05$ по отношению к контрольной группе). Разница между двумя исследуемыми группами составила: в младшей возрастной подгруппе — 21,4%, в старшей возрастной подгруппе — 16,1% ($p \leq 0,05$ по отношению к контрольной группе), что указывает на более эффективное действие препарата у пациентов младшей возрастной группы. Аналогичные изменения наблюдаются при анализе показателей провоспалительного цитокина (TNF α). *Выводы.* По результатам исследования, использование ингаляционной бактериофаг-терапии в комплексном лечении детей с острым тонзиллитом способствует укорочению периода общих и местных клинических проявлений заболевания в 1,4 раза, и улучшению показателей местного иммунитета в среднем от 5,7 до 16,1%.

Ключевые слова: дети, острый тонзиллит, бактериофаг-терапия, секреторный иммуноглобулин А, провоспалительные цитокины, ротовая полость.

INFLUENCE OF INHALED BACTERIOPHAGE THERAPY ON ORAL MUCOSAL IMMUNITY IN CHILDREN WITH ACUTE TONSILLITIS

Turdieva Sh.T., Ganieva D.K., Nasirova G.R.

Tashkent Pediatric Medical Institute, Tashkent, Uzbekistan

Abstract. The study aimed to assess the effect of inhaled bacteriophage therapy on oral mucosal immunity in children with acute tonsillitis. *Materials and methods.* We examined 212 patients aged 4 to 15 years old with acute tonsillitis and 110 age-matched apparently healthy children. Research methods: calculating the Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR),

Адрес для переписки:

Турдиева Шохида Толкуновна
100140, Узбекистан, г. Ташкент, ул. Богишамол, 223,
Ташкентский педиатрический медицинский институт.
Тел.: +998 93 587-25-70. E-mail: shohidahon69@mail.ru

Contacts:

Shokhida T. Turdieva
100140, Uzbekistan, Tashkent, Bogishamol str., 223,
Tashkent Pediatric Medical Institute.
Phone: +998 93 587-25-70. E-mail: shohidahon69@mail.ru

Для цитирования:

Турдиева Ш.Т., Ганиева Д.К., Насирова Г.Р. Влияние ингаляционной бактериофаг-терапии на мукозальный иммунитет ротовой полости у детей с острым тонзиллитом // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 939–946. doi: 10.15789/2220-7619-IOI-2081

Citation:

Turdieva Sh.T., Ganieva D.K., Nasirova G.R. Influence of inhaled bacteriophage therapy on oral mucosal immunity in children with acute tonsillitis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 939–946. doi: 10.15789/2220-7619-IOI-2081

© Турдиева Ш.Т., Ганиева Д.К., Насирова Г.Р., 2023

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-IOI-2081>

saliva diagnostics — secretory immunoglobulin A (sIgA) and the pro-inflammatory cytokine (TNF α). Taking into account the scheme of the treatment, the patients were divided into mutually comparable groups: the first group included patients with acute tonsillitis who received the standard generally accepted treatment depending on the clinical form of the pathology, without using bacteriophage therapy — $n = 107$ (50.5%), the second group — patients receiving a course of bacteriophage therapy — $n = 105$ (49.95%), nebulizer bacteriophage therapy using liquid complex pyobacteriophage (PCL) (Microgen, Russia) from the first days of the disease along with standard treatment. *Results.* During bacteriophage therapy, on the 6th day of treatment, an increased sIgA level up to 97.2% was observed particularly in younger and adolescent patients up to 97.2% ($p \leq 0.05$). At the same time, this parameter reached 75.8% and 81.6%, respectively ($p \leq 0.05$), in patients who received only standard treatment. The following difference between the two study groups was observed: between patients in the younger age subgroup — 21.4%, in the older age subgroup -16.1% ($p \leq 0.05$ relative to control group), which indicates a more effective drug-related effect in patients from the younger age group groups. Similar changes are observed while analyzing level of the pro-inflammatory cytokine (TNF α). *Conclusion.* The use of inhaled bacteriophage therapy in the combination treatment of children with acute tonsillitis helps to shorten the period of general and local clinical manifestations of the disease by 1.4-fold and improve mean local immunity from 5.7% up to 16.1% ($p \leq 0.05$).

Key words: children, acute tonsillitis, bacteriophage therapy, secretory immunoglobulin A, proinflammatory cytokines, oral cavity.

Введение

Острый тонзиллит (ОТ) у детей остается одной из важных проблем педиатрии и первичного звена здравоохранения. Актуальность данной проблемы связана с увеличением количества выявления данной патологии среди детей всех возрастных групп. При этом обращаемость за первичной амбулаторно-поликлинической помощью детей с клинической картиной ОТ доходит до 75% в зависимости от погодных условий [4]. Основную часть этих пациентов составляют дети, входящие в группу «часто болеющих детей» (ЧБД). Особенностью этой группы является снижение иммунитета, проявляющееся частыми обострениями соматических заболеваний. В то же время большая часть инфекционных заболеваний детского возраста проявляется картиной острого тонзиллита [8]. В связи с этим изучение мукозального иммунитета ротовой полости у детей является актуальным для современной педиатрии. Измерение слюнных биомаркеров может предоставить важную информацию об активности местного иммунитета и эффективности выбранной терапевтической тактики [16].

В то же время стандартные методики изучения иммунитета у детей являются инвазивными, что может отрицательно повлиять на психологический статус пациента. Кроме того, взятие венозной крови для проведения иммунологического исследования не всегда доступно в амбулаторно-поликлинических условиях. Поэтому использование слюны пациента для оценки иммунного статуса ротовой полости у детей является более приемлемым.

Материалы и методы

Дизайн исследования базировался на рандомизированном контролируемом методе научного исследования. Само исследование состояло из нескольких этапов: начального, основ-

ного (исследовательского) и заключительного. На начальном этапе были проведены: разработка критериев отбора детей с ОТ; оформление и согласование договоров по проведению клиничко-лабораторных и инструментальных исследований в клинических условиях. Также были составлены договоры с городскими и сельскими семейными поликлиниками, частными диагностическими медицинскими центрами на проведение иммунологических лабораторных исследований. На втором, основном (исследовательском), этапе были выполнены клиничко-лабораторные и иммунологические исследования. На заключительном этапе была проведена интерпретация полученных клиничко-лабораторных данных, а также статистическая обработка результатов исследования.

Критерии отбора пациентов. Критериями включения в исследуемые группы являлись: возраст от 4 до 15 лет, ОТ (основные исследуемые группы) или его отсутствие (контрольная группа), отсутствие сопутствующих инфекционных и неинфекционных заболеваний, влияющих на «чистоту» иммунологического исследования.

Критериями исключения являлись: возраст младше 4 лет и старше 15 лет; наличие хронических соматических или острых инфекционных заболеваний; отягощенный иммуноаллергический фон (диатезы, аномалии конституции, поллинозы и т. д.); наличие психосоматических и неврологических нарушений.

Разделение пациентов на группы. Нами были обследовано 212 детей и подростков с ОТ в возрасте от 4 до 15 лет (средний возраст $9 \pm 2,4$ лет, $p \leq 0,01$), а также 110 практически здоровых детей и подростков аналогичного возраста, составившие контрольную группу.

С целью достижения достоверности исследования, а также учитывая схему проводимого лечения, пациенты были разделены на две сопоставимые группы:

В первую группу вошли пациенты с ОТ, получавшие стандартное общепринятое лечение в зависимости от клинической формы патологии, без применения бактериофаг-терапии — $n = 107$ (50,5% из 212) (стандартное лечение см. далее).

Во вторую группу вошли пациенты, у которых стандартная общепринятая схема лечения была дополнена курсом бактериофаг-терапии (PCL) — $n = 105$ (49,95% из 212).

Учитывая влияние возрастных особенностей на результат иммунологических исследований, каждая группа, с свою очередь, была подразделена на две возрастные подгруппы:

- дети младшего возраста: от 4 до 8 лет (8 лет 11 месяцев, 29 дней от рождения);
- дети и подростки от 9 до 15 лет.

Данное возрастное деление проводилось с учетом рекомендаций ВОЗ «A Healthy Start in Life: Report of the Global Consultation on Child and Adolescent Health and Development, 2013» (WHO/CAH/02.15) и «Communicable diseases among children» (<https://www.who.int/teams/maternal-newborn-child-adolescent-health-and-ageing/child-health/communicable-diseases-among-children>), в которых говорится, что дети до 9 лет наиболее подвержены инфекционным заболеваниям и требуют особого внимания, что подтверждается документом ВОЗ «Investing in our future: a comprehensive agenda for the health and well-being of children and adolescents» (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/350239>).

Методы исследования. Общие клинические исследования проводились в амбулаторно-поликлинических условиях. Учитывая характер патологии изначально дети были обследованы нами совместно с инфекционистом, а затем — узкими специалистами (детский отоларинголог, эндокринолог, невропатолог). Всем пациентам выполняли: общий анализ крови с развернутой лейкоцитарной формулой и расчетом коэффициента соотношения нейтрофилов к лимфоцитам — NLR (Neutrophil to lymphocyte ratio). Иммунологическое исследование основывалось на изучении мукозального иммунитета (саливадиагностика) с количественным определением секреторного иммуноглобулина А (sIgA, мкг/мл) и провоспалительного цитокина TNF α . Слюна у детей собиралась в стерильную пробирку в первой половине дня, не ранее чем через 2 ч после последнего приема пищи и через 30 мин после полоскания ротовой полости охлажденной кипяченной водой. Выбор данного метода основывался на возрастных особенностях пациентов, неинвазивности процедуры, а также доступности исследования в амбулаторно-поликлинических условиях.

Количественное определение sIgA проводили с помощью иммуноферментного ана-

лиза (ИФА) в образцах смешанной слюны. Использовали диагностический набор реагентов «sIgA ELISA Kit» (ELISA, Immundiagnostik AG, Германия) и диагностический набор реагентов для иммуноферментного определения sIgA в биологических жидкостях «Секреторный IgA-ИФА» (Хема Со. Ltd., Россия). Определение TNF α в слюне основывалось на методе твердофазного «сэндвич»-варианта ИФА и выполнялось с использованием наборов производства ЗАО «Вектор Бест» (Россия) с применением моно- и поликлональных антител к TNF α . При этом саливадиагностику проводили непосредственно в день обращения в поликлинику, на 3 и 6 сутки терапии. Бактериологическое исследование проводили в день обращения и на 10 сутки от начала лечения, с учетом антибиотикотерапии.

Методы лечения. Комплексное амбулаторное лечение основывалось на стандартных клинических рекомендациях и носило симптоматический характер. При выборе комплексного консервативного лечения детей с ОТ опирались на Клинические рекомендации Союза педиатров России (от 04.08.2020) «Острый тонзиллит и фарингит у детей» (<https://www.pediatr-russia.ru/information/klin-rek/proekty-klinicheskikh-rekomendatsiy/index.php>).

Схема лечения включала в себе немедикаментозные и медикаментозные методы терапии. Немедикаментозная терапия включала постельный режим с изоляцией пациента, щадящую молочно-растительную и витаминизированную диету, а также обильное питье. Медикаментозная терапия состояла из местной терапии в комплексе с жаропонижающей, антигистаминной, антимикотической и витаминотерапии. Особое внимание уделялось антибактериальной терапии препаратами широкого спектра действия. По результатам бактериального посева из зева при необходимости мог быть осуществлен переход на более эффективный препарат. При этом, на основании клинических рекомендаций, антибиотиком первого ряда являлся Амоксициллин в дозе 50 мг/кг/сут в 2 приема.

Рекомендуемую нами бактериофаг-терапию проводили с использованием жидкого комплексного пиобактериофага (Pyobacteriophage complex liquid — PCL, производства НПО «Микроген», Россия). PCL назначали путем орошения поверхности небных миндалин с помощью небулайзерной ингаляции. Небулайзерная ингаляция длительностью до 10 мин проводилась с первых дней заболевания в домашних условиях, в первой половине дня, однократно, в течение 5 дней, введением 5 мл PCL.

Выбор препарата PCL основывался на широком диапазоне воздействия бактериофа-

га. В частности, препарат способен вызывать специфический лизис бактерий *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, энтеропатогенных *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*. Данный препарат рекомендуют использовать при воспалительных заболеваниях ЛОР-органов, верхних и нижних дыхательных путей, плевритах и других воспалительных заболеваниях. Особенностью препарата является то, что пиобактериофаг не влияет на другие виды бактерий и, как следствие, не нарушает естественную микрофлору ротоглотки.

Статистическая обработка полученных результатов клиничко-лабораторного исследования проводилась с использованием разработанной нами статистической программы на основе Excel 2013 (Microsoft Office 2013).

Сравнения между группами проводили с использованием средней группы населения в течение периода исследования. Во всех анализах $p \leq 0,05$ считается значимым.

Этические аспекты исследования. Для проведение клинических и лабораторных исследований детей в амбулаторных условиях получено разрешение Этического Комитета при Министерстве Здравоохранения РУз (протокол № 1/10-1484 от 27.02.2021). Исследование зарегистрировано на сайте <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04682964?cntry=UZ&draw=2&rank=3> (ID:NCT 04682964). Перед клиническими исследованиями было получено письменное разрешение на обследование больных детей и подростков от их родителей (опекунов), которое было прикреплено к амбулаторной карте развития ребенка.

Результаты

Исходя из поставленной перед нами задачи, было проведено иммунологическое обследование детей и подростков с ОТ до и после комбинированного лечения. Учитывая возрастные особенности пациентов и рекомендацию Американской академии отоларингологии — хирургии головы и шеи (American Academy of Otolaryngology — Head and Neck Surgery (AAO-HNS)) от 2019 г. (<https://www.entnet.org/quality-practice/quality-products/clinical-practice-guidelines/tonsillectomy-in-children-update>), нами проведена неинвазивная диагностика иммунологического статуса у детей с ОТ, предполагающая исследование мукозального иммунитета (секреторного иммуноглобулина А — sIgA и провоспалительного цитокина — фактора некроза опухоли альфа — TNF α) в слюне.

Саливадиагностика является одним из современных неинвазивных методов обследования детей, позволяющих диагностировать и прово-

дить мониторинг лечения острых и хронических заболеваний у данной категории населения.

При этом sIgA является полимером (в основном димером), ковалентно связанным с эпителиальным гликопротеином — «секреторным компонентом», и является диагностически значимым показателем эффективности проводимой терапии. В частности, по данным наших исследований, уровень sIgA меняется в зависимости от тактики лечения, возраста и пола пациентов (табл. 1).

Было определено, что в контрольной группе — у детей старшей возрастной подгруппы по отношению детям младшей возрастной подгруппы уровень sIgA составил $128,08 \pm 10,074$ против $99,49 \pm 4,447$ мкг/мл (или в 1,3 раза больше, $p \leq 0,05$), также у девочек в среднем на 2% содержание sIgA ($p \geq 0,05$) превышает аналогичный показатель у мальчиков.

По результатам наших исследований, у пациентов с ОТ в первые сутки заболевания (в остром периоде) в среднем наблюдается снижение sIgA до 40,9% у детей младшего возраста и до 41,9% у детей старшего возраста по отношению к контрольной группе детей ($p \leq 0,05$).

На фоне комбинированного лечения с использованием бактериофаг-терапии отмечается повышение содержания sIgA на 6 сутки лечения, в частности, у пациентов младшего возраста до 97,2%, у пациентов старшего возраста до 97,7% ($p \leq 0,05$ по отношению к контрольной группе). При этом у пациентов, получавших только стандартное лечение, данные показатели составили 75,8 и 81,6% соответственно ($p \leq 0,05$ по отношению к контрольной группе). Разница составила: между пациентами младшей возрастной подгруппы — 21,4%, старшей возрастной подгруппы — 16,1% ($p \leq 0,05$ по отношению к контрольной группе), что указывает на более высокоэффективное действие препарата у пациентов младшей возрастной группы.

Аналогичные изменения отмечали при анализе результатов исследования провоспалительного цитокина TNF α (тумор-некротический фактор), который, являясь внеклеточным белком и многофункциональным провоспалительным цитокином, синтезируется моноцитами и макрофагами и играет ключевую роль в регуляции иммунного ответа.

Главными стимуляторами секреции TNF α являются вирусы, микроорганизмы и продукты их метаболизма (например, липополисахариды грамотрицательных бактерий).

Кроме того, роль стимуляторов TNF α могут выполнять и другие цитокины, вырабатываемые иммунными клетками: интерлейкины, интерфероны. У пациентов с ОТ до начала медикаментозного лечения отмечается высо-

кий уровень TNFα, указывающий на мобилизацию клеточного иммунитета (моноцитов и макрофагов).

Изучение TNFα в слюне у пациентов с ОТ дает возможность оценить функционирование и ответную реакцию иммунной системы у данных пациентов, и одновременно с этим прогнозировать эффективность проводимой терапии.

Как показали наши исследования, в процессе лечения отмечалось поэтапное снижение уровня TNFα. В частности на 3 сутки лечения у детей из первой возрастной группы на фоне ингаляционной бактериофаг-терапии отмечали снижение TNFα до 9,48±0,847 пг/мл, что в среднем на 11,7% ниже по сравнению с аналогичным показателем у пациентов второй обследуемой группы (10,71±1,041 пг/мл, p ≤ 0,05). При этом на 6 сутки лечения данный показатель составил 16,9% (8,18±0,690 пг/мл против 9,85±0,957 пг/мл соответственно, p ≥ 0,05). Следовательно, к 6 суткам медикаментозного лечения, эффективность влияния бактериофаг-терапии на мобилизацию клеточного иммунитета более ощутима. На этом фоне среди пациентов из второй возрастной подгруппы на 3 сутки лечения различие между двумя обследуемыми группами составило — 5,7%, на 6 сутки — 4,1% (p ≥ 0,05). Полученные данные указывают на поэтапное снижение TNFα у детей старшей возрастной подгруппы на фоне сохранения высокого уровня TNFα по отношению к контрольной группе (табл. 2).

Как показали исследования, уровень TNFα повышается по отношению к контрольной группе в среднем до 75% (от 73,0 до 75,15%; p ≤ 0,05 по отношению к контрольной группе). Уровень TNFα у детей младшей возрастной подгруппы из группы контроля составил 7,06±0,333 пг/мл, у детей старшей возрастной подгруппы — 8,21±0,796 пг/мл, при этом достоверных различий в содержании данного цитокина между мальчиками и девочками не отмечено.

Различия в количестве TNFα между двумя возрастными подгруппами детей составляет 14%, и варьируется в среднем от 6,94±0,349 до 8,29 4±0,840 пг/мл.

В то же время, у пациентов первой исследуемой группы данный показатель на 6 сутки исследования варировал в среднем от 7,94±0,543 до 10,33±0,746 пг/мл (в зависимости от возраста), у детей второй исследуемой группы — от 9,71±0,951 до 10,38±0,628 пг/мл (p ≤ 0,05 по отношению к контрольной группе).

Результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что применение бактериофаг-терапии в комплексном лечении у детей с ОТ способствует более быстрому достижению эффективности медикаментозной терапии (в среднем в 1,4 раза). Это подтверждается результатами иммунологического исследования.

Таблица 1. Уровень SigA у детей с острым тонзиллитом до и в процессе лечения (мкг/мл)
Table 1. SigA level in children with acute tonsillitis before and during treatment (μg/ml)

	Контрольная группа (n=110) Control group (n=110)			I обследуемая группа (n=107) Group I (n=107)						II обследуемая группа (n=105) Group II (n=105)						
	4–8 лет 4–8 years	9–15 лет 9–15 years		4–8 лет 4–8 years		9–15 лет 9–15 years		4–8 лет 4–8 years		9–15 лет 9–15 years		4–8 лет 4–8 years		9–15 лет 9–15 years		
		до лечения before treatment	3 сутки 3 days	6 сутки 6 days	до лечения before treatment	3 сутки 3 days	6 сутки 6 days	до лечения before treatment	3 сутки 3 days	6 сутки 6 days	до лечения before treatment	3 сутки 3 days	6 сутки 6 days	до лечения before treatment	3 сутки 3 days	6 сутки 6 days
Мальчики Boys	99,16± 3,737	127,33± 11,043 ^{4*}	57,94± 5,756*	72,15± 4,920	96,91± 7,437*	124,99± 6,260*	73,90± 6,236*	94,08± 4,980*	58,53± 5,754 ^{3*}	64,39± 6,329 ^{3*}	74,04± 7,278 ^{**}	73,71± 4,958 ^{**3*}	65,71± 5,947 ^{**3*}	77,24± 5,467 ^{**}	81,08± 5,454 ^{**3*}	103,74± 3,657 ^{**}
Девочки Girls	99,81± 5,164	128,87± 10,074 ^{4*}	59,26± 4,765*	71,11± 5,718*	96,51± 4,413*	125,15± 4,199*	75,84± 4,684*	95,96± 3,240*	59,73± 5,406 ^{**3*}	65,71± 5,947 ^{**3*}	74,77± 5,467 ^{**}	74,77± 4,760 ^{**3*}	59,06± 5,735 ^{**3*}	74,15± 4,863 ^{**3*}	84,05± 3,456 ^{**3*}	105,49± 3,951 ^{**}
Всего Total	99,49± 4,447	128,08± 10,541 ^{4*}	58,54± 5,425*	71,68± 5,115*	96,73± 6,045*	125,05± 5,477*	74,63± 5,770*	94,79± 4,255*	59,06± 5,735 ^{**3*}	64,97± 6,306 ^{**3*}	75,45± 6,721 ^{**}	74,15± 4,863 ^{**3*}	64,97± 6,306 ^{**3*}	75,45± 6,721 ^{**}	82,31± 4,663 ^{**3*}	104,46± 3,855 ^{**}

Примечание. * — p ≤ 0,05 показатель достоверности 1 и 2 обследуемых групп к контрольной группе; ** — p ≥ 0,05 показатель достоверности результатов 2-й обследуемой группы к 1-й обследуемой группе; *** — p ≤ 0,05 показатель достоверности результатов 2-й контрольной группы к 1-й контрольной группе.
Note. * — p ≤ 0,05 reliability indicator of the Group I and Group II to the control group; ** — p ≥ 0,05 reliability indicator of the Group II to the Group I; *** — p ≤ 0,05 reliability indicator of the Control Group II to the Control Group I.

Таблица 2. Уровень TNF α у детей с острым тонзиллитом до и в процессе лечения (пг/мл)
 Table 2. TNF α level in children with acute tonsillitis before and during treatment (pg/ml)

	I обследуемая группа (n=107) Group I (n=107)				II обследуемая группа (n=105) Group II (n=105)					
	4–8 лет 4–8 years		9–15 лет 9–15 years		4–8 лет 4–8 years		9–15 лет 9–15 years			
	до лечения before treatment	3 сутки 3 days	6 сутки 6 days	до лечения before treatment	3 сутки 3 days	6 сутки 6 days	до лечения before treatment	3 сутки 3 days	6 сутки 6 days	
Контрольная группа (n=110) Control group (n=110)										
4–8 лет 4–8 years	7,18± 0,270	8,29± 0,8404*	9,69± 0,865*	12,44± 1,259*	11,57± 0,836*	10,33± 0,746*	12,63± 1,236* ^{3*}	10,52± 1,030* ^{3*}	9,71± 0,951* ^{**}	10,38± 0,628* ^{**}
Мальчики Boys	8,29± 0,8404*	9,69± 0,865*	12,44± 1,259*	11,57± 0,836*	10,33± 0,746*	12,63± 1,236* ^{3*}	10,52± 1,030* ^{3*}	9,71± 0,951* ^{**}	10,38± 0,628* ^{**}	
Девочки Girls	7,18± 0,270	8,29± 0,8404*	9,69± 0,865*	12,44± 1,259*	11,57± 0,836*	10,33± 0,746*	12,63± 1,236* ^{3*}	10,52± 1,030* ^{3*}	9,71± 0,951* ^{**}	10,38± 0,628* ^{**}
Всего Total	7,18± 0,270	8,29± 0,8404*	9,69± 0,865*	12,44± 1,259*	11,57± 0,836*	10,33± 0,746*	12,63± 1,236* ^{3*}	10,52± 1,030* ^{3*}	9,71± 0,951* ^{**}	10,38± 0,628* ^{**}

Примечание. * — $p \leq 0,05$ показатель достоверности 1 и 2 обследуемых групп к контрольной группе; ** — $p \geq 0,05$ показатель достоверности результатов 2-й обследуемой группы к 1-й обследуемой группе; *** — $p \leq 0,05$ показатель достоверности результатов 2-й обследуемой группы к 1-й контрольной группе; **** — $p \leq 0,05$ показатель достоверности результатов 2-й контрольной группы к 1-й контрольной группе.
 Note. * — $p \leq 0,05$ reliability indicator of the Group I and Group II to the control group; ** — $p \geq 0,05$ reliability indicator of the Group I to the Group I; *** — $p \leq 0,05$ reliability indicator of the Group II to the Group II; **** — $p \leq 0,05$ reliability indicator of the Control Group II to the Control Group I.

Обсуждение

В последние годы наблюдается рост интереса к применению бактериофагов не только в педиатрической практике, но и в других областях медицины [1, 7]. Имеется множество научных данных о высокой эффективности бактериофаг-терапии на фоне проведения лечебно-оздоровительных мероприятий при заболеваниях верхних и нижних отделов дыхательных путей у детей [5]. В частности, Гаделия М.В. (2021) отмечает, что действие фагов основано на их способности проникать внутрь клетки патогенных бактерий, вступать во взаимодействие с их геномом, оказывать литический эффект на ядро бактериальной клетки [3].

Следует отметить, что в процессе воспаления при ОТ на фоне застоя секрета и гиперплазии ткани в слизистой происходят многофакторные морфо-функциональные изменения. То есть, как показали наши исследования, у больных ОТ первоначально вирусы вызывают иммунную и воспалительную реакцию в верхних отделах дыхательных путей, а бактериальная суперинфекция приводит к развитию или к усугублению ОТ.

Аналогичного мнения придерживаются Никифорова Г.Н. и Пшонкина Д.М. (2015), указывая что преимуществом лечебных бактериофагов является их высокая специфичность к определенным микроорганизмам, хорошая совместимость с другими лекарственными средствами, минимальный риск развития нежелательных явлений и отсутствие аллергических реакций [5].

Применение аэрозольных ингаляторов (спреи) для орошения слизистой оболочки глотки высокоэффективно, обеспечивает длительное воздействие непосредственно на пораженную слизистую оболочку. Единственным ограничением к применению аэрозолей является возраст до 3 лет [6]. Использование нами ингаляционной (небулайзерной) бактериофаг-терапии способствовало более глубокому проникновению препарата в слизистую оболочку дыхательных путей [14].

На основании полученных данных можно заключить, что использование ингаляционной бактериофаг-терапии способствует снижению диссимилиации условно-патогенной и патогенной бактериальной флоры при ОТ у детей.

Исследование Sweere J.M. и соавт. (2019) показало, что фаги способны ингибировать опосредованный дендритными клетками процессинг и презентацию антигена, что, как было показано на моделях мышей, увеличивает выживаемость кожных трансплантатов [13]. Это же исследование продемонстрировало способность фагов подавлять продукцию других воспалительных цитокинов, таких как IL-2, TNF α и IFN γ . С другой стороны, исследования Tetz и соавт. (2016) [15] по-

казали, что пероральное введение коктейля фагов может увеличить проницаемость слизистых за счет фармакокинетического взаимодействия со слизистой, и результаты медикаментозного лечения были положительными за счет выраженного антибактериального эффекта бактериофагов.

Основным классом антител в слюне является sIgA, который вырабатывается в плазматических клетках слюнных желез [10] и является частью первой линии защиты от патогенов, попадающих в ротоглотку, а также предотвращает прилипание патогена к тканям хозяина и связывает бактерии с муцинами, что увеличивает бактериальный клиренс за счет экскреции слюны [10]. Существует ряд исследований диагностической значимости sIgA [2, 15], в частности использование данного иммуноглобулина как маркера воспалительных заболеваний полости рта. Tziga D. и соавт. (2018) была изучена нейроэндокринная регуляция синтеза и секреции sIgA, а также их влияние на состояние здоровья полости рта. Более того, было продемонстрировано, что психологический и физический стресс на фоне заболевания может отразиться на концентрации sIgA [16], что мы и наблюдаем у детей с ОТ. Нами было отмечено, что у практически здоровых детей из старшей возрастной подгруппы уровень sIgA в 1,3 раза превосходил аналогичный показатель у детей младшей возрастной подгруппы ($p \leq 0,05$). При этом у пациентов с ОТ наблюдается снижение sIgA в остром периоде заболевания на 40,9–42% ($p \leq 0,05$). На фоне комбинированного лечения с использованием бактериофаг-терапии отмечается постепенное повышение sIgA, достигающее к концу лечения 97,2% по отношению к контрольной группе наблюдаемых ($p \leq 0,05$). При этом у пациентов, получавших только стандартное лечение, данные показатели составили в среднем 75,8% ($p \leq 0,05$).

Имеется также научные данные указывающие, что sIgA играет важную роль в защите верхних дыхательных путей от инфекции, обеспечивая эффективную микробную агглютинацию и нейтрализацию вируса [9, 17]. В многочисленных исследованиях были предприняты попытки сопоставить уровни sIgA в слюне при различных

системных заболеваниях полости рта, таких как носительство, заболевания пародонта, а также при таких состояниях как аденоидная гиперплазия, секреторный средний отит и т. д. [11].

Следует отметить, что, будучи важным резервуаром В-клеток человека, миндалина служит платформой для изучения секреторного иммунитета у пациентов в воспалительными заболеваниями верхних дыхательных путей [12]. Кроме того, данные авторы указывают, что TNF α является необходимым аутокринным фактором роста В-клеток. В частности, гипертрофированные миндалины при стимуляции продуцируют значительное количество TNF α — до 52,4% по отношению к неповрежденной ткани.

При этом, как показали наши исследования, в процессе терапии наблюдается поэтапное снижение исходно высокого уровня TNF α . В частности, на 3 сутки лечения у детей из первой возрастной подгруппы на фоне ингаляционной бактериофаг-терапии отмечали снижение TNF α до 11,7% по отношению к пациентам из аналогичной возрастной подгруппы из второй обследуемой группы ($9,48 \pm 0,847$ против $10,71 \pm 1,041$ пг/мл, $p \leq 0,05$), и на 6 сутки лечения до 16,9% ($8,18 \pm 0,690$ против $9,85 \pm 0,957$ пг/мл, $p \geq 0,05$), что указывает на эффективность бактериофаг-терапии за счет усиление клеточного иммунитета. Аналогичные изменения отмечали и у пациентов из второй возрастной подгруппы (5,7 и 4,1% соответственно, $p \geq 0,05$).

Следовательно, изучение мукозального иммунитета у детей с заболеваниями верхних дыхательных путей является не только неинвазивным методом исследования в педиатрической практике, но и способствует оценке эффективности проводимых лечебных мероприятий.

Выводы

Использовании ингаляционной бактериофаг-терапии в комплексном лечении детей с ОТ способствует укорочению периода общих и местных клинических проявлений заболевания в 1,4 раза и сопровождается улучшением показателей местного иммунитета от 5,7% до 16,1% ($p \leq 0,05$).

Список литературы/References

1. Алексанина Н.В., Моисеева О.В. Экспериментальное изучение эффективности совместного лечебного действия лактоглобулина и бактериофага сальмонеллезного // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 3. С. 297–302. [Aleksanina N.V., Moiseyeva O.V. Experimental study of the effectiveness of the joint therapeutic action of lactoglobulin and Salmonella bacteriophage. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2017, vol. 7, no. 3, pp. 297–302. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2017-3-297-302
2. Арзуманян В.Г., Колыганова Т.И., Свитич О.А., Самойликов П.В., Конаныхина С.Ю., Зайцева Т.А., Зверев В.В. Вклад лактоферрина, сывороточного альбумина и секреторного иммуноглобулина класса А в антимикробную активность сыворотки грудного молока // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 3. С. 519–526. [Arzumanian V.G., Kolyganova T.I., Svitich O.A., Samoilkov P.V., Konanykhina S.Yu., Zaytseva T.A., Zverev V.V. An impact of lactoferrin, serum albumin and secretory immunoglobulin A in antimicrobial activity of breast milk whey. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 3, pp. 519–526. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-GPO-1759

3. Гаделия М.В. Применение бактериофагов при хроническом тонзиллите // Международный научно-исследовательский журнал. 2021. Т. 111, № 9. С. 12–17. [Gadeliya M.V. The use of bacteriophages in chronic tonsillitis. *Mezhdunarodnyi nauchno-issledovatel'skii zhurnal = International Research Journal*, 2021, vol. 111, no. 9, pp. 12–17. (In Russ.)] doi: 10.23670/IRJ.2021.9.111.036
4. Захарова И.Н., Геппе Н.А., Сугян Н.Г., Денисова А.Р., Бережная И.В. Топические этиотропные препараты в терапии инфекционно-воспалительных заболеваний глотки у детей дошкольного возраста. Результаты многоцентрового рандомизированного клинического исследования. // Российская оториноларингология. 2021. Т. 20, № 1. С. 102–117. [Zakharova I.N., Geppe N.A., Sugyan N.G., Denisova A.R., Berezhnaya I.V. Topical etiotropic drugs in therapy of infectious inflammatory diseases of pharynx in preschool children. Results of multicenter randomized comparative clinical trial. *Rossiiskaya otorinolaringologiya = Russian Otorhinolaryngology*, 2021, vol. 20, no. 1, pp. 102–117. (In Russ.)] doi: 10.18692/1810-4800-2021-1-102-117
5. Никифорова Г.Н., Пшонкина Д.М. Возможности использования бактериофагов в лечении инфекционных заболеваний ЛОР-органов у детей // Медицинский Совет. 2015. № 6. С. 34–37. [Nikiforova G.N., Pshonkina D.M. The potential of bacteriophages in the treatment of ENT infections in children. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*, 2015, no. 6, pp. 34–37. (In Russ.)] doi: 10.21518/2079-701X-2015-6-34-37
6. Свистушкин В.М., Мокоян Ж.Т., Карпова О.Ю. Возможности эффективной топической монотерапии пациентов с острым тонзиллофарингитом // Consilium Medicum. 2018. № 11. С. 8–12. [Svistushkin V.M., Mokoian Zh.T., Karpova O.Yu. Potential of effective topic monotherapy in patients with acute tonsillopharyngitis. *Consilium Medicum*, 2018, vol. 20, no. 11, pp. 8–12. (In Russ.)] doi: 10.26442/20751753.2018.11.180067
7. Семанин А.Г., Садртдинова Г.Р. Выбор оптимального метода выделения бактериофагов бактерий рода *Flavobacterium* // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 2. С. 399–403. [Semanin A.G., Sadrtidinova G.R. Choosing a proper approach for isolating bacteriophages specific to *Flavobacterium* genus bacteria. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2019, vol. 9, no. 2, pp. 399–403. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2019-2-399-403
8. Турдиева Ш.Т., Насирова Г.Р., Ганиева Д.К. Возможности ингаляционной бактериофаготерапии при лечении детей с острым тонзиллитом // Медицинский Совет. 2021. № 17. С. 86–93. [Turdieva S.T., Nasirova G.R., Ganiyeva D.K. Possibilities of inhalation bacteriophage therapy in treatment of children with acute tonsillitis. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*, 2021, no. 17, pp. 86–93. (In Russ.)] doi: 10.21518/2079-701X-2021-17-86-93
9. Brandtzaeg P. Secretory IgA: designed for anti-microbial defense. *Front. Immunol.*, 2013, vol. 6, no. 4: 222. doi: 0.3389/fimmu.2013.00222
10. Lönnqvist E., Gröndahl-Yli-Hannuksela K., Loimaranta V., Vuopio J. Low rate of asymptomatic carriage and salivary immunoglobulin A response to group A Streptococci in the healthy adult population in Finland. *Med. Microbiol. Immunol.*, 2022, vol. 211, no. 5–6, pp. 261–267. doi: 10.1007/s00430-022-00750-9
11. Menon K., McNally J.D., Choong K., Lawson M.L., Ramsay T., Hutchison J.S., Foster J., Wong H.R.; Canadian Critical Care Trials Group STRIPES Investigators. A cohort study of pediatric shock: frequency of corticosteroid use and association with clinical Outcomes. *Shock*, 2015, vol. 44, no. 5, pp. 402–409. doi: 10.1097/SHK.0000000000000355
12. Sarmiento Varón L., De Rosa J., Rodriguez R., Fernández P.M., Billordo L.A., Baz P., Beccaglia G., Spada N., Mendoza F.T., Barberis C.M., Vay C., Arabolaza M.E., Paoli B., Arana E.I. Role of tonsillar chronic inflammation and commensal bacteria in the pathogenesis of pediatric OSA. *Front. Immunol.*, 2021, vol. 12: 648064. doi: 10.3389/fimmu.2021.648064
13. Sweere J.M., Van Belleghem J.D., Ishak H., Bach M.S., Popescu M., Sunkari V., Kaber G., Manasherob R., Suh G.A., Cao X., de Vries C.R., Lam D.N., Marshall P.L., Birukova M., Katznelson E., Lazzareschi D.V., Balaji S., Keswani S.G., Hawn T.R., Secor P.R., Bollyky P.L. Bacteriophage trigger antiviral immunity and prevent clearance of bacterial infection. *Science*, 2019, vol. 6434, no. 363: eaat9691. doi: 10.1126/science.aat9691
14. Turdieva S.T., Nasirova G.R. Oral microbiota in children with acute tonsillitis. *Biomed. Biotechnol. Res. J.*, 2021, no. 5, pp. 272–275. doi: 10.4103/bbrj.bbrj_84_21
15. Tetz G., Tetz V. Bacteriophage infections of microbiota can lead to leaky gut in an experimental rodent model. *Gut. Pathog.*, 2016, no. 8: 33. doi: 10.1186/s13099-016-0109-1
16. Tzira D., Prezerakou A., Papadatos I., Vintila A., Bartzeliotou A., Apostolakou F., Papassotiriou I., Papaevangelou V. Salivary biomarkers may measure stress responses in critically ill children. *SAGE Open Med.*, 2018, vol. 6: 2050312118802452. doi: 10.1177/2050312118802452
17. Yoon S.S., Moon E.Y. B cell adhesion to fibroblast-like synoviocytes is up-regulated by tumor necrosis factor-alpha via expression of human vascular cell adhesion molecule-1 mediated by B cell-activating factor. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22, no. 13: 7166. doi: 10.3390/ijms22137166

Авторы:

Турдиева Ш.Т., д.м.н., доцент кафедры семейной медицины № 1 Ташкентского педиатрического медицинского института, Ташкент, Узбекистан;

Ганиева Д.К., к.м.н., доцент кафедры семейной медицины № 1 Ташкентского педиатрического медицинского института, Ташкент, Узбекистан;

Насирова Г.Р., ассистент кафедры семейной медицины № 1 Ташкентского педиатрического медицинского института, Ташкент, Узбекистан.

Authors:

Turdieva S.T., DSc (Medicine), Associate Professor, Department of Family Medicine No. 1, Tashkent Pediatric Medical Institute, Tashkent, Uzbekistan;

Ganiyeva D.K., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Family Medicine No. 1, Tashkent Pediatric Medical Institute, Tashkent, Uzbekistan;

Nasirova G.R., Assistant Professor, Department of Family Medicine No. 1, Tashkent Pediatric Medical Institute, Tashkent, Uzbekistan.

АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ ГРИБКОВЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ: АНАЛИЗ ДАННЫХ РЕГИСТРА ПАЦИЕНТОВ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Я.И. Козлова, Н.Ю. Васильев, Е.В. Фролова, А.Е. Учеваткина, Л.В. Филиппова,
О.В. Аак, А.В. Соболев, Н.В. Васильева

ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Введение. Аллергия на микроскопические грибы (микроспиды), которые способны колонизировать дыхательные пути, ассоциирована с эозинофильным эндотипом воспаления и тяжелым течением заболевания. Среди отличительных признаков микогенной аллергии эксперты выделяют фиксированную обструкцию дыхательных путей, бронхоэктазы и фиброз. В настоящее время предложен термин «аллергическое грибковое заболевание дыхательных путей» (АГЗДП), объединяющий различные клинические фенотипы, в основе патогенеза которых лежит IgE-опосредованная аллергическая реакция на колонизирующие дыхательные пути грибковые споры. Согласно данному подходу в группу АГЗДП входят тяжелая бронхиальная астма (БА) с микогенной сенсibilizацией и аллергический бронхолегочный аспергиллез (АБЛА). Перспективным направлением в лечении АГЗДП является применение генно-инженерных биологических препаратов, направленных против T-2 воспаления. Целью данного исследования была оценка распространенности сенсibilizации к *Aspergillus* spp. и АБЛА у пациентов с БА. **Материалы и методы.** Ретроспективное одноцентровое регистровое исследование проводилось на базе ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России. В исследование включили 523 пациента с БА различной степени тяжести. Методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови определяли уровни общего и специфических IgE к аэроаллергенам, включая *Aspergillus* spp. Диагноз бронхиальной астмы устанавливали в соответствии с рекомендациями рабочей группы GINA и Клиническими рекомендациями Минздрава РФ, микогенную сенсibilizацию и АБЛА — в соответствии с рекомендациями рабочей группы ISHAM. **Результаты.** В ходе обследования пациентов с БА сенсibilizацию к *Aspergillus* spp. зарегистрировали у 16,6%, тяжелую БА с сенсibilizацией к *Aspergillus* spp. — у 7,4%, АБЛА — у 6,1%. У пациентов с аллергической БА распространенность сенсibilizации к *Aspergillus* spp. составила 22%, тяжелой БА с сенсibilizацией к *Aspergillus* spp. — 10,1%, АБЛА — 8,1%. Среди больных АБЛА преобладали женщины (64%) от 40 лет и старше. Основными клиническими проявлениями АБЛА были кашель (96%) и одышка (76%), рентгенологическими изменениями на КТ — бронхоэктазы (72%). **Заключение.** Выявлена высокая распространенность сенсibilizации к *Aspergillus* spp. у пациентов с БА. Необходимо включение *Aspergillus* spp. в список тестируемых аллергенов при обследовании пациентов с хроническими заболеваниями легких для своевременного выявления АГЗДП и назначения адекватной противовоспалительной или антимикотической терапии.

Ключевые слова: аллергическое грибковое заболевание дыхательных путей, аллергический бронхолегочный аспергиллез, бронхиальная астма, микогенная сенсibilizация, *Aspergillus* spp., *Alternaria* spp.

Адрес для переписки:

Козлова Яна Игоревна
194291, Россия, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28,
НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина.
Тел.: 8 921 753-04-79.
E-mail: kozlova510@mail.ru

Contacts:

Yana I. Kozlova
194291, Russian Federation, St. Petersburg, Santiago-de-Cuba str., 1/28,
P.N. Kashkin Research Institute of Medical Mycology.
Phone: +7 921 753-04-79.
E-mail: kozlova510@mail.ru

Для цитирования:

Козлова Я.И., Васильев Н.Ю., Фролова Е.В., Учеваткина А.Е.,
Филиппова Л.В., Аак О.В., Соболев А.В., Васильева Н.В. Аллергические
грибковые заболевания дыхательных путей: анализ данных регистра
пациентов с бронхиальной астмой // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13,
№ 5. С. 947–956. doi: 10.15789/2220-7619-AFA-13305

Citation:

Kozlova Yu.I., Vasiliev N.Yu., Frolova E.V., Uchevatkina A.E., Filippova L.V.,
Aak O.V., Sobolev A.V., Vasilyeva N.V. Allergic fungal airway diseases:
analysis of data in asthma patient register // Russian Journal of Infection
and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 947–956.
doi: 10.15789/2220-7619-AFA-13305

© Козлова Я.И. и соавт., 2023

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-AFA-13305>

ALLERGIC FUNGAL AIRWAY DISEASES: ANALYSIS OF DATA IN ASTHMA PATIENT REGISTER

Kozlova Yu.I., Vasiliev N.Yu., Frolova E.V., Uchevatkina A.E., Filippova L.V., Aak O.V., Sobolev A.V., Vasilyeva N.V.

I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Introduction. Allergy to microscopic fungi (micromycetes), which can colonize the respiratory tract, is associated with an eosinophilic endotype of inflammation and severe disease course. Among the hallmarks of fungal allergy, experts identify fixed airways obstruction, bronchiectasis, and fibrosis. Currently, there has been proposed the term “allergic fungal airways disease” (AFAD), which combines various clinical phenotypes, which pathogenesis is based on IgE-mediated allergic reaction against fungal spores colonizing the respiratory tract. According to this approach, the AFAD group includes severe asthma with fungal sensitization and allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA). A promising direction in AFAD treatment implies the use of genetically engineered biological drugs against T-2 inflammation. The aim of the study was to evaluate the prevalence of *Aspergillus* spp. sensitization and allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with asthma. **Materials and methods.** A retrospective single-center registry study was conducted in the I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, Ministry of Health of Russian Federation. The study included 523 patients with asthma of varying severity. The level of total and specific blood serum IgE against aeroallergens, including *Aspergillus* spp., was analyzed by enzyme immunoassay. The diagnosis of asthma was established in accordance with the recommendations of the GINA working group and the Clinical recommendations of the Ministry of Health of the Russian Federation, fungal sensitization and ABPA — in accordance with the recommendations of the ISHAM working group. **Results.** During the examination of patients with asthma, sensitization to *Aspergillus* spp. recorded in 16.6% cases, severe asthma with sensitization to *Aspergillus* spp. — in 7.4%, ABPA — in 6.1%. In patients with allergic asthma, the prevalence of sensitization to *Aspergillus* spp. was 22%, severe asthma with sensitization to *Aspergillus* spp. — 10.1%, ABPA — 8.1%. Among patients with ABPA, females (64%) aged 40 years and older prevailed. The major clinical manifestations of ABPA were presented as cough (96%) and shortness of breath (76%), CT scan radiological changes were in a form of bronchiectasis (72%). **Conclusion.** A high prevalence of sensitization to *Aspergillus* spp. in patients with asthma was found. It is necessary to include *Aspergillus* spp. into the list of tested allergens while examining patients with chronic lung diseases for timely detection of AFAD and prescription of proper anti-inflammatory or antimycotic therapy.

Key words: allergic fungal airways disease, allergic bronchopulmonary aspergillosis, asthma, fungal sensitization, *Aspergillus* spp., *Alternaria* spp.

Введение

Микроскопические грибы (микромикеты) представляют отдельное царство живых существ. Благодаря огромному разнообразию и исключительной способности к выживанию в разных климатических условиях грибы распространены повсеместно. По экспертной оценке истинное количество микромикетов варьирует от 2,2 до 3,8 млн видов [16]. При определенных условиях, взаимодействуя с макроорганизмом, грибы могут быть не только инфекционными агентами, но и источником токсинов и аллергенов. Признано, что микогенная аллергия развивается у пациентов с различными хроническими заболеваниями легких: бронхиальная астма (БА) [26], хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) [8, 12, 13], муковисцидоз и первичные бронхоэктазы [22, 23]. Патогенетические механизмы обусловлены преобладанием Т-2 иммунного ответа на грибковые споры, колонизирующие дыхательные пути, что приводит к выраженному эозинофильному воспалению с последующим образованием высоковязкой слизи. Реже данный эндотип может формироваться *de novo* без предварительного установленного фонового заболевания легких. Известно, что микогенная аллергия взаимосвязана с эозинофильными

пневмониями, фиксированной обструкцией дыхательных путей, бронхоэктазами и фиброзом [26]. Таким образом, все пациенты с IgE-сенсibilизацией к термотолерантным грибам, которые страдают БА или другими хроническими заболеваниями дыхательных путей, подвержены риску прогрессирующего поражения легких и поэтому должны находиться под наблюдением.

Учитывая комплексный подход к определению данной патологии, Catherine H. Pashley и Andrew J. Wardlaw предложили термин «аллергическое грибковое заболевание дыхательных путей» (АГЗДП) [28, 37]. Взаимосвязь между аллергическим бронхолегочным аспергиллезом (АБЛА), тяжелой БА с микогенной сенсibilизацией и АГЗДП представлена на рис. 1.

Вышеизложенные факты создают предпосылки для детального изучения распространенности сенсibilизации к *Aspergillus* spp., а также особенностей течения тяжелой БА с микогенной сенсibilизацией и АБЛА с целью своевременного выявления данных фенотипов АГЗДП и назначения адекватных терапевтических и профилактических мероприятий.

Цель настоящего исследования — оценить распространенность сенсibilизации к *Aspergillus* spp. и АБЛА у пациентов с БА.

Материалы и методы

Ретроспективное одноцентровое регистровое исследование проведено на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России). Были проанализированы данные анамнеза, результаты клинико-функционального и аллергологического обследования 523 пациентов с БА. Общие критерии включения пациентов в регистр: подтвержденный диагноз «бронхиальная астма», возраст 18 лет и старше.

Аллергологическое обследование включало определение уровней общего IgE (Полигност, Россия) и специфических IgE к наиболее распространенным аэроаллергенам (Алкор Био, Россия) методом иммуноферментного анализа.

Для изучения функции внешнего дыхания использовали спирометрию методом выполнения петли «объем–поток» с компьютерной обработкой результатов исследования. Учитывали следующие показатели: объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), индекс Тиффно.

При подозрении на АБЛА выполняли дополнительное микологическое исследование респираторных биосубстратов (мокрота, бронхоальвеолярный смыв), определение уровней IgG к *Aspergillus fumigatus* (ЗАО «Вектор-Бест», Россия) и проводили компьютерную томогра-

фию (КТ) органов грудной клетки в режиме высокого разрешения. КТ-сканирование выполняли на томографе Aquilion-64 (Toshiba, Япония), в режиме высокого пространственного разрешения (костный алгоритм) толщиной среза 0,9 мм, питчем 1, напряжением на трубку 120 кВ с ограничением поля зрения (FOV) и построением мультипланарных реконструкций, проекций максимальной и минимальной интенсивностей (MIP, MinIP) на рабочей станции.

Диагноз, степень тяжести и уровень контроля над течением БА устанавливали в соответствии с рекомендациями рабочей группы GINA (Global Initiative for Asthma, updated, 2022) [32] и «Клиническими рекомендациями по диагностике и лечению бронхиальной астмы Минздрава РФ» (сг.minzdrav.gov.ru). Для оценки контроля БА использовали русскоязычную версию опросника АСТ (Asthma Control Test), в которой сумма 25 баллов соответствует полному контролю, 20–24 — неполному контролю, 19 баллов и меньше — указывает на отсутствие контроля заболевания за последние 4 недели.

Микогенную сенсibilизацию и АБЛА устанавливали согласно рекомендациям рабочей группы ISHAM (International Society for Human and Animal Mycology, 2013). Критериями микогенной сенсibilизации было выявление в сыворотке крови уровня специфического IgE к *Aspergillus* spp., соответствующего классу 1 и выше ($\geq 0,35$ МЕ/мл) [4].

Полученные в процессе исследования данные обрабатывали с помощью программной системы Statistica 10 (StatSoft, США).

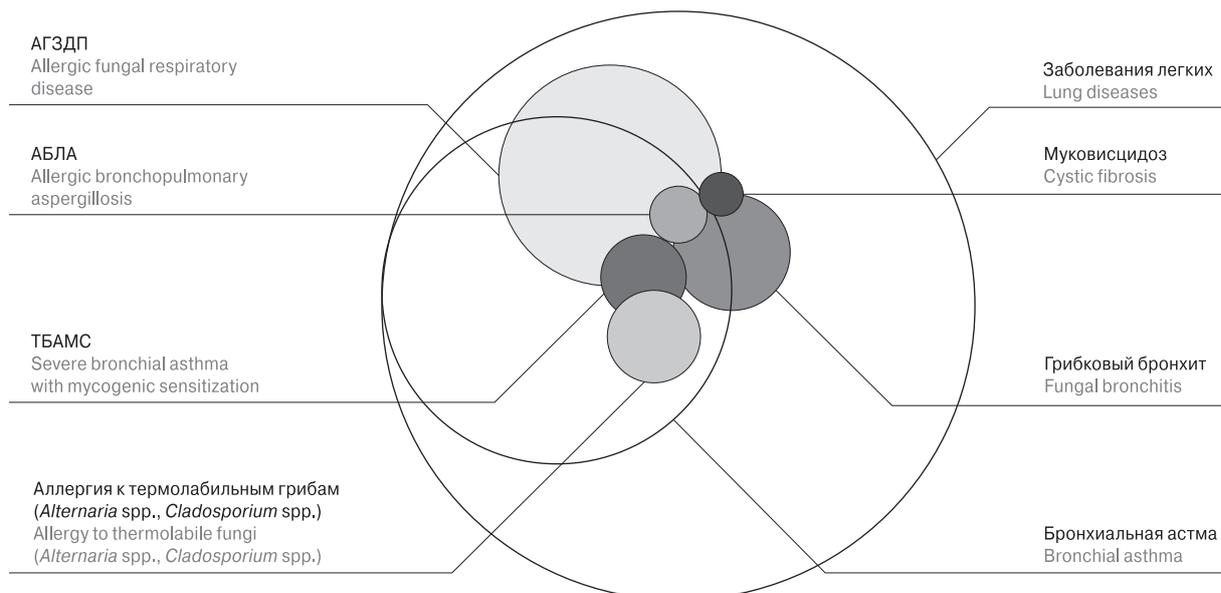


Рисунок 1. Взаимосвязь между фенотипами аллергических грибковых заболеваний дыхательных путей (адаптировано из Wardlaw A.J. и соавт., 2021)

Figure 1. Relationship between phenotypes of allergic fungal airway diseases (adapted from Wardlaw A.J. et al., 2021)

Результаты

В своей работе мы установили не только распространенность сенсибилизации к *Aspergillus* spp. у пациентов с БА в целом, но и оценили частоту тяжелой БА с сенсибилизацией к *Aspergillus* spp. и АБЛА.

В анализ включили результаты обследования 523 пациентов с БА, которые проходили стационарное или амбулаторное лечение в ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России. Установили следующие формы БА: у 394 (75,4%) пациентов — аллергическую, у 114 (21,8%) — неаллергическую, у 15 (2,6%) — смешанную. Результаты международных и отечественных исследований также указывают на значительное преобладание аллергической БА, частота которой может варьировать от 40 до 80% в общей структуре заболевания [32, 39].

При аллергологическом обследовании на основании определения sIgE к наиболее значимым аэроаллергенам сенсибилизацию к *Aspergillus* spp. зарегистрировали у 87 пациентов, что составило 16,6% от общего количества пациентов с БА и 22,0% от количества пациентов с аллергической БА. Тяжелое течение БА с сенсибилизацией к *Aspergillus* spp. установили у 40 пациентов, возраст пациентов составил $51,2 \pm 15,1$, преобладали женщины — 29 (72,5%). Таким образом, частота тяжелой БА с сенсибилизацией к *Aspergillus* spp. составила 7,4% у пациентов с БА и 10,1% у пациентов с аллергической БА.

Анализ результатов заполнения АСТ-теста у пациентов с тяжелой БА в зависимости от наличия сенсибилизации к *Aspergillus* spp. выявил значимые различия. В группе больных тяжелой БА с сенсибилизацией к *Aspergillus* spp. итоговое количество баллов составило $12,6 \pm 4,0$

и было значимо ниже, чем в группе тяжелой БА без сенсибилизации к *Aspergillus* spp. ($16,9 \pm 5,0$, $p < 0,001$).

Диагноз АБЛА установили 32 пациентам, что составило 8,1% от количества пациентов с аллергической БА и 6,1% от общего количества включенных в анализ пациентов с БА. Клинические, иммунологические и рентгенологические характеристики оценили у 25 пациентов с АБЛА. Клинические характеристики пациентов с АБЛА представлены в табл. 1.

У всех пациентов с АБЛА, включенных нами в исследование, заболевание сформировалось на фоне атопической БА. Также у всех пациентов этой группы была отягощенная наследственность по атопии. Следует отметить, что 17 (53%) пациентов указывали на контакт с плесневыми грибами в жилых или производственных помещениях. Кроме того, анализ представленной медицинской документации (выписки из истории болезни, амбулаторные карты) выявил наличие в анамнезе пациентов с АБЛА большого количества перенесенных «пневмоний».

Важно отметить, что при подозрении на АБЛА у пациентов с БА необходимо обращать внимание на характерные клинические особенности. Несмотря на достаточный объем противовоспалительной базисной терапии БА, течение заболевания становится неконтролируемым. Пациенты предъявляют жалобы на периодические обострения 1–2 раза в месяц, сопровождающиеся приступами удушья, субфебрильной температурой и разнообразными клиническими симптомами (рис. 2).

В нашем регистре ведущим клиническим симптомом АБЛА был кашель, на который при поступлении предъявляли жалобы 24 (96%) пациента. По характеру кашель был малопродук-

Таблица 1. Клиническая характеристика пациентов с АБЛА, n = 25

Table 1. Clinical characteristics of patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis, n = 25

Показатели Parameters		Абсолютное значение Absolute value	Процент (%) Percent (%)
Возраст, годы (M±σ) Age, years (M±σ)		45±16	
Пол Gender	женщины women)	16	64
	мужчины men	9	36
Индекс массы тела, кг/м ² (M±σ) Body mass index, kg/m ² (M±σ)		25,4±4,2	
Отягощенная наследственность по астме Burdened with hereditary asthma		9	36
Продолжительность астмы, годы (M±σ) Duration of asthma, years (M±σ)		19,1±9,5	
Курение Smoking		10	40
Контакт с плесневыми грибами Fungal exposure		15	60

тивным, с отделением желто-коричневой мокроты. Три пациента отмечали в мокроте «коричневые включения».

Вторым по частоте встречаемости была одышка при физической нагрузке и в покое (76%), затем следовали боли в грудной клетке (28%). Боли носили приступообразный характер и наиболее часто локализовывались в правой половине грудной клетки. Субфебрильную температуру зарегистрировали у 12% пациентов. Жалобы на кровохарканье предъявляли 2 (8%) пациента.

В рутинной клинической практике врачам необходимо обращать внимание на появление вышеперечисленных жалоб у пациентов с БА. Именно эти клинические особенности течения заболевания могут свидетельствовать о развитии АБЛА и являются важной предпосылкой для углубленного обследования данной группы пациентов.

К известным лабораторным показателям, которые делают диагноз АБЛА у больных БА возможным или высоковероятным, относят, прежде всего, выявление sIgE к *Aspergillus* spp., повышенный уровень общего IgE и эозинофилию в периферической крови. Признано, что у больных АБЛА уровень общего IgE может достигать чрезвычайно высоких значений, отражая продолжительную аллергенную стимуляцию гуморального иммунного ответа. В ходе исследования в группе больных АБЛА уровни общего IgE и sIgE к *Aspergillus* spp. составили 1950,0 [1150; 2950] МЕ/мл и 2,20 [1,15; 7,13] МЕ/мл соответственно. Абсолютное количество эозинофилов было $0,52 [0,40; 0,96] \times 10^9/\text{л}$.

Выявление IgG к *Aspergillus fumigatus* в настоящее время рассматривают как дополнительный диагностический критерий АБЛА. В наблюдаемых нами случаях АБЛА повышение титра IgG

к *Aspergillus fumigatus* более 1:100 было установлено у 21 (84%) пациента, что может указывать на высокую степень колонизации бронхиального дерева грибами рода *Aspergillus*. Тем не менее выявление IgG к *Aspergillus* spp. не является специфичным для какой-либо формы аспергиллеза легких и может быть выявлено как при АБЛА, так и при хроническом аспергиллезе легких (ХАЛ).

Рост грибов рода *Aspergillus* при культуральном исследовании мокроты и смывов бронхоальвеолярного лаважа также является вспомогательным, но не диагностическим маркером АБЛА. Учитывая широкое распространение плесневых термотолерантных микромицетов в окружающей среде и их способность колонизировать дыхательные пути, *Aspergillus* spp. выявляют в респираторных биосубстратах пациентов и при других легочных заболеваниях [1]. Согласно данным нашего регистра рост *Aspergillus fumigatus* установили у 21 (84%), *Aspergillus niger* — у 4 (16%) пациентов.

Формирование и длительное течение АБЛА приводит к развитию таких изменений легких, как бронхоэктазы и фиброз. Поэтому важное место в подтверждении диагноза занимают рентгенологические методы исследования, из которых наиболее целесообразно использовать компьютерную томографию (КТ) высокого разрешения.

Известно, что выявление бронхоэктазов у больных БА делает диагноз АБЛА высоковероятным. В анализируемых нами случаях бронхоэктазы также были наиболее распространенным рентгенологическим симптомом, который обнаружили у 18 (72%) пациентов. Кроме того установили централабулярные узлы, мукоидные пробки, инфильтраты (рис. 3). Характерные изменения на КТ органов грудной клетки у пациентов с АБЛА представлены на рис. 4.

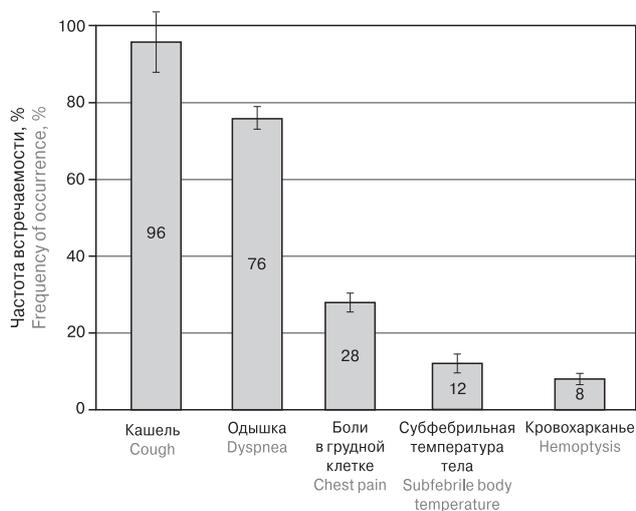


Рисунок 2. Клинические симптомы пациентов с АБЛА

Figure 2. Clinical symptoms of patients with ABPA

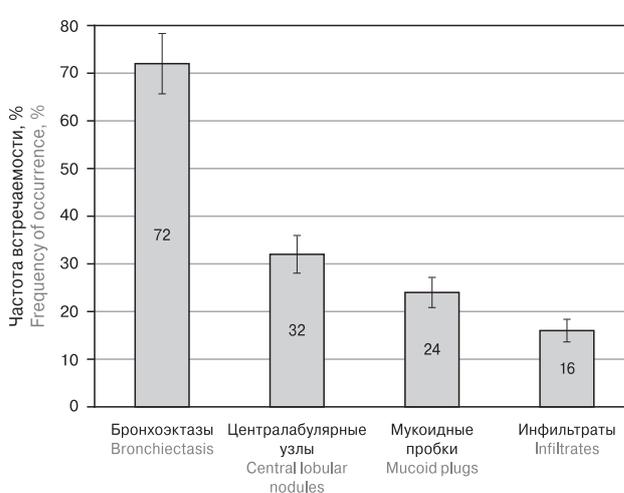


Рисунок 3. Рентгенологические изменения на КТ органов грудной клетки пациентов с АБЛА

Figure 3. Chest CT scan changes in patients with ABPA

Обсуждение

Вызывая заболевания у человека, грибы способны выступать в роли инфекционных и токсических агентов, а также сенсibilизировать макроорганизм. Развитие инфекции и аллергии наиболее значимы для пациентов с хроническими заболеваниями органов дыхания, такими как БА [2], ХОБЛ [3, 4, 5] и бронхоэктазы [6, 7].

Грибы, которые играют роль в патогенезе БА, можно разделить на две группы. Первую группу составляют термотолерантные нитевидные грибы, которые размножаются при температуре человеческого тела и способны вызывать как инфекцию, так и аллергию. Наиболее значимыми термотолерантными микромицетами признаны *Aspergillus* spp. Кроме того выделяют группу термолабильных грибов (*Alternaria* spp. и *Cladosporium* spp.), которые не способны колонизировать дыхательные пути и могут быть только аэроаллергенами.

Следует отметить, что в настоящее время существует проблема терминологии и классификации заболеваний легких, связанных с грибами и микогенной аллергией, что в первую очередь обусловлено отсутствием единых диагностических критериев [35].

Термин «аллергический бронхолегочный аспергиллез/микоз (АБЛА/АБЛМ)» был введен с использованием набора критериев, которые были разработаны на основе анализа клинико-иммунологических показателей ограниченных групп пациентов [29]. Использование данного подхода позволяло выявлять АБЛА у пациентов с БА и муковисцидозом, но исключало проявления, возникающие при других заболеваниях дыхательных путей, таких как ХОБЛ и бронхоэктазы, а иногда и *de novo*. Таким образом, критерии включения в исследования грибковой аллергии варьировали в зависимости от взглядов исследователя.

В последнее время диагностические критерии АБЛА несколько раз были модифицированы. Опубликованы результаты ряда клинических исследований, в которые были включены достаточно масштабные когорты пациентов и определены различные биомаркеры гиперчувствительности к микроскопическим грибам [4, 6, 15, 21, 27, 30]. На основании полученных данных эксперты международного общества микологии человека и животных (ISHAM) предложили оптимизированные критерии АБЛА, которые на сегодняшний день наиболее часто используют врачи в рутинной практике [4]. Однако данный подход по-прежнему включает пороговое значение общего IgE в сыворотке крови > 1000 МЕ/мл, которое не всегда ассоциировано с соответствующими клиническими проявлениями.

Учитывая, что многие пациенты с тяжелым течением БА и сенсibilизацией к грибковым аллергенам не соответствуют критериям АБЛА, была выделена «тяжелая БА с микогенной сенсibilизацией» [11]. Denning D.W. и соавт. в 2006 г. предложили данный термин для описания БА с неконтролируемым течением, сенсibilизацией к антигенам грибов, отсутствием бронхоэктазов, скоплений слизи и уровнем общего IgE менее 1000 МЕ/мл. Однако это определение включает сенсibilизацию к целому ряду грибов, многие из которых вряд ли могут вызывать повреждение легких, поскольку не колонизируют дыхательные пути.

Современные работы, направленные на изучение взаимосвязей биомаркеров с клиническими исходами заболевания, свидетельствуют о значимом влиянии повышенного уровня sIgE к грибковым аллергенам на исходы астмы [38]. Это послужило основой для комплексного подхода к определению данного эндотипа заболевания дыхательных путей. В 2016 г. Catherine H. Pashley и Andrew J. Wardlaw предложили термин «аллергическое грибковое заболевание дыхательных

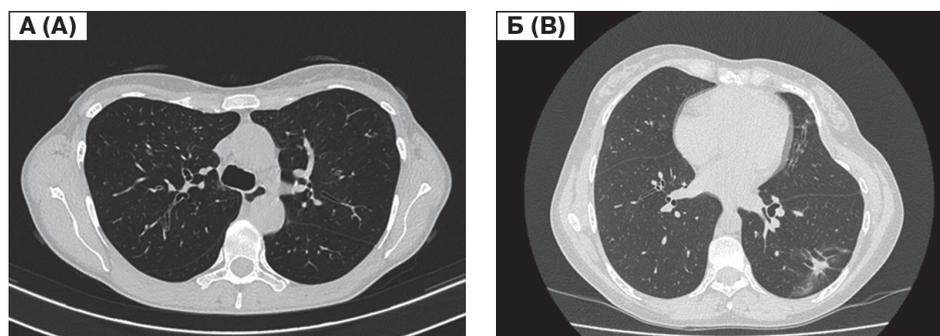


Рисунок 4. Инфильтраты и бронхоэктазы у пациентов с аллергическим бронхолегочным аспергиллезом
Figure 4. Infiltrates and bronchiectasis in patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis

Примечание. А — двусторонние бронхоэктазы, В — инфильтрат средней и нижней доли правого легкого с лучистыми контурами и бронхоэктазы, стенки бронхов утолщены — симптом «трамвайных рельс».

Note. A — bilateral bronchiectasis, B — infiltrate of the middle and lower lobe of the right lung with radiant contours and bronchiectasis, the bronchus walls are thickened — a symptom of “tram rails”.

путей» (АГЗДП), используя сочетание критериев: IgE-сенсibilизацию к колонизирующим дыхательные пути, термотолерантным, нитевидным грибам и клинико-функциональные признаки поражения дыхательных путей [28, 37].

Трудно оценить истинную распространенность АГЗДП при астме из-за отсутствия исследований, всесторонне оценивающих грибковую сенсibilизацию, определяемую при кожном тестировании (волдырь более 3 мм), либо ImmunoCAP (sIgE к грибковому аллергену $\geq 0,35$ МЕ/мл). Работы, посвященные микогенной сенсibilизации, на сегодняшний день неоднородны, включают пациентов с БА различной степени тяжести, результаты этих исследований противоречивы.

По данным различных авторов распространенность микогенной сенсibilизации варьирует от 3 до 10% среди населения в целом [18] и от 7 до 20% среди пациентов с БА. Многие исследователи отмечают, что распространенность гиперчувствительности к грибам значимо выше у пациентов с тяжелой БА и составляет от 35 до 75% [10].

Примечательно, что в одной из первых работ, посвященных микогенной аллергии, D.J. Hendrick и соавт. демонстрируют тяжелые обструктивные нарушения функции легких у пациентов с аспергилл-ассоциированной астмой [17]. Дальнейшие исследования в этой области подтвердили, что микогенная сенсibilизация связана с тяжелым течением заболевания, развитием опасных для жизни обострений, требующих госпитализации в отделения реанимации и интенсивной терапии [9], увеличением смертности от астмы [25].

В современном клиническом исследовании J.G. Ken и соавт., опубликованном в 2017 г., которое включало многоэтническую азиатскую когорту больных тяжелой БА, распространенность сенсibilизации к *Aspergillus* spp. составила 11,7%. При этом именно сенсibilизация к *Aspergillus* spp., но не к другим аллергенам, была независимо связана с более низкой функцией легких и частыми обострениями [13].

Проведенное в Японии исследование клинико-функциональных характеристик 124 пациентов с тяжелой БА продемонстрировало, что частота микогенной сенсibilизации в этой группе составила 30% и была выше, чем сенсibilизация к аллергенам перхоти животных и насекомых [24].

Следует учитывать, что результаты исследований часто трудно сопоставимы и показывают сенсibilизацию к различным грибам. Многие авторы, включая авторов крупнейшего исследования распространенности микогенной сенсibilизации в Европе [41], определяли сенсibilизацию только к термотолерантным грибам, таким как *Alternaria alternata* и/или *Cladosporium herbarum*. Также необходимо учитывать вари-

абельность показателей в разных возрастных категориях пациентов. Так в педиатрических исследованиях, в которых преобладали дети с легкой астмой, наиболее распространенным микромицетом, вызывающим сенсibilизацию, была *Alternaria* spp. [20, 36]. По мере увеличения тяжести заболевания, а также у взрослых пациентов грибы *Aspergillus* spp. выступают основным источником аллергенов [33]. Однако в исследовании, проведенном в Китае, преобладал *Penicillium* spp. [40], а в Японии наиболее распространена сенсibilизация к *Candida* spp. [24, 31].

Интересно отметить, что в европейских исследованиях среди основных грибковых аллергенов в странах с умеренным климатом доминировал *Aspergillus* spp., в то время как в Техасе (США) в условиях влажного субтропического климата преобладала *Alternaria* spp., а в Токио (Япония) — другом влажном субтропическом климате — *Candida* spp. Насколько это связано с географическими различиями в воздействии грибов, а насколько с различиями в грибковых экстрактах, неизвестно.

В целом большинство исследователей обращают внимание на то, что у взрослых пациентов, даже в группах с преимущественно нетяжелым течением БА, *Aspergillus* spp. часто выступает в роли наиболее распространенного аллергена [7, 19], а пациенты с сенсibilизацией к *Aspergillus* spp. подвергаются более высокому риску прогрессирующего повреждения легких, чем те, кто сенсibilизирован к термотолерантным грибам [35].

В нашем исследовании мы оценили распространенность сенсibilизации к *Aspergillus* spp. как к наиболее значимому термотолерантному микромицету, а также частоту тяжелой БА с сенсibilизацией к *Aspergillus* spp. и АБЛА. В целом результаты анализа данных нашего регистра согласуются с международными исследованиями. ISHAM в 2011 г. сформировало рабочую группу «АБЛА у пациентов с БА» для обобщения результатов современных исследований и составления руководств по диагностике и лечению этого заболевания. Эксперты рабочей группы ISHAM включили в анализ данные по сенсibilизации *Aspergillus* spp. и АБЛА, опубликованные с 2000 г. Распространенность сенсibilизации к *Aspergillus* spp. среди пациентов с БА варьировала от 5,5 до 38,5%, а распространенность АБЛА составила от 2,5 до 22,3% с объединенной оценкой 8,4% [4].

У значительной доли больных БА с сенсibilизацией к *Aspergillus* spp. нашего регистра установили тяжелое течение заболевания. В предыдущих исследованиях мы показали, что сенсibilизация к *Aspergillus* spp., но не к другим аэроаллергенам, существенно ухудшает течение БА. У пациентов с сенсibilизацией к *A. fumigatus* зарегистрировали худшие показатели ОФВ₁ и результаты АСТ. Выявили отрицательную корреляционную связь между уровнями sIgE к *A. fumigatus* и показателем

ОФВ1, что свидетельствует о более выраженном воспалении и возможности формирования деструктивных изменений в легких. Также установили, что наличие сенсибилизации к *Aspergillus spp.* у больных БА значимо увеличивало количество обострений и количество госпитализаций по поводу БА в течение предшествующего года [2].

Лечение АГЗДП включает лечение основного заболевания в соответствии с ведущим клиническим фенотипом [14]. Учитывая признанное доминирование эозинофильного воспаления дыхательных путей при грибковой аллергии, краеугольным камнем терапии являются ингаляционные глюкокортикостероиды, помогающие контролировать обострения заболевания. В более тяжелых случаях для достижения контроля необходим прием системных глюкокортикостероидов (СГКС).

Побочные эффекты длительного использования СГКС, включая остеопороз и диабет, привели к поиску альтернативных вариантов лечения. Наиболее исследованными у данной категории пациентов являются противогрибковые препараты группы азолов [1, 5]. Однако место противогрибковой терапии при АГЗДП остается неопределенным. В то время как открытые исследования часто сообщали об эффективности, плацебо-контролируемые слепые исследования показали либо отсутствие положительной динамики, либо в лучшем случае незначительное улучшение по сравнению со стандартным лечением, которое в наши дни включает биологическую терапию [34].

На основании клинико-иммунологических характеристик пациентов могут быть использованы все три стратегии иммунобиологической терапии: анти-IgE-стратегия (омализумаб), анти-IL-5/5R-стратегия (меполизумаб, реслизумаб, бенрализумаб), анти-IL-4(13)R-стратегия (дупилумаб). В настоящее время проспективные контролируемые исследования этих препаратов у пациентов с АГЗДП отсутствуют. Однако опубликованы данные анализа особенностей сенсибилизации 576 пациентов с тяжелой эозинофильной астмой, включенных в рандомизированное двойное слепое исследование III фазы MENSA. Пациенты

были рандомизированы (1:1:1) для получения меполизумаба 75 мг внутривенно или 100 мг подкожно или плацебо каждые 4 недели в течение 32 недель на фоне продолжающейся базисной терапии. Установлено, что 191 пациент (33%) был сенсибилизирован к грибковым аллергенам. В частности, 15% пациентов были сенсибилизированы к *Aspergillus fumigatus* и 10% к *Penicillium chrysogenum*. В целом у 9% пациентов зарегистрирована моно-сенсибилизация к грибковым аллергенам. У пациентов с микогенной сенсибилизацией отмечена еще более значимая тенденция к снижению ежегодной частоты клинически значимых обострений при применении меполизумаба по сравнению с пациентами без микогенной сенсибилизации [34]. Таким образом, использование препаратов анти-IL-5/5R можно рассматривать как перспективное направление в терапии АГЗДП.

Вместе с тем в комплексном лечении АГЗДП должны быть учтены следующие факторы: предотвращение контакта с микромицетами и уменьшение грибковой нагрузки, улучшение проходимости дыхательных путей за счет снижения количества слизи и уменьшения бронхообструкции, а также контроль бактериальной инфекции.

Заключение

Тестирование на наличие грибов в дыхательных путях и подтверждение сенсибилизации к грибковым аллергенам — важный этап в выявлении АГЗДП у пациентов с хроническими заболеваниями легких. Однако используемые методы диагностики требуют стандартизации. Также необходим консенсус о наиболее значимых микроскопических грибах, определение которых в клинической практике будет влиять на дальнейшую терапевтическую тактику у пациентов с БА, ХОБЛ, муковисцидозом и бронхоэктазами. Тем не менее все пациенты с IgE-сенсибилизацией к термотолерантным грибам в контексте астмы и других заболеваний дыхательных путей подвержены риску прогрессирующего поражения легких и поэтому должны находиться под наблюдением независимо от наличия критериев АБЛА.

Список литературы/References

1. Климко Н.Н. Микозы: диагностика и лечение. Руководство для врачей. 3-е изд., перераб. и доп. М.: Фармтек, 2017. 272 с. [Klimko N.N. Mycoses: diagnosis and treatment. Guide for doctors. 3rd ed., revised and amplified. Moscow: Pharmtek, 2017. 272 p. (In Russ.)]
2. Козлова Я.И., Фролова Е.В., Учеваткина А.Е., Филиппова Л.В., Аак О.В., Кузнецов В.Д., Васильева Н.В., Климко Н.Н. Клинико-иммунологические характеристики тяжелой бронхиальной астмы с сенсибилизацией к грибам рода *Aspergillus* // Русский медицинский журнал. 2021. Т. 5, № 1. С. 10–16. [Kozlova Ya.I., Frolova E.V., Uchevatkina A.E., Filippova L.V., Aak O.V., Kuznetsov V.D., Vasilieva N.V., Klimko N.N. Clinical and immunological characteristics of severe bronchial asthma with *Aspergillus* sensitization. *Russkii meditsinskii zhurnal = Russian Medical Journal*, 2021, vol. 1, no. 5. pp. 10–16. (In Russ.)] doi: 10.32364/2587-6821-2021-5-1-10-16
3. Agarwal K., Gaur S.N., Chowdhary A. The role of fungal sensitisation in clinical presentation in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Mycoses*, 2015, vol. 58, no. 9, pp. 531–535. doi: 10.1111/myc.12352
4. Agarwal R., Chakrabarti A., Shah A., Gupta D., Meis J.F., Guleria R., Moss R., Denning D.W. ABPA complicating asthma ISHAM working group. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria. *Clin. Exp. Allergy*, 2013, vol. 43, no. 8, pp. 850–873. doi: 10.1111/cea.12141

5. Agbetile J., Bourne M., Fairs A., Hargadon B., Desai D., Broad C., Morley J., Bradding P., Brightling C.E., Green R.H., Haldar P., Pashley C.H., Pavord I.D., Wardlaw A.J. Effectiveness of voriconazole in the treatment of *Aspergillus fumigatus*-associated asthma (EVITA3 study). *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2014, vol. 134, no. 1, pp. 33–39. doi: 10.1016/j.jaci.2013.09.050
6. Asano K., Hebisawa A., Ishiguro T., Takayanagi N., Nakamura Y., Suzuki J., Okada N., Tanaka J., Fukutomi Y., Ueki S., Fukunaga K., Konno S., Matsuse H., Kamei K., Taniguchi M., Shimoda T., Oguma T. Japan ABPM Research Program. New clinical diagnostic criteria for allergic bronchopulmonary aspergillosis/mycosis and its validation. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2021, vol. 147, no. 4, pp. 1261–1268. doi: 10.1016/j.jaci.2020.08.029
7. Backman H., Jansson S.A., Stridsman C., Eriksson B., Hedman L., Eklund B.M., Sandström T., Lindberg A., Lundbäck B., Rönmark E. Severe asthma — a population study perspective. *Clin. Exp. Allergy*, 2019, vol. 49, no. 6, pp. 819–828. doi: 10.1111/cea.13378
8. Bafadhel M., McKenna S., Agbetile J., Fairs A., Desai D., Mistry V., Morley J.P., Pancholi M., Pavord I.D., Wardlaw A.J., Pashley C.H., Brightling C.E. *Aspergillus fumigatus* during stable state and exacerbations of COPD. *Eur. Respir. J.*, 2014, vol. 1, no. 43, pp. 64–71. doi: 10.1183/09031936.00162912
9. Black P.N., Udy A.A., Brodie S.M. Sensitivity to fungal allergens is a risk factor for life-threatening asthma. *Allergy*, 2000, vol. 55, no. 5, pp. 501–504. doi: 10.1034/j.1398-9995.2000.00293.x
10. Del Giacco S.R., Bakirtas A., Bel E., Custovic A., Diamant Z., Hamelmann E., Heffler E., Kalayci Ö., Saglani S., Sergejeva S., Seys S., Simpson A., Bjermer L. Allergy in severe asthma. *Allergy*, 2017, vol. 72, no. 2, pp. 207–220. doi: 10.1111/all.13072
11. Denning D.W., O'Driscoll B.R., Hogaboam C.M., Bowyer P., Niven R.M. The link between fungi and severe asthma: a summary of the evidence. *Eur. Respir. J.*, 2006, vol. 27, no. 3, pp. 615–626. doi: 10.1183/09031936.06.00074705
12. Everaerts S., Lagrou K., Dubbeldam A., Lorent N., Vermeersch K., Van Hoeyveld E., Bossuyt X., Dupont L.J., Vanaudenaerde B.M., Janssens W. Sensitization to *Aspergillus fumigatus* as a risk factor for bronchiectasis in COPD. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.*, 2017, vol. 12, pp. 2629–2638. doi: 10.2147/COPD.S141695
13. Goh K.J., Yii A.C.A., Lapperre T.S., Chan A.K., Chew F.T., Chotirmall S.H., Koh M.S. Sensitization to *Aspergillus* species is associated with frequent exacerbations in severe asthma. *J. Asthma Allergy*, 2017, vol. 10, pp. 131–140. doi: 10.2147/JAA.S130459
14. Gonem S., Raj V., Wardlaw A.J., Pavord I.D., Green R., Siddiqui S. Phenotyping airways disease: an A to E approach. *Clin. Exp. Allergy*, 2012, vol. 42, no. 12, pp. 1664–1683. doi: 10.1111/j.1365-2222.2012.04008.x
15. Greenberger P.A., Miller T.P., Roberts M., Smith L.L. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with and without evidence of bronchiectasis. *Ann. Allergy*, 1993, vol. 70, no. 4, pp. 333–338.
16. Hawksworth D.L., Lücking R. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. *Microbiol. Spectr.*, 2017, vol. 5, no. 4, pp. 5–10. doi: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016
17. Hendrick D.J., Davies R.J., D'Souza M.F., Pepys J. An analysis of skin prick test reactions in 656 asthmatic patients. *Thorax*, 1975, vol. 30, no. 1, pp. 2–8. doi: 10.1136/thx.30.1.2
18. Horner W.E., Helbling A., Salvaggio J.E., Lehrer S.B. Fungal allergens. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1995, vol. 8, no. 2, pp. 161–179. doi: 10.1128/CMR.8.2.161
19. Jaakkola M.S., Ieromnimon A., Jaakkola J.J. Are atopy and specific IgE to mites and molds important for adult asthma? *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2006, vol. 117, no. 3, pp. 642–648. doi: 10.1016/j.jaci.2005.11.003
20. Lehmann S., Sprünken A., Wagner N., Tenbrock K., Ott H. Clinical relevance of IgE-mediated sensitization against the mould *Alternaria alternata* in children with asthma. *Ther. Adv. Respir. Dis.*, 2017, vol. 11, no. 1, pp. 30–39. doi: 10.1177/1753465816680786
21. Li B.C.M., Huh S.M., Prieto M.D., Hong G., Schwarz C., Moss R.B., Quon B.S. Biomarkers for the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis: a systematic review and meta-analysis. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.*, 2021, vol. 9, no. 5, pp. 1909–1930. doi: 10.1016/j.jaip.2020.12.064
22. Mac Aogáin M., Chandrasekaran R., Lim A.Y.H., Low T.B., Tan G.L., Hassan T., Ong T.H., Hui Qi Ng A., Bertrand D., Koh J.Y., Pang S.L., Lee Z.Y., Gwee X.W., Martinus C., Sio Y.Y., Matta S.A., Chew F.T., Keir H.R., Connolly J.E., Abisheganaden J.A., Koh M.S., Nagarajan N., Chalmers J.D., Chotirmall S.H. Immunological corollary of the pulmonary mycobiome in bronchiectasis: the CAMEB study. *Eur. Respir. J.*, 2018, vol. 52, no. 1: 1800766. doi: 10.1183/13993003.00766-2018
23. Máiz L., Nieto R., Cantón R., Gómez G. de la Pedrosa E., Martínez-García M.Á. Fungi in bronchiectasis: a concise review. *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, vol. 19, no. 1: 142. doi: 10.3390/ijms19010142
24. Masaki K., Fukunaga K., Matsusaka M., Kabata H., Tanosaki T., Mochimaru T., Kamatani T., Ohtsuka K., Baba R., Ueda S., Suzuki Y., Sakamaki F., Oyamada Y., Inoue T., Oguma T., Sayama K., Koh H., Nakamura M., Umeda A., Kamei K., Izuhara K., Asano K., Betsuyaku T. Characteristics of severe asthma with fungal sensitization. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2017, vol. 119, no. 3, pp. 253–257. doi: 10.1016/j.anai.2017.07.008
25. O'Hollaren M.T., Yunginger J.W., Offord K.P., Somers M.J., O'Connell E.J., Ballard D.J., Sachs M.I. Exposure to an aeroallergen as a possible precipitating factor in respiratory arrest in young patients with asthma. *N. Engl. J. Med.*, 1991, vol. 324, no. 6, pp. 359–363. doi: 10.1056/NEJM199102073240602
26. Pashley C.H., Wardlaw A.J. Allergic fungal airways disease (AFAD): an under-recognised asthma endotype. *Mycopathologia*, 2021, vol. 186, no. 5, pp. 609–622. doi: 10.1007/s11046-021-00562-0
27. Patterson R., Greenberger P.A., Halwig J.M., Liotta J.L., Roberts M. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. Natural history and classification of early disease by serologic and roentgenographic studies. *Arch. Intern. Med.*, 1986, vol. 146, no. 5, pp. 916–918. doi: 10.1001/archinte.146.5.916
28. Rick E.M., Woolnough K., Pashley C.H., Wardlaw A.J. Allergic fungal airway disease. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, 2016, vol. 26, no. 6, pp. 344–354. doi: 10.18176/jiaci.0122
29. Rosenberg M., Patterson R., Mintzer R., Cooper B.J., Roberts M., Harris K.E. Clinical and immunologic criteria for the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Ann. Intern. Med.*, 1977, vol. 86, no. 4, pp. 405–414. doi: 10.7326/0003-4819-86-4-405
30. Saxena P., Choudhary H., Muthu V., Sehgal I.S., Dhooria S., Prasad K.T., Garg M., Saikia B., Aggarwal A.N., Chakrabarti A., Agarwal R. Which are the optimal criteria for the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis? A latent class analysis. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.*, 2021, vol. 9, no. 1, pp. 328–335. doi: 10.1016/j.jaip.2020.08.043
31. Tanaka A., Fujiwara A., Uchida Y., Yamaguchi M., Ohta S., Homma T., Watanabe Y., Yamamoto M., Suzuki S., Yokoe T., Sagara H. Evaluation of the association between sensitization to common inhalant fungi and poor asthma control. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2016, vol. 117, no. 2, pp. 163–168. doi: 10.1016/j.anai.2016.06.001

32. The Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma (GINA) 2022. URL: <https://ginasthma.org/gina-reports> (28.04.2023)
33. Vicencio A.G., Santiago M.T., Tsirilakis K., Stone A., Worgall S., Foley E.A., Bush D., Goldman D.L. Fungal sensitization in childhood persistent asthma is associated with disease severity. *Pediatr. Pulmonol.*, 2014, vol. 49, no. 1, pp. 8–14. doi: 10.1002/ppul.22779
34. Wardlaw A., Howarth P.H., Israel E., Taillé C., Quirce S., Mallett S., Bates S., Albers F.C., Kwon N. Fungal sensitization and its relationship to mepolizumab response in patients with severe eosinophilic asthma. *Clin. Exp. Allergy*, 2020, vol. 50, no. 7, pp. 869–872. doi: 10.1111/cea.13680
35. Wardlaw A.J., Woolnough K., Pashley C.H. Lassoing a chimera: the semantics of allergic fungal airway disease. *Clin. Exp. Allergy*, 2015, vol. 45, no. 12, pp. 1746–1749. doi: 10.1111/cea.12659
36. Welsh K.G., Holden K.A., Wardlaw A.J., Satchwell J., Monteiro W., Pashley C.H., Gaillard E.A. Fungal sensitization and positive fungal culture from sputum in children with asthma are associated with reduced lung function and acute asthma attacks respectively. *Clin. Exp. Allergy*, 2021, vol. 51, no. 6, pp. 790–800. doi: 10.1111/cea.13799
37. Woolnough K., Fairs A., Pashley C.H., Wardlaw A.J. Allergic fungal airway disease: pathophysiologic and diagnostic considerations. *Curr. Opin. Pulm Med.*, 2015, vol. 21, no. 1, pp. 39–47. doi: 10.1097/MCP.0000000000000129
38. Woolnough K.F., Richardson M., Newby C., Craner M., Bourne M., Monteiro W., Siddiqui S., Bradding P., Pashley C.H., Wardlaw A.J. The relationship between biomarkers of fungal allergy and lung damage in asthma. *Clin. Exp. Allergy*, 2017, vol. 47, no. 1, pp. 48–56. doi: 10.1111/cea.12848
39. Yan D.C., Ou L.S., Tsai T.L., Wu W.F., Huang J.L. Prevalence and severity of symptoms of asthma, rhinitis, and eczema in 13- to 14-year-old children in Taipei, Taiwan. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2005, vol. 95, no. 6, pp. 579–585. doi: 10.1016/S1081-1206(10)61022-8
40. Zou H., Su L., Fang Q.H., Ma Y.M. Correlation between fungal sIgE and bronchial asthma severity. *Exp. Ther. Med.*, 2013, vol. 6, no. 2, pp. 537–541. doi: 10.3892/etm.2013.1153
41. Zureik M., Neukirch C., Leynaert B., Liard R., Bousquet J., Neukirch F. European Community Respiratory Health Survey. Sensitisation to airborne moulds and severity of asthma: cross sectional study from European Community respiratory health survey. *BMJ*, 2002, vol. 325, no. 7361, pp. 411–414. doi: 10.1136/bmj.325.7361.411

Авторы:

Козлова Я.И., д.м.н., доцент кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

Васильев Н.Ю., аспирант кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

Фролова Е.В., к.м.н., зав. НИЛ иммунологии и аллергологии НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

Учеваткина А.Е., к.м.н., старший научный сотрудник НИЛ иммунологии и аллергологии НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

Филиппова Л.В., к.м.н., старший научный сотрудник НИЛ иммунологии и аллергологии НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

Аак О.В., к.х.н., ведущий научный сотрудник НИЛ иммунологии и аллергологии НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

Соболев А.В., д.м.н., профессор кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

Васильева Н.В., д.б.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, директор НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Kozlova Ya.I., DSc (Medicine), Associate Professor, Department of Clinical Mycology, Allergology and Immunology, P.N. Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

Vasiliev N.Yu., PhD Student, Department of Clinical Mycology, Allergology and Immunology, P.N. Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

Frolova E.V., PhD (Medicine), Head of the Research Laboratory of Allergology and Immunology, P.N. Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

Uchevatkina A.E., PhD (Medicine), Senior Researcher, Research Laboratory of Allergology and Immunology, P.N. Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

Filippova L.V., PhD (Medicine), Senior Researcher, Research Laboratory of Allergology and Immunology, P.N. Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

Aak O.V., PhD (Chemistry), Leading Researcher, Research Laboratory of Allergology and Immunology, P.N. Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

Sobolev A.V., DSc (Medicine), Professor of the Department of Clinical Mycology, Allergology and Immunology, P.N. Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

Vasilyeva N.V., DSc (Biology), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Director, P.N. Kashkin Research Institute of Medical Mycology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation.

PREDICTION OF INFLAMMATION IN HEMODIALYSIS PATIENTS USING NEURAL NETWORK ANALYSIS

H.H. Hadi^a, H.H. Al-Mayali^b, H.K. Abdalsada^c, S.R. Moustafa^d, A.F. Almulla^e,
H.K. Al-Hakeim^a

^a University of Kufa, Najaf, Iraq

^b Al-Furat Al-Awsat Technical University, Najaf, Iraq

^c Al-Muthanna University, Al-Muthanna, Iraq

^d Hawler Medical University, Havalan City, Erbil, Iraq

^e The Islamic University, Najaf, Iraq

Abstract. *Background.* Numerous hemodialysis patients (HD) suffer from severe, life-threatening inflammation that must be treated to prevent further complications. Early diagnosis of inflammation in HD is highly needed. The present study intends to examine the ability of matrix metalloproteinase-1 (MMP3) and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP1) to differentiate between HD patients with/without inflammation by using the neural network analysis (NN). *Materials and methods.* The positive results of C-reactive protein were used as a criterion for the presence of inflammation in the patients (HD+CRP) versus the negative group (HD–CRP). The NN analysis was used to discriminate between groups using the measured biomarkers. *Results.* HD+CRP patients have a higher duration of disease, MMP3 and lower calcium than the HD–CRP. While vitamin D is significantly lower in the HD+CRP group compared with HD–CRP (all $p < 0.05$). TIMP1 is significantly correlated with inorganic phosphate and CRP. In NN#1, the model for the prediction of HD+CRP from HD–CRP has an area under the curve (AUC) of the receiver operating characteristic (ROC) of 0.907 with a sensitivity and specificity 89.2% and a specificity of 100%. The top predicting variable for the prediction of HD+CRP is MMP3 (100%), followed by creatinine (87.1%). MMP3 is linked to the pathophysiology of HD, at least through their correlation with the inflammation in HD. In NN#2, the AUC of the ROC for predicting the kidney disease and subsequent HD was 98.9%, with a sensitivity of 100% and a specificity of 97.1%. The top four predicting variables for the prediction of high risk of inflammation in HD patients are urea (100%), creatinine (100%), MMP3 (59.7%), and vitamin D (57.1%). *Conclusion.* The NN analysis may differentiate between HD patients with inflammation from the HD without inflammation. Also, the measured parameters, especially MMP3, TIMP1, and vitamin D are useful as a diagnostic tools for the kidney diseases and inflammation linked with the disease.

Key words: hemodialysis patients, tissue inhibitor of metalloproteinases-1, matrix metalloproteinase-1, vitamin D, neural network, inflammation.

Адрес для переписки:

Хусейн Кадем Аль-Хаким
Кафедра химии, факультет естественных наук,
Университет Куфы, Ирак.
Тел.: +9647811345471.
E-mail: headm2010@yahoo.com

Contacts:

Hussein Kadhem Al-Hakeim
Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kufa, Iraq.
Phone: +9647811345471.
E-mail: headm2010@yahoo.com

Для цитирования:

Хади Х.Х., Аль-Майали Х.Х., Абдалсада Х.Х., Мустафа Ш.Р.,
Алмулла А.Ф., Аль-Хакеим Х.К. Нейросетевой анализ
в прогнозировании воспаления у пациентов, находящихся
на гемодиализе // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 957–966.
doi: 10.15789/2220-7619-POI-15622

Citation:

Hadi H.H., Al-Mayali H.H., Abdalsada H.K., Moustafa S.R., Almulla A.F.,
Al-Hakeim H.K. Prediction of inflammation in hemodialysis patients using
neural network analysis // Russian Journal of Infection and Immunity =
Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 957–966. doi: 10.15789/
2220-7619-POI-15622

НЕЙРОСЕТЕВОЙ АНАЛИЗ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ВОСПАЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ГЕМОДИАЛИЗЕ

Хади Х.Х.¹, Аль-Майали Х.Х.², Абдалсада Х.Х.³, Мустафа Ш.Р.⁴, Алмулла А.Ф.⁵, Аль-Хакеим Х.К.¹

¹ Университет Куфы, г. Наджаф, Ирак

² Технический университет Аль-Фурат Аль-Аусат, г. Наджаф, Ирак

³ Университет Аль-Мутанна, г. Аль-Мутанна, Ирак

⁴ Медицинский университет Хоулера, г. Хавалан, Эрбиль, Ирак

⁵ Исламский университет, г. Наджаф, Ирак

Резюме. Многие пациенты, находящиеся на гемодиализе (ГД), страдают от тяжелого, опасного для жизни воспаления, которое необходимо лечить для предотвращения дальнейших осложнений. Крайне необходимо проведение ранней диагностики воспаления при ГД. Для разделения пациентов с воспалением и без него в настоящем исследовании изучались показатели матричной металлопротеиназы-1 (ММР3) и тканевого ингибитора металлопротеиназ-1 (ТИМР1) с использованием анализа нейронных сетей (НС). *Материалы и методы.* Положительные результаты оценки уровня С-реактивного белка использовали в качестве критерия наличия воспаления у пациентов (ГД+СРБ) по сравнению с отрицательной группой (ГД-СРБ). Анализ НС использовался для разделения групп на основании применяемых биомаркеров. *Результаты.* Пациенты с ГД+СРБ имеют более высокую продолжительность заболевания, ММР3 и более низкий уровень кальция, по сравнению с группой ГД-СРБ, уровень витамина D значительно ниже в группе ГД+СРБ по сравнению с группой ГД-СРБ (все $p < 0,05$). ТИМР1 достоверно коррелирует с уровнем неорганического фосфата и СРБ. В НС#1 модель прогнозирования ГД+СРБ на основе ГД-СРБ имеет площадь под кривой (AUC) рабочей характеристики приемника (ROC) 0,907 с чувствительностью и специфичностью 89,2% и специфичностью 100% соответственно. Главной прогностической переменной для прогнозирования ГД+СРБ является уровень ММР3 (100%), а также и уровень креатинина (87,1%). ММР3 связана с патофизиологией ГД, по крайней мере, через их корреляцию с воспалением при ГД. В НС#2 AUC ROC для прогнозирования заболевания почек и последующей ГД составила 98,9% при чувствительности 100% и специфичности 97,1%. Четырьмя ведущими прогностическими параметрами для прогнозирования высокого риска воспаления у пациентов с ГД являются уровень мочевины (100%), креатинина (100%), ММР3 (59,7%) и витамина D (57,1%). *Заключение.* Анализ НС может разграничивать пациентов с ГД с воспалением и без него. Кроме того, измеряемые параметры, особенно ММР3, ТИМР1 и витамин D, полезны в качестве диагностических инструментов заболеваний почек и сопутствующего воспаления.

Ключевые слова: пациенты, находящиеся на гемодиализе, тканевой ингибитор металлопротеиназы-1, матричная металлопротеиназа-3, витамин D, нейронная сеть, воспаление.

Introduction

There is a growing increase in patients receiving long-term hemodialysis (HD) for end-stage renal disease (ESRD) [45]. Patients with ESRD have a higher risk of cardiovascular disease and other co-existing diseases [11, 33] and an adjusted all-cause mortality rate at least 10-fold higher than that of the non-ESRD population [45]. As such, perioperative management of patients with HD requires special considerations regarding disease pathophysiology, including cardiovascular dysfunction, volume disturbances, anemia, electrolyte disorders, and pharmacokinetics/pharmacodynamics alterations [21].

Several types of cellular injury occur in acute kidney injury (AKI), including necrosis, apoptosis, or necroptosis combined. This latter type of cellular injury is a highly immunogenic form of programmed cell death that normally represents a defense against viruses expressing caspase-8 inhibitors but may also be triggered by cytokine imbalance [8]. HD remains the most specific and clinically relevant endpoint for patients with chronic kidney disease (CKD) [2]. Poor nutritional status is frequently observed in HD patients and is associated with adverse clinical out-

comes and increased mortality. Loss of amino acids during HD may contribute to protein malnutrition in these patients [18].

Matrix metalloproteinases (MMPs) represent a family of dependent metal ion endopeptidases capable of degrading all extracellular matrix (ECM) components. MMPs are classified by substrate specificity into collagenases, gelatinases, stromelysins, and membrane-bound types. MMP expression is regulated by cytokines [28].

Matrix metalloproteinase 3 (MMP3) is well-known as a secretory endopeptidase that degrades extracellular matrices [14]. MMP3 is an important member of a large family of MMPs containing zinc-dependent endopeptidases. Matrix degradation and remodeling have been recognized as the main function of MMPs. However, subsequent studies revealed that MMPs might participate in diverse pathophysiological processes, such as the regulation of inflammatory and immune responses as well as cell-cell communication, among others [47]. MMP3 is an important member of a large family of MMPs containing zinc-dependent endopeptidases. Matrix degradation and remodeling have been recognized as the main function of MMPs. However, subsequent studies revealed that MMPs

might participate in diverse pathophysiological processes, such as the regulation of inflammatory and immune responses as well as cell-cell communication, among others [22, 29, 54]. MMPs participate in many physiological and pathological processes associated with the inflammatory process [47].

Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP1) is a founding member of the TIMP family that comprises four members, TIMP1 to TIMP4, which as a whole act as major inhibitors of metalloproteinases including the matrix metalloproteinases (MMPs) and members of a disintegrin and metalloproteinase domain (ADAM) family of proteases [53]. The results of this research indicate that increased TIMP1 level is an independent predictor of an increase in hospitalization and mortality of patients with congestive heart failure (CHF) [57]. The significant correlation between TIMP1 expression and the presence of lymph node metastases, as well as that between TIMP1 plasma concentration and stage of cancer histological differentiation, might indicate the importance of this molecule as a prognostic factor during carcinogenesis [30]. MMPs and TIMPs are considered important mediators of the periapical immune response to infection [51]. Hypertension is a leading risk factor for cardiovascular disease. MMPs and their tissue inhibitors are thought to be actively involved in remodeling the cardiovascular extracellular matrix during hypertensive damage [24]. The present study aims to use neural network analysis for the prediction of overt inflammation (positive serum CRP test) in hemodialysis patients by entering the clinical and biochemical biomarkers in the analysis set.

Materials and methods

Patients. The present study involved a total of sixty patients diagnosed with chronic HD, as well as thirty healthy controls. The patients group was divided into two categories based on the results of C-reactive protein (CRP) levels. Thirty HD patients with evident inflammation were categorized as HD+CRP, while thirty HD patients without inflammation were categorized as HD-CRP. The specimens were collected from Al-Sader medical city in Najaf governorate-Iraq from November 2021 to March 2022. Patients were under hemodialysis and previously diagnosed by a specialist following the International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10th Revision, criteria (2021 ICD-10-CM Diagnosis Code N18.6). The Urologist and Internists performed patients' diagnoses according to clinical signs and laboratory tests. According to the used definition, the patients were having ESRD requiring chronic dialysis. All patients have elevated urea and creatinine, electrolyte disturbances, with eGFR less than 15 ml/minute. A full medical history and examination to explore the presence of any systemic diseases that might affect the studied parameters; diabetes, liver, and heart diseases were excluded

from the study. All patients were given calcium carbonate, epoetin alpha (Eprex®), heparin, and either continuous folic acid or iron and folate formula (Fefol®). Thirty apparently healthy subjects were classified as a control group. Their age and sex ratios were comparable to both patient groups. Subjects were selected to be free of kidney disease or other systemic or inflammatory disorders. Approval for the study was obtained from the IRB of the University of Kufa (T1375/2020), which complies with the International Guidelines for Human Research Protection as required by the Declaration of Helsinki.

Measurements. Following overnight fasting between 7:00–10:00 a.m., five milliliters of venous blood were withdrawn utilizing a disposable syringe and transferred directly to a serum gel tube. All samples were incubated for 10 minutes at room temperature before centrifugation for 5 minutes at 3500 rpm. Then, we distributed the serum into a small Eppendorf and stored it at –80°C until the measurement time. Melsin Medical Co., Ltd., Jilin, China, provided ELISA kits to assess the sera's MMP3, TIMP1, and vitamin D levels. Serum creatinine, uric acid, urea, phosphorus, glucose, calcium, magnesium, and albumin were determined spectrophotometrically using kits supplied by Agappe Diagnostics Ltd., Cham, Switzerland. Serum CRP was measured semi-quantitatively by a kit supplied by Spinreact®, Spain, utilizing an agglutination test that produced a positive result when the CRP level in serum was higher than 6 mg/L. The following equation was used to calculate the estimated glomerular filtration rate (eGFR):

$$eGFR = 175 \times (S.Cr)^{-1.154} \times (Age)^{-0.203} \times 0.742 \text{ [if female]} \times 1.212 \text{ [if Black]},$$

which is derived from the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) study equation [26]. To get the body mass index, we multiplied each individual's weight in kilos by their height in meters squared (BMI).

Statistical analysis. We used analysis of variance (ANOVA) to assess differences in continuous variables between categories and analysis of contingency tables (χ^2 -test) to check associations between categorical variables. Fisher's Least Significant Difference (LSD) Post Hoc Test analysis was done to compare the levels of the measured parameters among the three study groups. Kruskal–Wallis test was used to compare the not normally distributed variables among the three groups measured by Kolmogorov–Smirnov for normality testing. Multiple comparisons were examined using a p-correction for false discovery rate (FDR) [5]. Spearman's correlation coefficients were calculated for the correlation study of MM3, TIMP1, and vitamin D with other measured parameters. Multilayer perceptron Neural Network (NN) models (IBM SPSS Windows version 25, 2017) were used to delineate the more complex relationships between biomarkers (entered as input variables) in predicting the diagnosis-

tic classes (HD with inflammation (HD+CRP) versus HD without inflammation (HD–CRP)) as well as HD versus healthy controls). The same input variables were entered as input variables in predicting the presence of overt inflammation (HD+CRP) versus patients with no inflammation (HD–CRP). The models were trained using an automated feed-forward architecture with two hidden layers with up to 8 nodes in each layer, employing minibatch training with gradient descent, 250 epochs, and one consecutive step with no further decrease in the error term as a stopping rule. For NN#1, we considered three samples, i.e., a training sample to estimate the network parameters (50.5% of all participants), testing set to prevent overtraining (36.7%) and a holdout set to evaluate the final network (13.3%). For NN#2, we considered three samples, i.e., a training sample to estimate the network parameters (68.9% of all participants), a testing set to prevent overtraining (20.0%), and a holdout set to evaluate the final network (11.1%). Error, relative error, and importance and relative importance of all input variables were computed.

Results

Demographic and clinical data. Table 1 presents the demographic and clinical data of the HD+CRP, HD–CRP, and the healthy controls group. The results showed no significant difference in the demographic characteristics (age, sex ratio, TUD, family history, albumin, T.Mg, ionized Mg, T.Ca/Mg, TIMP1, and ionized Ca/Mg, and tobacco use disorder (TUD)) among the three groups. HD+CRP patients have a higher duration of disease than HD–CRP. Total and ionized calcium are significantly lower in HD+CRP than in the HD–CRP group. MMP3 level is significantly higher, while vitamin D is significantly lower in the HD+CRP group compared with both groups. BMI is significantly lower in patient groups than in the control group. Serum urea, creatinine, inorganic phosphate (Pi), uric acid, and glucose are significantly higher in HD groups compared with the control groups.

Correlation between Stromelysin-1, TIMP1, and TIMP1/Stromelysin-1 with all parameters. The correlations of vitamin D, MMP3, and TIMP1 with other biomarkers are presented in Table 2. TIMP1 is significantly correlated with Pi ($\rho = 0.222$, $p < 0.05$) and CRP ($\rho = 0.279$, $p < 0.01$). Vitamin D is significantly correlated with BMI ($\rho = 0.216$, $p < 0.05$), total calcium ($\rho = 0.215$, $p < 0.05$), and ionized calcium ($\rho = 0.222$, $p < 0.05$). While vitamin D is inversely correlated with duration of HD ($\rho = -0.603$, $p < -0.001$), urea ($\rho = -0.482$, $p < 0.01$), creatinine ($\rho = -0.518$, $p < 0.001$), Pi ($\rho = -0.552$, $p < 0.001$), CRP ($\rho = -0.507$, $p < 0.001$), and MMP3 ($\rho = -0.221$, $p < 0.05$). MMP3 showed significant correlations with urea ($\rho = 0.273$, $p < 0.01$), creatinine ($\rho = 0.238$, $p < 0.05$), Pi ($\rho = 0.324$, $p < 0.01$), and CRP ($\rho = 0.425$, $p < 0.01$).

Neural network study. The results of two neural network information of the model on HD patients for predicting HD patients with inflammation (HD+CRP) versus HD–CRP patients are presented in Table 3. The NN analysis used feed-forward architecture because the network connections flow from the input layer to the output layer without any feedback loops. In this analysis, the input layer contains the predictors. The hidden layer contains unobservable nodes or units. The value of each hidden unit is some function of the predictors; the exact form of the function depends in part upon the network type and in part upon user-controllable specifications. The last layer is the output layer contains the responses. Since the history of default is a categorical variable with two categories, it is recorded as two indicator variables. Each output unit is some function of the hidden units. Again, the exact form of the function depends partly on the network type and controllable specifications. There are 11 units (measured parameters) in the input layer (layer containing factors for predicting HD from control and patients with inflammation).

In NN#1, the hyperbolic tangent and identity were used as activation functions in the hidden layers, and identity was used in the output layer to train this model, which has two hidden layers with two units in layer 1 and two units in layer 2. The area under the curve (AUC) of the receiver operating characteristic (ROC) was 0.907, with a sensitivity of 89.2% and a specificity of 100%, in each of the three sets of data. These results showed the model's poor sensitivity in predicting HD+CRP without entering CRP as an input factor. However, Fig. 1 shows the significance of each model's input variable in terms of the model's predictive ability. In terms of predictive capability, the top four predicting variables (effect > 50%) for the prediction of high risk of inflammation in HD patients are MMP3 (100%) followed by creatinine (87.1%), duration of disease (73.0%), and total calcium (70.7%).

In NN#2, two hidden layers with four units in layer 1 and three in layer 2 were used. The AUC of the ROC was 98.9%, with a sensitivity of 100% and a specificity of 97.1%, in each of the three sets of data. These results showed a great sensitivity of the model in predicting HD patients from the control group. The top four predicting variables for the prediction of high risk of inflammation in HD patients are urea (100%), creatinine (100%), MMP3 (59.7%), and vitamin D (57.1%), as presented in Fig. 2.

Discussion

Comparison study. Beyond the routinely increased parameters in HD, Table 1 shows that patients with higher disease duration have more inflammation. The longer duration of the disease is associated with inflammation [39]. It is suggested that inflammatory status and duration of dialysis treatment are the most important factors relating to oxidative stress in HD

Table 1. Demographic and clinical data of healthy controls (HC) and HD patients

Variables	HC (A) n = 30	HD-CRP (B) n = 28	HD+CRP (C) n = 32	F/ χ^2	p
Age, Yr.	47.27±7.177	45.93±8.959	46.83±11.390	0.159	0.853
Sex (Female/Male)	10/20	13/15	16/16	1.910	0.385
Duaction of HD, Yr.	–	2.743±2.751 ^C	3.293±2.684 B	12.238	< 0.001
BMI kg/m ²	28.353±6.241 ^{B,C}	24.717±4.272 ^A	25.092±3.687 ^A	5.085	0.008
Smoking (Yes/No)	29/1	27/1	31/1	0.009	0.995
Family history N/Y	30/0	26/2	28/4	3.903	0.142
Creatinine, mg/dl	0.710 (0.460–1.011) ^{B,C}	8.600 (2.500–11.700) ^A	8.500 (6.400–10.800) ^A	KWT	< 0.001
Urea, mg/dl	26.500 (23.00–35.000) ^{B,C}	151.500 (65.000–178.000) ^A	156.000 (146.000–183.000) ^A	KWT	< 0.001
Pi, mg/dl	5.052±0.782 ^{B,C}	6.883±0.981 ^A	7.386±0.873 ^A	58.139	< 0.001
Uric acid, mg/dl	4.733±0.946 ^{B,C}	5.723±1.631 ^A	5.480±1.578 ^A	3.472	0.037
Glucose, mM	5.415±0.783 ^{B,C}	5.624±0.634 ^A	6.097±1.098 ^A	4.951	0.009
Albumin, g/l	43.426±6.800	43.858±6.360	46.474±7.036	1.798	0.172
Magnesium, mM	0.850±0.256	0.898±0.220	0.882±0.224	0.328	0.721
Ionized Mg, mM	0.600±0.169	0.632±0.145	0.621±0.148	0.328	0.721
Calcium, mM	2.246±0.171 ^B	2.224±0.167	2.141±0.185 ^A	3.321	0.046
Ionized Ca, mM	1.195±0.047 ^B	1.184±0.044	1.166±0.052 ^A	3.318	0.047
Total Ca/Mg	2.952±1.156	2.568±0.888	2.683±0.710	1.329	0.270
Ionized Ca/Mg	2.188±0.762	1.960±0.562	2.012±0.179	1.140	0.324
Vitamin D, ng/ml	10.829 (9.769–12.242) ^{B,C}	8.329 (7.459–8.954) ^A	7.772 (6.957–9.097) ^A	KWT	< 0.001
MMP3, ng/ml	46.501 (27.977–73.388) ^C	56.801 (29.611–108.709) ^C	120.654 (75.062–137.677) ^{A,B}	KWT	< 0.001
TIMP1, ng/ml	530.356 (154.406–876.295)	723.397 (174.315–1032.735)	693.449 (386.984–878.771)	KWT	0.556
eGFR, ml/min	108.073 (91.627–120.676) ^{B,C}	7.029 (4.744–10.885) ^A	6.432 (5.101–10.277) ^A	KWT	< 0.001

Note. A, B, C: Pair-wise comparison, BMI: Body mass index, Pi: inorganic phosphate, KWT: Kruskal–Wallis test, eGFR: estimated glomerular filtration rate, MMP3: matrix metalloproteinase-3, TIMP1: tissue inhibitor of metalloproteinases-1. Results are expressed as mean ± standard deviation for the normally distributed variables, or median (25%–75% interquartiles) for non-normally distributed variables. Categorical variables are expressed as ratios.

patients [36]. The greater serum creatinine levels and a longer duration of illness were associated with larger tubulointerstitial inflammatory cell infiltrates in CKD and diabetic nephropathy in human kidney biopsy specimens [7].

Total and ionized calcium are significantly lower in HD+CRP than in the HD–CRP group. Serum urea, creatinine, uric acid, potassium and phosphate levels, and urine proteins were significantly higher, while serum albumin and calcium were significantly lower in CKD patients [10]. Abnormal calcium and phosphate metabolism have been proposed to explain this greater risk of CVD [46]. Low PTH and calcium levels are associated with mortality [4]. Vascular calcification was considered an imbalance between the inhibitors and promoters of osteogenesis initiated in vessels by uremic factors of CKD patients [55]. Consistently, the risk of cardiovascular death associated with hyperphosphatemia is attenuated among hemodialysis patients with high serum magnesium levels, whereas this risk is exacerbated among low serum magnesium levels [44].

Due to low serum calcium, CKD patients begin dialysis with vitamin D supplementation, calcium-based phosphate binders, and dialysate calcium. Dialysis increases serum calcium levels [31]. However, serum phosphate levels rose throughout this time, and comorbidity was related to higher calcium and phosphate levels [31]. In a common population, long-term dialysis users had increased phosphate levels [6]. Vitamin D drugs like

calcitriol improve intestine absorption of serum phosphate, which rises the following dialysis. Loss of residual renal function may increase phosphate levels [13].

Another important finding of the present study is the increase in MMP3 in HD patients with inflammation compared to the controls. Albumin increases TIMP1 production [40]. Therefore, the lack of significant difference between study groups may be due to the compensation of the possible increase in TIMP1 by the decrease in albumin level in HD patients. Previous work showed that increased TIMP1 level is an independent predictor of increased hospitalization and mortality of patients with CHF regardless of renal function [24]. Therefore it is not dependent on renal function and not increased in HD patients as seen in our research. However, an increase in TIMP1 level is associated with the development of endothelial dysfunction in both groups [34]. Evidence suggests that MMP3 plays an inductive role in acute kidney injury induced by ischemia and reperfusion [27]. MMP3 level is significantly higher, while vitamin D is significantly lower in the HD+CRP group compared with both groups. BMI is significantly lower in patient groups than in the control group. Serum urea, creatinine, Pi, uric acid, and glucose are significantly higher in HD groups compared with the control groups. Serum urea, creatinine, uric acid, potassium and phosphate levels, and urine proteins were significantly higher, while serum albumin and calcium were significantly lower in CKD patients [10].

MMP9 and TIMP1 were elevated in renal patients compared to controls. Logistic regression analyses disclosed galectin-3, MMP9, pentraxin-3, and glomerular filtration associations with calculated CVD risk scores. Combined testing of pentraxin-3, galectin-3, MMP9, and glomerular filtration rate can discriminate among renal patients with high and low risk

of coronary events [32]. The MMP3 level higher than 9.3 ng/mL had a lower survival rate. MMP3 baseline level in patients with a history of CAD is a potential predictor for cardiovascular outcomes [16].

Correlation study. The correlation study in Table 2 showed various correlation coefficients that, in general, are produced by the effect of vitamin D or MMP3 and its inhibitor TIMP1 and their effect on the inflammation and overall health status of HD patients. There was a positive correlation between glomerular filtration rate and MMP3 activity in diabetic patients. Thus MMP3 may have a role in the pathogenesis of diabetic nephropathy progressions toward macroalbuminuria, and therefore, MMP3 activity may be used in evaluating albuminuria status [3]. The correlation analysis with biological parameters showed that MMP3 correlated significantly with uric acid [16]. A previous study showed a negative correlation between the eGFR and MMP2, MMP3, and TIMP2 and a positive correlation between creatinine and MMP3 levels, indicating the role of MMPs and TIMP2 in renal dysfunction. The serum level of urea is correlated with MMP3 [23]. Calcium signaling is critical for the proteolytic activity of MMP3 [17]. two putative Ca²⁺ binding sites were found in the catalytic domain of MMP3 and several other members of the MMP gene family. These putative Ca²⁺ binding sites are postulated to play an important role in stabilizing active MMP3 and other members of the MMPs gene family by protecting them against autolysis [19].

Previously, inflammatory response and MMP genes were modulated by the dropin and spexin that protect against inflammation and CKD [58]. MMP3

Table 2. Correlation matrix of MMP3, TIMP1, and vitamin D with all parameters

Parameters	Vitamin D	MMP3	TIMP1
Sex	0.175	0.005	0.003
Age	0.091	-0.099	0.092
Smoking	-0.106	0.075	0.192
Duration of HD	-0.603**	0.165	0.134
BMI	0.216*	0.021	0.011
Creatinine	-0.518**	0.238*	0.072
Urea	-0.482**	0.273**	0.148
Pi	-0.552**	0.324**	0.222*
Uric acid	0.018	0.161	0.168
Vitamin D	1.000	-0.221*	-0.128
Albumin	-0.012	0.154	-0.129
Magnesium	-0.027	0.022	-0.123
Ionized Mg	-0.027	0.022	-0.123
Calcium	0.215*	-0.021	0.043
Ionized Ca	0.222*	-0.051	0.082
Total Ca/Mg	0.104	-0.023	0.127
Ionized Ca/Mg	0.071	-0.029	0.131
CRP	-0.507**	0.425**	0.279**
MMP3	-0.221*	1.000	0.134
TIMP1	-0.128	0.134	1.000

Note. * p < 0.05, ** p < 0.01, CRP: C-reactive protein, BMI: Body mass index, Pi: inorganic phosphate, eGFR: estimated glomerular filtration rate, MMP3: matrix metalloproteinase-3, TIMP1: tissue inhibitor of metalloproteinases-1.

Table 3. Results of neural networks (NN). NN#1 was made with HD+CRP vs HD-CRP as output variables. NN#2 was made with HD vs healthy controls

	Models	NN#1 HD+CRP vs HD-CRP	NN#2 HD vs Healthy controls
Input Layer	Number of units	11 parameters	11 parameters
	Rescaling method	Normalized	Normalized
Hidden layers	Number of hidden layers	2	2
	Number of units in hidden layer 1	2	4
	Number of units in hidden layer 2	2	3
	Activation Function	Hyperbolic tangent	Hyperbolic tangent
Output layer	Dependent variables	HD+CRP vs HD-CRP	HD vs Healthy controls
	Number of units	2	2
	Activation function	Identity	Identity
	Error function	Sum of squares	Sum of squares
Training	Sum of squares error term	5.530	3.594
	% incorrect or relative error	33.3%	6.5%
	Prediction (sens-spec)	56.3%-78.6%	95.0%-92.9%
Testing	Sum of Squares error	4.985	1.459
	% incorrect or relative error	36.4%	5.6%
	Prediction (sens-spec)	46.2%-88.9%	100%-91.7%
	AUC ROC	76.7%-76.7%	96.2%-96.9%
Holdout	% incorrect or relative error	37.5%	0%
	Prediction (sens-spec) or correlation with predicted value	33.3%-80.0%	100%-100%

Note. AUC ROC: area under Receiver Operating curve; sen-spec: sensitivity-specificity.

serum levels increase in parallel with the elevated circulating levels of IL-6. Serum MMP3 may be a useful predictor of chronic inflammation and osteoarticular disorders in dialysis-related amyloidosis patients [20]. Studies have shown that MMP2, MMP9, and TIMP1 and TIMP2 also play an important role in the pathogenesis of renal damage [15]. A negative correlation between the eGFR and MMP2, MMP3, and TIMP2 and a positive correlation between creatinine and MMP3 levels indicate the role of MMPs and TIMP2 in renal dysfunction [23]. MMP3 is associated with inflammation, and most inflammatory disorders are associated with changes in MMP3 [25, 48, 52, 59]. Inorganic phosphate (Pi) significantly increased MMP3 protein as a signaling molecule [43]. It appears that serum levels of MMP3 reflect positively rheumatoid arthritis disease activity, joint and bone injury, and radiological erosion and predict disease outcome and drug responsiveness [25]. Also, MMP3 is associated with calcium levels, and serum MMP3 levels may be used as an indicator for structural damage, such as erosions in the early stages of the disease, and to monitor disease activity [1, 49]. The data indicated measurable differences in the expression of MMPs within the dialysis patient population. Because dialysis can be associated with local and systemic inflammation, increased levels of MMP3 in the hemodialysis group may reflect gene stimulation induced by inflammatory cytokines and should be considered a marker of chronic, local inflammation [37]. MMP3 significantly and positively correlated with serum creatinine [41]. The mean expression of MMP2, MMP9, TIMP1, ADAMTS-1, and FSP-1 was significantly higher in the fibrotic kidney compared with the normal kidney [56].

The NN analysis. The other important findings of the present study are the results of NN studies in Table 3. The measured parameters have a moderate sensitivity with excellent specificity for the prediction of HD+CRP versus HD-CRP. Figure 1 shows the top four predicting variables for predicting a high risk of inflammation in HD patients, which are MMP3 followed by creatinine, duration of disease, and total calcium. While NN#2 showed a great sensitivity of the model in predicting HD patients from the control group with the usual biomarkers of HD (urea and creatinine). However, MMP3 and vitamin D also act as possible predictive variables. Various metabolites may generate or be absorbed due to elevated serum urea levels, which probably lead to malnutrition, inflammation, and uremic toxicity [12]. TIMP1 is expressed in human glomeruli and is upregulated in glomerulosclerosis [9]. In clinical studies, patients with diabetic kidney diseases have been shown to have abnormalities in MMP/TIMP modulation. In patients with DKD, increasing glomerular lesions have been associated with reductions in serum TIMP1 and TIMP2 levels and increases in serum and urine TIMP1 levels [35, 42]. The induction of the decrease in serum MMP9 and MMP3 levels is one of the possible mechanisms responsible for the decrease in urea levels [50]. There was a significant positive correlation between the total score of kidney injury molecule 1 (KIM-1) expression and kidney function parameters for AKI, including serum creatinine and blood urea. In addition, strong positive correlations were found between the total score of KIM-1 expression and proximal tubular necrosis and MMP3 expression. The KIM-1 shedding might be stimulated by MMP3 [38].

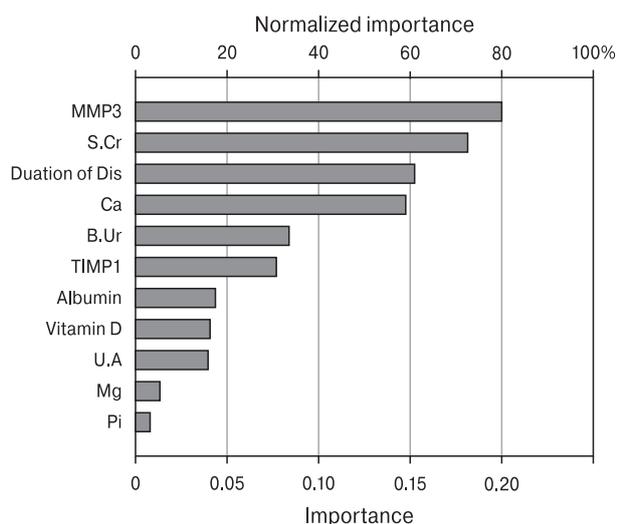


Figure 1. Results of neural network 1 (NN#1) (importance chart) with HD+CRP and HD-CRP as output variables and biomarkers as input variables

Note. B.ur — Blood urea, Ca — calcium, eGFR — estimated glomerular filtration rate, Mg — Magnesium, Pi — inorganic phosphate, MMP3 — matrix metalloproteinase-3, S.Cr — serum creatinine, TIMP1 — tissue inhibitor of metalloproteinases-1, U.A. — uric acid.

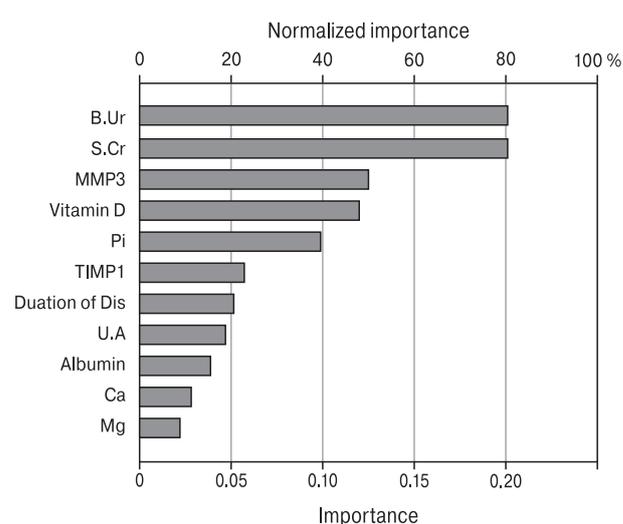


Figure 2. Results of neural network 2 (NN#2) (importance chart) with HD and healthy controls as output variables and biomarkers as input variables

Note. B.ur — Blood urea, Ca — calcium, eGFR — estimated glomerular filtration rate, Mg — Magnesium, Pi — inorganic phosphate, MMP3 — matrix metalloproteinase-3, S.Cr — serum creatinine, TIMP1 — tissue inhibitor of metalloproteinases-1, U.A. — uric acid.

Conclusion

The NN model can predict the existence of inflammation in HD patients with a 89.2% sensitivity and 100% specificity utilizing the impacts of MMP3 (100%) and creatinine (87.1%). Compared to the other groups, inflammation is linked to prolonged disease duration, higher MMP3 levels, lower total and ionized calcium, and lower vitamin D levels. TIMP1 and CRP positivity are related. MMP3 and HD duration are negatively affected by vitamin D. Significant correlations between MMP3 and urea, creatinine, and CRP were found. The measured values have 100% sensitivity and 97.1% specificity for predicting HD. MMP3 and HD inflammation are related. At

the very least, via their relationship with the inflammation in HD, MMP3 is connected to the pathogenesis of the disease.

Additional information

Conflict of interest. The authors have no financial or any conflict of interest.

Funding. There was no specific funding for this specific study.

Authorships. All authors contributed significantly to the paper and approved the final version.

Acknowledgments. The authors wish to express their gratitude for the highly skilled work of the Asia Laboratory's staff in measuring the biomarkers.

References

1. Abdalsada H.K., Hadi H.H., Almulla A.F., Najm A.H., Al-Isa A., Al-Hakeim H.K. Correlation of Stromelysin-1 and tissue inhibitor of Metalloproteinase-1 with lipid profile and atherogenic indices in end-stage renal disease patients: a neural network study. *Pertanika J. Sci. & Technol.*, 2023, vol. 31, no. 4, pp. 2067–2087. doi: 10.47836/pjst.31.4.27
2. Agarwal R. Defining end-stage renal disease in clinical trials: a framework for adjudication. *Nephrol Dial Transplant.*, 2016, vol. 31, iss. 6, pp. 864–867. doi: 10.1093/ndt/gfv289
3. Amanzadeh M., Mota A., Zarghami N., Abedi-Azar S., Abroon S., Akbarian N., Mihanfar A., Rahmati-Yamchi M. Association between matrix Metalloproteinase-3 activity and glomerular filtration rate and albuminuria status in patients with type 2 diabetes mellitus. *Iran J. Kidney Dis.*, 2018, vol. 12, no. 1, pp. 40–47.
4. Avram M.M., Mittman N., Myint M.M., Fein P. Importance of low serum intact parathyroid hormone as a predictor of mortality in hemodialysis and peritoneal dialysis patients: 14 years of prospective observation. *Am. J. Kidney Dis.*, 2001, vol. 38, iss. 6, pp. 1351–1357. doi: 10.1053/ajkd.2001.29254
5. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J. R. Stat. Soc. Series B Stat. Methodol.*, 1995, vol. 57, iss. 1, pp. 289–300. doi: 10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x
6. Block G.A., Klassen P.S., Lazarus J.M., Ofsthun N., Lowrie E.G., Chertow G.M. Mineral metabolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2004, vol. 15, iss. 8, pp. 2208–2218. doi: 10.1097/01.ASN.0000133041.27682.A2
7. Bohle A., Wehrmann M., Bogenschütz O., Batz C., Müller C.A., Müller G.A. The pathogenesis of chronic renal failure in diabetic nephropathy. Investigation of 488 cases of diabetic glomerulosclerosis. *Pathol. Res. Pract.*, 1991, vol. 187, iss. 2–3, pp. 251–259. doi: 10.1016/s0344-0338(11)80780-6
8. Cantaluppi V., Quercia A.D., Dellepiane S., Ferrario S., Camussi G., Biancone L. Interaction between systemic inflammation and renal tubular epithelial cells. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2014, vol. 29, no. 11, pp. 2004–2011. doi: 10.1093/ndt/gfu046
9. Carome M.A., Striker L.J., Peten E.P., Moore J., Yang C.W., Stetler-Stevenson W.G., Striker G.E. Human glomeruli express TIMP-1 mRNA and TIMP-2 protein and mRNA. *Am. J. Physiol.*, 1993, vol. 264, no. 6, pt 2: F923–F929. doi: 10.1152/ajprenal.1993.264.6.F923
10. Chen D.Q., Cao G., Chen H., Liu D., Su W., Yu X-Y., Vaziri N.D., Liu X-H., Bai X., Zhang L., Zhao Y-Y. Gene and protein expressions and metabolomics exhibit activated redox signaling and wnt/ β -catenin pathway are associated with metabolite dysfunction in patients with chronic kidney disease. *Redox. Biol.*, 2017, vol. 12, pp. 505–521. doi: https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.03.017
11. Clemmer J.S., Shafi T., Obi Y. Physiological mechanisms of hypertension and cardiovascular disease in end-stage kidney disease. *Curr. Hypertens. Rep.*, 2022, vol. 24, no. 10, pp. 413–424. doi: 10.1007/s11906-022-01203-7
12. Crespo-Salgado J., Vehaskari V.M., Stewart T., Ferris M., Zhang Q., Wang G., Blanchard E.E., Taylor C.M., Kallash M., Greenbaum L.A., Aviles D.H. Intestinal microbiota in pediatric patients with end stage renal disease: a Midwest Pediatric Nephrology Consortium study. *Microbiome*, 2016, vol. 4, no. 1: 50. doi: 10.1186/s40168-016-0195-9
13. DeSoi C.A., Umans J.G. Phosphate kinetics during high-flux hemodialysis. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 1993, vol. 4, no. 5, pp. 1214–1218. doi: 10.1681/ASN.V451214
14. Eguchi T., Kubota S., Kawata K., Mukudai Y., Uehara J., Ohgawara T., Ibaragi S., Sasaki A., Kuboki T., Takigawa M. Novel transcription-factor-like function of human matrix metalloproteinase 3 regulating the CTGF/CCN2 gene. *Mol. Cell. Biol.*, 2008, vol. 28, no. 7, pp. 2391–2413. doi: 10.1128/MCB.01288-07
15. Gluba-Brzózka A., Michalska-Kasiczak M., Franczyk-Skóra B., Nocuń M., Banach M., Rysz J. Markers of increased cardiovascular risk in patients with chronic kidney disease. *Lipids Health Dis.*, 2014, vol. 13: 135. doi: 10.1186/1476-511X-13-135
16. Guizani I., Zidi W., Zayani Y., Boudiche S., Hadj-Taieb S., Sanhaji H., Zaroui A., Mechmeche R., Mourali M.S., Feki M., Allal-Elasmi M. Matrix metalloproteinase-3 predicts clinical cardiovascular outcomes in patients with coronary artery disease: a 5 years cohort study. *Mol. Biol. Rep.*, 2019, vol. 46, no. 5, pp. 4699–4707. doi: 10.1007/s11033-019-04914-4
17. Hadi T., Boytard L., Silvestro M., Alebrahim D., Jacob S., Feinstein J., Barone K., Spiro W., Hutchison S., Simon R., Rateri D., Pinet F., Fenyó D., Adelman M., Moore K.J., Eltzschig H.K., Daugherty A., Ramkhalawon B. Macrophage-derived netrin-1 promotes abdominal aortic aneurysm formation by activating MMP3 in vascular smooth muscle cells. *Nat. Commun.*, 2018, vol. 9, no. 1: 5022. doi: 10.1038/s41467-018-07495-1
18. Hendriks F.K., Koeman J.P., van Loon L.J.C. Dietary protein interventions to improve nutritional status in end-stage renal disease patients undergoing hemodialysis. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 2021, vol. 24, no. 1, pp. 79–87. doi: 10.1097/MCO.0000000000000703

19. Housley T.J., Baumann A.P., Braun I.D., Davis G., Seperack P.K., Wilhelm S.M. Recombinant Chinese hamster ovary cell matrix metalloprotease-3 (MMP-3, stromelysin-1). Role of calcium in promatrix metalloprotease-3 (pro-MMP-3, prostromelysin-1) activation and thermostability of the low mass catalytic domain of MMP-3. *J. Biol. Chem.*, 1993, vol. 268, no. 6, pp. 4481–4487. doi: 10.1016/S0021-9258(18)53634-6
20. Ishizaki M., Matsunaga T., Adachi K., Miyashita E. Serum matrix metalloproteinase-3 in hemodialysis patients with dialysis-related amyloidosis. *Hemodial. Int.*, 2004, vol. 8, no. 3, pp. 219–225. doi: 10.1111/j.1492-7535.2004.01099.x
21. Kanda H., Hirasaki Y., Iida T., Kanao-Kanda M., Toyama Y., Chiba T., Kunisawa T. Perioperative management of patients with end-stage renal disease. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.*, 2017, vol. 31, no. 6, pp. 2251–2267. doi: 10.1053/j.jvca.2017.04.019
22. Khokha R., Murthy A., Weiss A. Metalloproteinases and their natural inhibitors in inflammation and immunity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2013, vol. 13, no. 9, pp. 649–665. doi: 10.1038/nri3499
23. Kobusiak-Prokopowicz M., Kaaz K., Marciniak D., Karolko B., Mysiak A. Relationships between circulating matrix metalloproteinases, tissue inhibitor TIMP-2, and renal function in patients with myocarditis. *Kidney Blood. Press. Res.*, 2021, vol. 46, no. 6, pp. 749–757. doi: 10.1159/000519594
24. Kostov K., Blazhev A. Changes in serum levels of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in patients with essential hypertension. *Bioengineering (Basel)*. 2022, vol. 9, no. 3: 119. doi: 10.3390/bioengineering9030119
25. Lerner A., Neidhöfer S., Reuter S., Matthias T. MMP3 is a reliable marker for disease activity, radiological monitoring, disease outcome predictability, and therapeutic response in rheumatoid arthritis. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.*, 2018, vol. 32, no. 4, pp. 550–562. doi: 10.1016/j.berh.2019.01.006
26. Levey A.S., Coresh J., Greene T., Marsh J., Stevens L.A., Kusek J.W., Van Lente F.; Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration. Expressing the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate with standardized serum creatinine values. *Clin. Chem.*, 2007, vol. 53, no. 4, pp. 766–772. doi: 10.1373/clinchem.2006.077180
27. Lim A.I., Chan L.Y., Lai K.N., Tang S.C., Chow C.W., Lam M.F., Leung J.C. Distinct role of matrix metalloproteinase-3 in kidney injury molecule-1 shedding by kidney proximal tubular epithelial cells. *Int J. Biochem. Cell. Biol.*, 2012, vol. 44, no. 6, pp. 1040–1050. doi: 10.1016/j.biocel.2012.03.015
28. Luczynszyn S.M., de Souza C.M., Braosi A.P., Dirschnabel A.J., Claudino M., Repeke C.E., Fauz F.R., Garlet G.P., Pecoits-Filho R., Trevilatto P.C. Analysis of the association of an MMP1 promoter polymorphism and transcript levels with chronic periodontitis and end-stage renal disease in a Brazilian population. *Arch. Oral. Biol.*, 2012, vol. 57, no. 7, pp. 954–963. doi: 10.1016/j.archoralbio.2012.01.013
29. Lynch C.C., Matrisian L.M. Matrix metalloproteinases in tumor-host cell communication. *Differentiation*, 2002, vol. 70, no. 9–10, pp. 561–573. doi: 10.1046/j.1432-0436.2002.700909.x
30. Matulka M., Konopka A., Mroczo B., Pryczynicz A., Kemon A., Groblewska M., Sieskiewicz A., Olszewska E. Expression and concentration of matrix metalloproteinase 9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases 1 in laryngeal squamous cell carcinoma. *Dis. Markers*, 2019, vol. 2019: 3136792. doi: 10.1155/2019/3136792
31. Melamed M.L., Eustace J.A., Plantinga L., Jaar B.G., Fink N.E., Coresh J., Klag M.J., Powe N.R. Changes in serum calcium, phosphate, and PTH and the risk of death in incident dialysis patients: a longitudinal study. *Kidney Int.*, 2006, vol. 70, no. 2, pp. 351–357. doi: 10.1038/sj.ki.5001542
32. Miljković M., Stefanović A., Bogavac-Stanojević N., Simić-Ogrizović S., Dumić J., Černe D., Jelić-Ivanović Z., Kotur-Stevuljević J. Association of Pentraxin-3, Galectin-3 and Matrix Metalloproteinase-9/Timp-1 with cardiovascular risk in renal disease patients. *Acta Clin. Croat.*, 2017, vol. 56, no. 4, pp. 673–680. doi: 10.20471/acc.2017.56.04.14
33. Modi Z.J., Lu Y., Ji N., Kapke A., Selewski D.T., Dietrich X., Abbott K., Nallamothu B.K., Schaubel D.E., Saran R., Gipson D.S. Risk of cardiovascular disease and mortality in young adults with end-stage renal disease: an analysis of the us renal data system. *JAMA Cardiol.*, 2019, vol. 4, no. 4, pp. 353–362. doi: 10.1001/jamacardio.2019.0375
34. Mora-Gutiérrez J.M., Fernández-Seara M.A., Slon Roblero M.F., Gonzalez O., Escalada F.J., Soler M.J., Páramo J.A., Garcia-Fernandez N. SP453 matrix metalloproteinase-10 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) as early predictors of nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2018, vol. 33, iss. suppl_1: i500-i. doi: 10.1093/ndt/gfy104.SP453
35. Mora-Gutiérrez J.M., Rodríguez J.A., Fernández-Seara M.A., Orbe J., Escalada F.J., Soler M.J., Slon Roblero M.F., Riera M., Páramo J.A., Garcia-Fernandez N. MMP-10 is increased in early stage diabetic kidney disease and can be reduced by renin-angiotensin system blockade. *Sci. Rep.*, 2020 vol. 10, no. 1: 26. doi: 10.1038/s41598-019-56856-3
36. Nguyen-Khoa T., Massy Z.A., De Bandt J.P., Kebede M., Salama L., Lambrey G., Witko-Sarsat V., Drüeke T.B., Lacour B., Thévenin M. Oxidative stress and haemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis treatment. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2001, vol. 16, no. 2, pp. 335–340. doi: 10.1093/ndt/16.2.335
37. Preston G.A., Barrett C.V., Alcorta D.A., Hogan S.L., Dinwiddie L., Jennette J.C., Falk R.J. Serum matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-3 levels in dialysis patients vary independently of CRP and IL-6 levels. *Nephron*, 2002, vol. 92, no. 4, pp. 817–823. doi: 10.1159/000065464
38. Punsawad C., Viriyavejakul P. Increased expression of kidney injury molecule-1 and matrix metalloproteinase-3 in severe Plasmodium falciparum malaria with acute kidney injury. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, 2017, vol. 10, no. 7, pp. 7856–7864.
39. Rashpa R.S., Mahajan V.K., Kumar P., Mehta K.S., Chauhan P.S., Rawat R., Sharma V. Mucocutaneous manifestations in patients with chronic kidney disease: a cross-sectional study. *Indian Dermatol. Online J.*, 2018, vol. 9, no. 1, pp. 20–26. doi: 10.4103/idoj.IDOJ_160_17
40. Ralay Ranaivo H., Hodge J.N., Choi N., Wainwright M.S. Albumin induces upregulation of matrix metalloproteinase-9 in astrocytes via MAPK and reactive oxygen species-dependent pathways. *J. Neuroinflammation*, 2012, vol. 9: 68. doi: 10.1186/1742-2094-9-68
41. Rymarz A., Mosakowska M., Niemczyk S. The significance of metalloproteinase 3 (MMP-3), chemokine CXCL13 (CXCL-13) and complement component C5a in different stages of ANCA associated vasculitis. *Sci. Rep.*, 2021, vol. 11, no. 1: 5132. doi: 10.1038/s41598-021-84662-3
42. Rysz J., Banach M., Stolarek R.A., Pasnik J., Cialkowska-Rysz A., Koktysz R., Piechota M., Baj Z. Serum matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 and metalloproteinase tissue inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 in diabetic nephropathy. *J. Nephrol.*, 2007, vol. 20, no. 4, pp. 444–452.
43. Sabbagh Y. Phosphate as a sensor and signaling molecule. *Clin. Nephrol.* 2013, vol. 79, no. 1, pp. 57–65. doi: 10.5414/CN107322

44. Sakaguchi Y., Hamano T., Isaka Y. Magnesium in hemodialysis patients: a new understanding of the old problem. *Contrib. Nephrol.*, 2018, vol. 196, pp. 58–63. doi: 10.1159/000485700
45. Saran R., Robinson B., Abbott K.C., Agodoa L.Y., Albertus P., Ayanian J., Balkrishnan R., Bragg-Gresham J., Cao J., Chen J.L., Cope E., Dharmarajan S., Dietrich X., Eckard A., Eggers P.W., Gaber C., Gillen D., Gipson D., Gu H., Hailpern S.M., Hall Y.N., Han Y., He K., Hebert H., Helmuth M., Herman W., Heung M., Hutton D., Jacobsen S.J., Ji N., Jin Y., Kalantar-Zadeh K., Kapke A., Katz R., Kovesdy C.P., Kurtz V., Lavalee D., Li Y., Lu Y., McCullough K., Molnar M.Z., Montez-Rath M., Morgenstern H., Mu Q., Mukhopadhyay P., Nallamothu B., Nguyen D.V., Norris K.C., O'Hare A.M., Obi Y., Pearson J., Pisoni R., Plattner B., Port F.K., Potukuchi P., Rao P., Ratkowiak K., Ravel V., Ray D., Rhee C.M., Schaubel D.E., Selewski D.T., Shaw S., Shi J., Shieu M., Sim J.J., Song P., Soohoo M., Steffick D., Streja E., Tamura M.K., Tentori F., Tilea A., Tong L., Turf M., Wang D., Wang M., Woodside K., Wyncott A., Xin X., Zang W., Zepel L., Zhang S., Zho H., Hirth R.A., Shahinian V. US renal data system 2016 annual data report: epidemiology of kidney disease in the United States. *Am. J. Kidney Dis.*, 2017, vol. 69, no. 3, suppl. 1, pp. A7–A8. doi: 10.1053/j.ajkd.2016.12.004
46. Sarnak M.J. Cardiovascular complications in chronic kidney disease. *Am. J. Kidney Dis.*, 2003, vol. 41, suppl. 5, pp. 11–17. doi: 10.1016/s0272-6386(03)00372-x
47. Shi S., Su M., Shen G., Hu Y., Yi F., Zeng Z., Zhu P., Yang G., Zhou H., Li Q., Xie X. Matrix metalloproteinase 3 as a valuable marker for patients with COVID-19. *J. Med. Virol.*, 2021, vol. 93, no. 1, pp. 528–532. doi: 10.1002/jmv.26235
48. Siloși I., Boldeanu M.V., Mogoantă S.Ș., Ghiluiș M., Cojocaru M., Biciușcă V., Cojocaru I.M., Avrămescu C.S., Gheonea D.I., Siloși C.A., Turculeanu A. Matrix metalloproteinases (MMP-3 and MMP-9) implication in the pathogenesis of inflammatory bowel disease (IBD). *Rom. J. Morphol. Embryol.*, 2014, vol. 55, no. 4, pp. 1317–1324.
49. Tuncer T., Kaya A., Gulkesen A., Kal G.A., Kaman D., Akgol G. Matrix metalloproteinase-3 levels in relation to disease activity and radiological progression in rheumatoid arthritis. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2019, vol. 28, no. 5, pp. 665–670. doi: 10.17219/acem/94065
50. Vaidya H., Giri S., Jain M., Goyal R. Decrease in serum matrix metalloproteinase-9 and matrix metalloproteinase-3 levels in Zucker fa/fa obese rats after treatment with swertiamarin. *Exp. Clin. Cardiol.*, 2012, vol. 17, no. 1, pp. 12–16.
51. Wan C.Y., Li L., Liu L.S., Jiang C.M., Zhang H.Z., Wang J.X. Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases during apical periodontitis development. *J. Endod.*, 2021, vol. 47, no. 7, pp. 1118–1125. doi: 10.1016/j.joen.2021.04.005
52. Wanchaitanawong W., Tantiworawit A., Piriyahtorn P., Rattanathammethee T., Hantrakool S., Chai-Adisaksotha C., Rattarittamrong E., Norasetthada L., Niprapan P., Fahnchaksai K., Charoenkwan P. The association between pre-transfusion hemoglobin levels and thalassemia complications. *Hematology*, 2021, vol. 26, no. 1, pp. 1–8. doi: 10.1080/16078454.2020.1856513
53. Warner R.B., Najy A.J., Jung Y.S., Fridman R., Kim S., Kim H.C. establishment of structure–function relationship of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 for its interaction with CD63: implication for cancer therapy. *Sci. Rep.*, 2020, vol. 10, no. 1: 2099. doi: 10.1038/s41598-020-58964-x
54. Warner R.L., Bhagavathula N., Nerusu K.C., Lateef H., Younkin E., Johnson K.J., Varani J. Matrix metalloproteinases in acute inflammation: induction of MMP-3 and MMP-9 in fibroblasts and epithelial cells following exposure to pro-inflammatory mediators in vitro. *Exp. Mol. Pathol.*, 2004, vol. 76, no. 3, pp. 189–195. doi: 10.1016/j.yexmp.2004.01.003
55. Wu C.F., Hou J.S., Wang C.H., Lin Y.L., Lai Y.H., Kuo C.H., Liou H.H., Tsai J.P., Hsu B.G. Serum sclerostin but not DKK-1 correlated with central arterial stiffness in end stage renal disease patients. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2020, vol. 17, no. 4: 1230. doi: 10.3390/ijerph17041230
56. Yang B., Vohra P.K., Janardhanan R., Misra K.D., Misra S. Expression of profibrotic genes in a murine remnant kidney model. *J. Vasc. Interv. Radiol.*, 2011, vol. 22, no. 12, pp. 1765–1772.e1. doi: 10.1016/j.jvir.2011.08.026
57. Yatsyshyn R., Salyzhyn T. The role of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in cardiac and blood vessels remodeling and in potential for survival in case of chronic heart failure of various origins. *Pharma Innov.*, 2016, vol. 5, iss. 10, pt. B, pp. 85–91.
58. Yazgan B., Avci F., Memi G., Tastekin E. Inflammatory response and matrix metalloproteinases in chronic kidney failure: modulation by adropin and spexin. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, 2021, vol. 246, no. 17, pp. 1917–1927. doi: 10.1177/15353702211012417
59. Zhu Q.Q., Li T.T., Chen R., Pan H.F., Tao J.H., Li X.P., Ye D.Q. Elevated serum levels of MMP-2, MMP-3, and MMP-13 in Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *Scand. J. Rheumatol.*, 2010, vol. 39, no. 5, pp. 439–441. doi: 10.3109/03009741003742789

Авторы:

Хади Х.Х., научный сотрудник кафедры химии факультета естественных наук Научного колледжа Университета Куфы, г. Куфа, Ирак;
Аль-Майали Х.Х., преподаватель Технического университета Аль-Фурат Аль-Аусат, г. Наджаф, Ирак;
Абдалсада Х.Х., доцент фармацевтического колледжа Университета Аль-Мутанна, Аль-Мутанна, Ирак;
Мустафа Ш.Р., профессор кафедры клинического анализа Фармацевтического колледжа Медицинского университета Хоулера, г. Хавалан, Ирак;
Алмулла А.Ф., доцент кафедры медицинских лабораторных технологий Колледжа медицинских технологий Исламского университета, г. Наджаф, Ирак;
Аль-Жакейм Х.К., профессор кафедры химии факультета естественных наук Научного колледжа Университета Куфы, г. Куфа, Ирак.

Authors:

Hadi H.H., Researcher, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kufa, Kufa, Iraq;
Al-Mayali H.H., Instructor, Al-Furat Al-Awsat Technical University, Najaf, Iraq;
Abdalsada H.K., Assistant Professor, College of Pharmacy, Al-Muthanna University, Al-Muthanna, Iraq;
Moustafa S.R., Professor, Clinical Analysis Department, College of Pharmacy, Hawler Medical University, Havalan, Iraq;
Almulla A.F., Assistant Professor, Medical Laboratory Technology Department, College of Medical Technology, The Islamic University, Najaf, Iraq;
Al-Hakeim H.K., Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kufa, Kufa, Iraq.

Поступила в редакцию 08.08.2023
 Отправлена на доработку 08.09.2023
 Принята к печати 22.09.2023

Received 08.08.2023
 Revision received 08.09.2023
 Accepted 22.09.2023

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА rs1800857 ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА-1А (IL1A) В РАЗВИТИИ САРКОИДОЗА ЛЕГКИХ (НА ПРИМЕРЕ ЖИТЕЛЕЙ КАРЕЛИИ)

И.Е. Малышева¹, Л.В. Топчиева¹, Э.Л. Тихонович²

¹ Институт биологии — обособленное подразделение ФГБУН Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», г. Петрозаводск, Россия

² Республиканская больница им. В.А. Баранова, г. Петрозаводск, Россия

Резюме. Актуальность проблемы исследования обоснована недостаточной изученностью механизмов генетической регуляции воспалительного иммунного ответа при формировании гранулемы и развитии воспаления при саркоидозе легких. Считается, что развитие воспалительного процесса и образование саркоидных гранул возникает у людей с генетически обусловленной чувствительностью к воздействию неустановленного этиологического агента(ов). Сложность выявления причинного фактора(ов) заключается в многообразии клинических форм и проявлений заболевания и вовлечении сложных иммунологических процессов в патогенез данного заболевания. Процесс воспаления, его интенсивность, может зависеть в том числе от генетического фона организма. У носителей определенных комбинаций аллельных вариантов генов может наблюдаться как увеличение, так и уменьшение продукции провоспалительных факторов. Это, в свою очередь, может определять восприимчивость людей к возникновению саркоидоза легких, а также изменять клинические характеристики течения данного заболевания и силу развития воспалительного ответа со стороны иммунной системы. Необходимо также отметить, что генетический фон различается в разных этнических группах. Следовательно, генетический фон и факторы окружающей среды, этническая принадлежность, могут определять различия в частоте заболевания и его фенотипе. В связи с этим является актуальным поиск аллельных вариаций генов, которые могли бы выступать в качестве прогностических маркеров развития и прогрессирования саркоидоза легких, а также характеризовали бы особенности его течения у пациентов. Сведения о связи носительства аллельных вариаций генов с восприимчивостью к саркоидозу легких, а также вклад полиморфного варианта rs1800857 гена *IL1A* в развитие, прогрессирование и терапию данного заболевания еще весьма малочисленны и зачастую противоречивы. В настоящем исследовании проведена оценка риска развития саркоидоза легких у русского населения Республики Карелия. Согласно результатам исследований, установлена значимая ассо-

Адрес для переписки:

Малышева Ирина Евгеньевна
185910, Россия, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11,
Институт биологии — обособленное подразделение
ФГБУН ФИЦ «Карельский научный центр» РАН.
Тел.: 8 (8142) 57-31-07. Факс: 8 (8142) 76-98-10.
E-mail: i.e.malysheva@yandex.ru

Contacts:

Irina E. Malysheva
185910, Russian Federation, Petrozavodsk, Pushkinskaya str., 11,
Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the RAS.
Phone: +7 (8142) 57-31-07. Fax: +7 (8142) 76-98-10.
E-mail: i.e.malysheva@yandex.ru

Для цитирования:

Малышева И.Е., Топчиева Л.В., Тихонович Э.Л. Прогностическая значимость генетического полиморфизма rs1800857 гена интерлейкина-1а (IL1A) в развитии саркоидоза легких (на примере жителей Карелии) // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 967–971. doi: 10.15789/2220-7619-PSO-9635

Citation:

Malysheva I.E., Topchieva L.V., Tikhonovich E.L. Prognostic significance of interleukin-1a (IL1A) rs1800857 genetic polymorphism in development of pulmonary sarcoidosis in residents of Karelia // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 967–971. doi: 10.15789/2220-7619-PSO-9635

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания Карельского научного центра Российской академии наук (тема FMEN-2022-0009).

Financial support of the research was provided from the federal budget funds for the state assignment of the Karelian Research Center of the Russian Academy of Sciences (topic FMEN-2022-0009).

циация ($p < 0,001$) указанного аллельного полиморфизма гена *IL1A* с саркоидозом легких. Риск развития данного заболевания повышен в 3,47 раза (95% ДИ 2,41–5,01) у носителей Т-аллеля по указанному полиморфизму гена *IL1A* ($p < 0,001$). Таким образом, однонуклеотидный полиморфизм rs1800857 гена *IL1A* связан с риском развития саркоидоза легких у русского населения Республики Карелия.

Ключевые слова: воспаление, гранулема, саркоидоз легких, цитокины, инфекционные агенты, полиморфизм генов, ген *IL1A*.

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF INTERLEUKIN-1A (*IL1A*) rs1800857 GENETIC POLYMORPHISM IN DEVELOP PULMONARY SARCOIDOSIS IN RESIDENTS OF KARELIA

Malysheva I.E.^a, Topchieva L.V.^a, Tikhonovich E.L.^b

^a Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation

^b V.A. Baranov Republican Hospital, Petrozavodsk, Russian Federation

Abstract. The relevance of the research problem is justified by insufficient knowledge of the mechanisms for genetic regulation of inflammatory immune response during granuloma formation and arising inflammation in pulmonary sarcoidosis. It is believed that development of inflammatory process and formation of sarcoid granulomas occurs in subjects with genetically determined sensitivity to the effects of an unidentified etiological agent(s). The complexity of determining a causative factor(s) is accounted for by a variety of clinical forms and manifestations of the disease as well as a role for multifaceted immunological events in the pathogenesis of this disease. The process of inflammation, its intensity, may depend, among other issues, on host genetic background. Both enhanced and lowered production of pro-inflammatory factors can be observed in carriers of certain combinations of gene allelic variants. This, in turn, may determine human susceptibility to emergence of pulmonary sarcoidosis as well as alter clinical characteristics of the disease course and magnitude of developing immune inflammatory response. It should also be noted that the genetic background differs in various ethnic groups. Therefore, genetic background and environmental cues, ethnicity, may account for differed disease prevalence and phenotype. In this regard, it is relevant to search for allelic gene variations that could act as prognostic markers for development and progression of pulmonary sarcoidosis as well as characterize the features of its course. The data on the relationship between the carriage of allelic gene variations and susceptibility to pulmonary sarcoidosis as well as the contribution of *IL1A* rs1800857 polymorphic variant to development, progression, and therapy of the disease remain sparse and often contradictory. The current study assessed a risk of lung sarcoidosis in the subjects of Russian descent of the Republic of Karelia. According to the results of the studies, a significant association ($p < 0.001$) between the indicated *IL1A* gene allelic polymorphism and pulmonary sarcoidosis was established, with a risk of its development increasing by 3.47-fold (95% CI 2.41–5.01) in carriers of the T allele ($p < 0.001$). Thus, the single nucleotide polymorphism rs1800857 in the *IL1A* gene is associated with the risk of developing lung sarcoidosis in the subjects of Russian descent of the Republic of Karelia.

Key words: inflammation, granuloma, lung sarcoidosis, cytokines, infectious agents, gene polymorphism, *IL1A* gene.

Введение

Исследования последних десятилетий свидетельствуют о важной роли инфекционных агентов в патогенезе саркоидоза легких (болезнь Бенъе—Бека—Шаумана). Данное заболевание относится к системным иммуновоспалительным гранулематозам и характеризуется образованием эпителиоидно-клеточных гранул во многих органах, преимущественно в легких и внутригрудных лимфатических узлах [1, 3]. В образцах жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) и в тканях, взятых от больных, а также в саркоидных гранулемах, обнаружены нуклеиновые кислоты и белки микроорганизмов [11, 15]. Кроме того, в клетках жидкости БАЛ больных саркоидозом легких выявлены изменения количества CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток в присутствии множества эпитопов бактерий [4, 11]. В качестве потенциальных инфекционных агентов наиболее вероятными возбудителями данного заболевания являются *Mycobacterium tuberculosis*

и *Propionibacterium acnes*. По результатам исследований у больных выявлен специфический иммунный ответ на микобактериальные антигены mKatG и ESAT-6 *M. tuberculosis* [12, 15]. Кроме того, более высокий уровень *P. acnes* обнаружен в средостенных или поверхностных лимфатических узлах пациентов с саркоидозом легких [12]. В исследовании Nishiwaki и соавт., проведенных с использованием мышинной модели показано, что увеличение рециркуляции чувствительных к *P. acnes* клеток при внелегочной сенсибилизации может вызывать гранулематозные изменения в легких. При этом проводимая антибактериальная терапия с целью эрадикации природных *P. acnes* существенно уменьшала поражение легких [10].

Полагают, что нарушение продукции цитокинов и хемокинов играет важную роль в патогенезе саркоидоза легких. На начальных стадиях развития заболевания отмечена поляризация иммунного ответа по Th1-типу. На более поздних стадиях, по мере прогрессирования пато-

логического процесса, характеризующегося фиброзными изменениями в легких, происходит переключение на Th2-тип иммунного ответа [5, 6]. Одним из важных провоспалительных цитокинов, вовлеченных в патогенез саркоидоза легких, является IL-1. Данный цитокин — один из ключевых модуляторов воспаления. Он оказывает профибротическое действие (индуцирует пролиферацию фибробластов) и вырабатывается лимфоцитами, макрофагами и моноцитами в ответ на микробные антигены [12]. К семейству IL-1 относятся такие белки, как IL-1 α , IL-1 β , антагонист рецептора IL-1 (IL-1Ra) [2]. Мутации в генах, кодирующих указанные белковые молекулы, могут оказывать влияние на развитие и прогрессирование патологического процесса при саркоидозе легких. Так, однонуклеотидные замены (Single nucleotide polymorphism, SNP), особенно в регуляторных областях генов, могут влиять на уровень их экспрессии и продукцию соответствующих белков. По данным литературы, к таким полиморфным вариантам, исследованным при саркоидозе, относятся IL-1 α -889, IL-1 β -511 и IL-1 β +3953 [8, 14]. Что касается саркоидоза легких, то данные проведенных исследований в различных этнических группах достаточно малочисленны и зачастую противоречивы. Поэтому цель настоящего исследования заключалась в изучении связи полиморфного маркера rs1800587 гена *IL1A* с развитием саркоидоза легких (на примере жителей Карелии).

Материалы и методы

В исследование включено 252 человека (130 человек из группы контроля (здоровые люди) (средний возраст — 43,0 \pm 14,23 года) и 122 больных саркоидозом легких, русского происхождения, проживающих в Республике Карелия (средний возраст — 41,0 \pm 12,56 года). Диагноз саркоидоза легких установлен на основании клинических рекомендаций Министерства здравоохранения РФ от 2022 г. У всех пациентов (100%) саркоидоз был

верифицирован гистологически на основании исследования биоптата. Добровольное информированное согласие получено от всех пациентов до проведения исследования. В качестве материала для генотипирования были использованы образцы периферической крови. Исследование выполнено с соблюдением этических норм согласно критериям Всемирной ассоциации медицинских редакторов (The World Association of Medical Editors — WAME), одобрено локальным этическим комитетом ГБУЗ «Республиканская больница им. В.А. Баранова» г. Петрозаводска (протокол № 96 от 11.07.2017).

Для выделения геномной ДНК из лейкоцитов периферической крови использовали набор «Analytik jena» (Германия). Генотипирование полиморфного маркера rs1800587 гена *IL1A* проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим анализом длин рестриционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ). ПЦР проводили на приборе iCycler iQ5 (Bio-Rad, США). Для амплификации использовали наборы «HS-Screen mix» и праймеры фирмы «Евроген» (Россия). Сиквенс праймеров указан в работе Trevilatto и соавт. [13]. ПЦР-продукты обрабатывали эндонуклеазой рестрикции Bsp 19 I (1 ед.а.) в течение 3 ч при 37°C. Фрагменты рестрикции разделяли с помощью 8% ПААГ (полиакриламидный гель), окрашивали 1% раствором бромистого этидия и визуализировали в проходящем УФ свете.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statgraphics Centurion XVI (version 16.1.11). Критерий χ^2 применяли при сравнении частот встречаемости аллелей и генотипов в группе больных саркоидозом легких и в контрольной группе. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Таблица. Распределение аллелей и генотипов полиморфного варианта rs1800857 гена *IL1A* в группе больных саркоидозом легких и в контрольной группе

Table. Distribution of alleles and genotypes of the polymorphic variant rs1800857 in the group of patients with pulmonary sarcoidosis and in the control group

Показатель Parameter		Больные саркоидозом легких Patients with pulmonary sarcoidosis (n = 122)	Контрольная группа Control group (n = 130)	Критерий χ^2 Criterion χ^2
Аллели Alleles	С	86 (0,352)	170 (0,654)	45,750 (df = 1, p < 0,001)
	Т	158 (0,648)	90 (0,346)	
Генотипы Genotypes	СС	15 (0,123)	56 (0,431)	41,783 (df = 2, p < 0,001)
	СТ	56 (0,459)	58 (0,446)	
	ТТ	51 (0,418)	16 (0,123)	

Примечание. n — число обследованных лиц. Данные представлены в виде абсолютных значений (относительная частота).
Note. n — number of examined subjects. Data are presented as absolute values (relative frequency).

Результаты и обсуждение

По результатам сравнительного анализа установлено статистически значимое различие в распределении частот аллелей и генотипов полиморфного варианта rs1800857 гена *IL1A* в исследуемых группах ($p < 0,001$) (табл.).

Выявлены различия в распределении частот аллелей и генотипов в группе здоровых людей и больных саркоидозом легких. Частота встречаемости Т аллеля и ТТ генотипа была выше в группе больных саркоидозом легких по сравнению с контрольной группой: ($\chi^2 = 15,632$; $p < 0,001$) и ($\chi^2 = 28,05$; $p < 0,001$), соответственно. Для определения риска развития саркоидоза легких по полиморфному варианту rs1800857 гена *IL1A* проведен расчет отношения шансов. Согласно полученным данным, у носителей Т аллеля риск развития данного заболевания повышен в 3,47 раза (95% ДИ 2,41–5,01). У людей, имеющих генотип ТТ по полиморфному варианту rs1800857 гена *IL1A* риск развития саркоидоза легких повышен в 5,12 раза (95% ДИ 8,71–9,66), по сравнению с носителями СТ и СС генотипов.

Нами проведен тест на соответствие распределения аллелей и генотипов по полиморфному маркеру rs1800587 гена *IL1A* равновесию Харди–Вайнберга. По результатам исследования не установлено отклонение частот генотипов исследуемого полиморфного маркера rs1800587 гена *IL1A* от равновесия Харди–Вайнберга в группе больных саркоидозом легких ($\chi^2 = 0,00$, $df = 2$, $p = 0,998$) и в контрольной группе ($\chi^2 = 0,04$, $df = 2$, $p = 0,982$).

Генетические факторы, как было отмечено ранее, играют важную роль в патогенезе саркоидоза легких. Гены семейства интерлейкина-1 являются полиморфными [8]. Исследуемый нами аллельный полиморфизм rs1800587 гена *IL1A* расположен в регуляторной области (промотор). Однонуклеотидная замена цитозина

на тимин в позиции –889 промотора гена *IL1A* приводит к изменению уровня его транскрипции и продукции соответствующего белка IL-1a [2, 8]. По данным литературы, более высокий уровень экспрессии гена *IL1A* показан у носителей ТТ генотипа [2, 9]. Аллельный полиморфизм гена может быть связан с различной продукцией соответствующего белка. В проведенных нами исследованиях установлена ассоциация аллельного полиморфизма rs1800587 гена *IL1A* с риском развития саркоидоза легких у русского населения Республики Карелия ($p < 0,001$). Среди больных саркоидозом легких частота встречаемости носителей Т аллеля и гомозиготного ТТ генотипа значимо выше в сравнении с группой здоровых людей ($p < 0,001$). Однако в исследовании других авторов показано, что среди населения Чехии у страдающих саркоидозом, наиболее часто встречается СС генотип полиморфного маркера rs1800587 гена *IL1A* по сравнению с контролем (60,0% против 44,2%, $p = 0,012$) У носителей СС генотипа риск развития заболевания повышен в 1,9 раза (95% ДИ 1,1–3,1) [8]. В то же время у населения Дании не выявлена связь полиморфного варианта rs1800587 гена *IL1A* с риском развития данного заболевания [7].

Таким образом, результаты проведенных нами исследований свидетельствуют о вовлечении аллельного полиморфизма rs1800587 гена *IL1A* в патогенез саркоидоза легких у русского населения Республики Карелия.

Заключение

Генетический фон организма может оказывать влияние на восприимчивость к развитию саркоидоза легких. В сочетании с факторами окружающей среды, а также в зависимости от этнической принадлежности, это может объяснять расовые и географические различия в частоте и фенотипе данного заболевания.

Список литературы/References

1. Визель А.А., Гурылёва М.Э. Потенциальные инфекционные триггеры при саркоидозе // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2002. Т. 4, № 4. С. 313–324. [Vizel A.A., Gurileva M.E. Potential infectious triggers in Sarcoidosis. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2002, vol. 4, no. 4, pp. 313–324. (In Russ.)]
2. Громова А.Ю., Симбирцев А.С. Полиморфизм генов семейства IL-1 человека // Цитокины и воспаление. 2005. Т. 4, № 2. С. 1–12. [Gromova A.Yu., Simbirtsev A.S. Gene polymorphisms of interleukin-1 family cytokines. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2005, vol. 4, no. 2, pp. 1–12. (In Russ.)]
3. Bonifazi M., Gasparini S., Alfieri V., Renzoni E. Pulmonary sarcoidosis. *Semin. Respir. Crit. Care Med.*, 2017, vol. 38, no. 4, pp. 437–449. doi: 10.1055/s-0037-1603766
4. Chen E., Moller D. Etiologic role of infectious agents. *Semin. Respir. Crit. Care Med.*, 2014, vol. 35, no. 3, pp. 285–295. doi: 10.1055/s-0034-1376859
5. Costabel U., Ohshimo S., Guzman J. Diagnosis of sarcoidosis. *Curr. Opin. Pulm. Med.*, 2008, vol. 14, no. 5, pp. 455–461. doi: 10.1097/MCP.0b013e3283056a61
6. Grunewald J. Genetics of sarcoidosis. *Curr. Opin. Pulm. Med.*, 2008, vol. 14, no. 5, pp. 434–439. doi: 10.1097/MCP.0b013e3283043de7
7. Grutters J., Sato H., Pantelidis P., Ruven H., McGrath D., Wells A., van den Bosch J., Welsh K., du Bois R. Analysis of IL6 and IL1A gene polymorphisms in UK and Dutch patients with sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.*, 2003, vol. 20, no. 1, pp. 20–27.

8. Hutyróvá B., Pantelidis P., Drábek J., Zůrková M., Kolek V., Lenhart K., Welsh K., Bois R., Petrek M. Interleukin-1 gene cluster polymorphisms in sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2002, vol. 165, no. 2, pp. 148–151. doi: 10.1164/ajrccm.165.2.2106004
9. Khazim K., Azulay E., Kristal B., Cohen I. Interleukin 1 gene polymorphism and susceptibility to disease. *Immunol. Rev.*, 2018, vol. 281, no. 1, pp. 40–56. doi: 10.1111/imr.12620
10. Nishiwaki T., Yoneyama H., Eishi Y., Matsuo N., Tatsumi K., Kimura H., Kuriyama T., Matsushima K. Indigenous pulmonary *Propionibacterium acnes* primes the host in the development of sarcoid-like pulmonary granulomatosis in mice. *Am. J. Pathol.*, 2004, vol. 165, no. 2, pp. 631–639. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63327-5
11. Oswald-Richter K.A., Beachboard D.C., Zhan X., Gaskill C.F., Abraham S., Jenkins C., Culver D.A., Drake W. Multiple mycobacterial antigens are targets of the adaptive immune response in pulmonary sarcoidosis. *Respir. Res.*, 2010, vol. 11, no. 1: 161. doi: 10.1186/1465-9921-11-161
12. Oswald-Richter K.A., Culver D.A., Hawkins C., Hajizadeh R., Abraham S., Shepherd B.E., Jenkins C.A., Judson M.A., Drake W.P. Cellular responses to mycobacterial antigens are present in bronchoalveolar lavage fluid used in the diagnosis of sarcoidosis. *Infect. Immun.*, 2009, vol. 77, no. 9, pp. 3740–3748. doi: 10.1128/IAI.00142-09
13. Trevilatto P., Scarel-Caminaga R., Brito Junior R., Souza A., Sallum A., Line S. Polymorphisms in the IL-1a and IL-1b genes are not associated with susceptibility to chronic periodontitis in a brazilian population. *Braz. J. Oral Sci.*, 2003, vol. 2, no. 7, pp. 348–352. doi: 10.20396/bjos.v2i7.8641716
14. Vasakova M., Sterclova M., Kolesar L., Slavcev A., Skibova J., Striz I. Cytokine gene polymorphisms in sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.*, 2010, vol. 27, no. 1, pp. 70–75.
15. Yamaguchi T., Costabel U., McDowell A., Guzman J., Uchida K., Ohashi K., Eishi Y. Immunohistochemical detection of potential microbial antigens in granulomas in the diagnosis of sarcoidosis. *J. Clin. Med.*, 2021, vol. 10, no. 5: 983. doi: 10.3390/jcm10050983

Авторы:

Малышева И.Е., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории генетики Института биологии — обособленного подразделения ФГБУН ФИЦ Карельский научный центр РАН, г. Петрозаводск, Россия;

Топчиева Л.В., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории генетики Института биологии — обособленного подразделения ФГБУН ФИЦ Карельский научный центр РАН, г. Петрозаводск, Россия;

Тихонович Э.Л., к.м.н., зав. отделением респираторной терапии Республиканской больницы им. В.А. Баранова, г. Петрозаводск, Россия.

Authors:

Malysheva I.E., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Genetics, Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation;

Topchieva L.V., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Genetics, Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation;

Tikhonovich E.L., PhD (Medicine), Head of the Respiratory Therapy Department, V.A. Baranov Republican Hospital, Petrozavodsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 03.05.2023
Принята к печати 03.10.2023

Received 03.05.2023
Accepted 03.10.2023

ЭТИОЛОГИЯ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В 2015–2022 гг.

В.И. Сергевнин¹, М.В. Рожкова¹, К.В. Овчинников², Е.Ж. Кузовникова³

¹ ФГБОУ ВО Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера Минздрава России, г. Пермь, Россия

² ГКУЗ ПК Пермский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными болезнями, г. Пермь, Россия

³ ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Пермском крае Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Пермь, Россия

Резюме. Сведения об этиологии внебольничной пневмонии (ВП) противоречивы. Нередко этиологию ВП оценивают лишь по данным бактериологических исследований и приходят к выводу о низкой частоте выделения основного возбудителя — *Streptococcus pneumoniae*. В то же время очень мало наблюдений параллельного обследования больных ВП одновременно двумя методами — бактериологическим и молекулярно-генетическим. Отсутствуют наблюдения за этиологией ВП в многолетней динамике. Цель работы — изучить этиологию ВП у детей и взрослых по результатам бактериологических и молекулярно-генетических исследований в 2015–2022 гг. Этиологию пневмонии оценивали по результатам исследований смывов с задней стенки глотки 418 детей и 483 взрослых, госпитализированных с первичным диагнозом ВП в две медицинские организации г. Перми в 2015–2022 гг. Пробы исследовали бактериологическим методом и в полимеразной цепной реакции с использованием коммерческих тест-систем. Использовали амплификатор «CFX96» (Bio-Rad, США). Результаты показали, что *S. pneumoniae*, несмотря на проведение декретированных прививок против пневмококковой инфекции, остается ведущим возбудителем ВП как у детей, так и взрослых. На изучаемой территории среди детей и взрослых в среднем частота выделения пневмококка по данным бактериологических исследований составила 9,7 на 100 обследованных, по данным молекулярно-генетических исследований — 48,5 на 100 обследованных. По данным бактериологических исследований в 2021–2022 гг. по сравнению 2015–2017 гг. среди детей статистически значимо увеличилась частота выделения *Staphylococcus aureus*, среди взрослых — *S. pneumoniae*. По результатам молекулярно-генетических исследований среди детей и взрослых статистически значимых изменений в этиологии ВП не произошло. В 2021–2022 гг. у больных ВП, инфицированных SARS-CoV-2, по сравнению с SARS-CoV-2-негативными, было выявлено более частое выделение *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae* и *Haemophilus influenzae*, то есть тех возбудителей, количество которых возросло в многолетней динамике наблюдений.

Ключевые слова: внебольничная пневмония, дети, взрослые, бактериологический метод, молекулярно-генетический метод, виды бактерий, респираторные вирусы.

Адрес для переписки:

Рожкова Марина Владимировна
614990, Россия, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26,
ФГБОУ ВО Пермский государственный медицинский
университет им. акад. Е.А. Вагнера МЗ РФ.
Тел.: 8 965 572-35-11.
E-mail: rozhkovamary@yandex.ru

Contacts:

Marina V. Rozhkova
614990, Russian Federation, Perm, Petropavlovskaya str., 26,
Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner.
Phone: +7 965 572-35-11.
E-mail: rozhkovamary@yandex.ru

Для цитирования:

Сергевнин В.И., Рожкова М.В., Овчинников К.В., Кузовникова Е.Ж. Этиология внебольничной пневмонии у детей и взрослых по результатам бактериологических и молекулярно-генетических исследований в 2015–2022 гг. // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 972–978. doi: 10.15789/2220-7619-EOC-10360

Citation:

Sergevnin V.I., Rozhkova M.V., Ovchinnikov K.V., Kuzovnikova E.Zh. Etiology of community-acquired pneumonia in children and adults based on 2015–2022 bacteriological and molecular genetic studies // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 972–978. doi: 10.15789/2220-7619-EOC-10360

ETIOLOGY OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA IN CHILDREN AND ADULTS BASED ON 2015–2022 BACTERIOLOGICAL AND MOLECULAR GENETIC STUDIES

Sergevnin V.I.^a, Rozhkova M.V.^a, Ovchinnikov K.V.^b, Kuzovnikova E.Zh.^c

^a Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner, Perm, Russian Federation

^b Perm Regional Center for Control and Prevention of AIDS and Infectious Diseases, Perm, Russian Federation

^c Perm Center of Hygiene and Epidemiology in Perm Region of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Perm, Russian Federation

Abstract. The data on etiology of community-acquired pneumonia (CAP) remain contradictory, which is often assessed only according to bacteriological studies coming to a conclusion about the low frequency of major main pathogen *Streptococcus pneumoniae* isolation. At the same time, there are very few observations of parallel examination of patients with CAP simultaneously by bacteriological and molecular genetic methods. There are no observations on the etiology of CAP in the long-term dynamics. The aim of the work is to analyze the etiology of CAP in children and adults based on 2015–2022 bacteriological and molecular genetic studies. The etiology of pneumonia was assessed using the data on posterior pharyngeal wall washes from 418 children and 483 adults hospitalized with a primary diagnosis of CAP at two large Perm medical organizations in 2015–2022. The samples were examined by the bacteriological method and polymerase chain reaction using commercial test systems with the amplifier “CFX96” (Bio-Rad, USA). The results showed that *S. pneumoniae*, despite implementing decreed vaccinations against pneumococcal infection, it remains the leading causative agent of CAP in both children and adults. The 2015–2022 frequency of pneumococcal discharge according to bacteriological studies was 9.7 per 100 examined, according to molecular genetic studies — 48.5 per 100 examined among children and adults in the study area. According to 2021–2022 vs 2015–2017 bacteriological studies, the frequency of *Staphylococcus aureus* excretion among children increased significantly, and *S. pneumoniae* increased among adults. According to the results of molecular genetic studies among children and adults, no significant changes in the etiology of CAP were found. In 2021–2022, SARS-CoV-2-positive vs SARS-CoV-2-negative patients with CAP infected had higher rate of isolated *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Hemophilus influenzae*, i.e., those pathogens whose number increased in the long-term follow-up observations.

Key words: community-acquired pneumonia, children, adults, bacteriological method, molecular genetic method, bacterial species, respiratory viruses.

Введение

Внебольничная пневмония (ВП) является полиэтиологическим инфекционным заболеванием бактериальной или вирусной природы [5]. Между тем вопрос этиологической расшифровки ВП в практике остается проблемным, поскольку не все пациенты с подозрением на это заболевание лабораторно обследуются, а методы лабораторной диагностики, применяемые в разных медицинских организациях (МО), не идентичны и не ориентированы на обнаружение максимального количества видов возбудителей ВП. Трудности этиологической диагностики ВП, кроме того, определяются отсутствием универсального информативного субстрата для исследования. Диагностическая ценность микробиологического исследования мокроты «сдерживается» тем, что нередко у больных пневмонией кашель имеет непродуктивный характер. Кроме того, при естественном откашливании мокрота может быть контаминирована микрофлорой глотки, зева и ротовой полости. Поэтому для этиологической расшифровки ВП допускается исследование мазков из ротоглотки и носоглотки [2, 5].

Сведения об этиологии ВП противоречивы. Очень часто этиологию ВП оценивают лишь по данным бактериологических исследований

и нередко приходят к выводу о низкой частоте выделения основного возбудителя — *Streptococcus pneumoniae*. В то же время очень мало наблюдений параллельного обследования больных ВП одновременно двумя методами — бактериологическим и молекулярно-генетическим. Отсутствуют наблюдения за этиологией ВП в многолетней динамике. Между тем в последние 10 лет в жизни общества Российской Федерации произошли социальные изменения, которые могли оказать существенное влияние на этиологию ВП. Так, с 2014 г. в России введены декретированные прививки детского населения против пневмококковой инфекции, а в 2020–2022 гг. отмечена эпидемия новой коронавирусной инфекции.

Цель исследования — изучить этиологию внебольничной пневмонии у детей и взрослых по результатам бактериологических и молекулярно-генетических исследований в 2015–2022 гг.

Материалы и методы

Этиологию ВП оценивали по результатам бактериологических и молекулярно-генетических исследований смывов с задней стенки глотки 981 пациента (418 детей и 483 взрослых), госпитализированного с первичным диагнозом «Внебольничная пневмония» (коды

по МКБ-10: J13–J18) в 2015–2022 гг. в две крупные МО г. Перми. Средний возраст детей был $3,5 \pm 0,2$ года, взрослых — $65,0 \pm 2,3$ года соответственно. Обязательным условием при проведении работы было наличие подписанного добровольного информированного согласия участников, а для лиц, не достигших 18 лет, — одного из родителей. Отбор проб проводили в первые 2 дня госпитализации в соответствии с методическими указаниями [7].

Бактериологическое исследование мазков из носоглотки на наличие условно-патогенных бактерий осуществляли в лабораториях двух МО, являвшихся базами для госпитализации пациентов с ВП. Молекулярно-генетические исследования на наличие ДНК/РНК ряда вирусов и трудно культивируемых бактерий проводили в лаборатории Центра гигиены и эпидемиологии в Пермском крае методом ПЦР в режиме реального времени с использованием наборов ре-

агентов производства ООО «ИнтерЛабСервис», позволяющих выявить: ДНК *S. pneumoniae*; ДНК *H. influenzae*; ДНК *N. meningitidis*; ДНК *Chlamyphila pneumoniae*; ДНК *M. pneumoniae*; ДНК *Chlamyphila psittaci*; ДНК *L. pneumophila*; РНК гриппа А; РНК гриппа В; РНК гриппа H1N1 pdm2009; РНК парагриппа 1, 2, 3, 4; РНК РС-вируса; РНК риновируса; ДНК аденовируса. Использовали амплификатор «CFX96» (BioRad, США).

В 2021–2022 гг. все пациенты (142 ребенка и 190 взрослых) при поступлении в стационар были обследованы на SARS-CoV-2 методом ПЦР.

Статистическую обработку материалов проводили с использованием программ Statistica 6 и WinPepi, версия 11.65 (автор — профессор Joe Abramson, Израиль). Статистическую значимость различий показателей определяли путем расчета критерия согласия χ^2 , при малом числе наблюдений — точного критерия Фишера.

Таблица 1. Частота выделения возбудителей внебольничной пневмонии у больных детей и взрослых по данным бактериологических исследований за 2015–2022 гг.

Table 1. Frequency of isolation of pathogens of community-acquired pneumonia in sick children and adults according to bacteriological studies for 2015–2022

Микроорганизмы Microorganisms	Частота выделения микроорганизмов на 100 обследованных Frequency of isolation of microorganisms per 100 examined		
	Дети Children n = 418	Взрослые Adults n = 479	Всего Total n = 897
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3,1 (1,7–5,3)	15,4 (12,3–19,0)	9,7 (7,8–11,8)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2,9 (1,5–4,9)	7,1 (4,9–9,7)	5,1 (3,8–6,7)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,9 (0,8–3,7)	3,5 (2,1–5,6)	2,8 (1,8–4,1)
<i>Staphylococcus aureus</i>	7,2 (4,9–10,1)	3,9 (2,4–6,1)	4,1 (2,9–5,6)
<i>Haemophilus influenzae</i>	0,2 (0,01–1,3)	1,7 (0,7–3,2)	1,0 (0,5–1,9)
<i>Escherichia coli</i>	0,9 (0,3–2,4)	2,9 (1,6–4,8)	2,5 (1,6–3,8)
<i>Candida albicans</i>	2,8 (1,5–4,9)	1,2 (4,5–2,7)	2,0 (1,2–4,1)
<i>Enterococcus faecalis</i>	0,2 (0,01–1,3)	1,7 (0,7–3,2)	1,0 (0,5–1,9)
<i>Streptococcus viridans</i>	0	1,2 (0,7–3,2)	0,6 (0,3–1,4)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0,6 (0,7–3,2)	0,3 (0,1–0,9)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,5 (0,01–1,3)	1,2 (0,7–3,2)	0,9 (0,4–1,7)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	0	1,2 (0,7–3,2)	0,6 (0,3–1,4)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0,2 (0,01–1,3)	1,7 (0,7–3,2)	1,0 (0,5–1,9)
<i>Neisseria meningitidis</i>	0	1,2 (0,7–3,2)	0,6 (0,3–1,4)
<i>Streptococcus oralis</i>	1,2 (0,4–2,7)	2,5 (1,3–4,3)	1,9 (1,1–3,0)

Результаты

По данным бактериологических исследований в целом за 2015–2022 гг. у больных детей выделены 89 штаммов 10 видов бактерий, у взрослых — 229 штаммов 15 видов (табл. 1). У детей доминировали *S. pneumoniae* (3,1 на 100 обследованных), *Klebsiella pneumoniae* (2,9) и *Staphylococcus aureus* (7,2). Нередко встречались *Candida albicans* и *Pseudomonas aeruginosa*. У взрослых преобладали *S. pneumoniae* (15,4 на 100 обследованных) и *K. pneumoniae* (7,1). В сумме среди детей и взрослых частота выделения *S. pneumoniae* составила 9,7 на 100 обследованных пациентов, что оказалось статистически значимо выше, чем других микроорганизмов ($p < 0,05$ во всех случаях). Доля пневмококка в сумме всех выделенных возбудителей составила 28,2. Интенсивность выделения *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* составила 5,1, 4,1, 2,8 на 100 обследованных соответственно, других возбудителей — лишь 0,3–1,9. Доля указанных трех возбудителей оказалась равной 14,9, 11,9, 8,1% соответственно, прочих микроорганизмов — 0,9–5,5%.

По результатам ПЦР у детей выделили маркеры 452 штаммов 7 видов микроорганизмов, у взрослых — 181 штамма 8 видов (табл. 2). У детей доминировали маркеры *S. pneumoniae* (77,3 на 100 обследованных), *Hemophilus influenzae* (10,5) и *Mycoplasma pneumoniae* (15,3). У взрослых ведущее место занимали *S. pneumoniae* (23,4), *H. influenzae* (5,0) и *M. pneumoniae* (6,7). В целом у детей и взрослых, так же как и по данным бактериологических анализов, ведущую роль играл *S. pneumoniae*, частота которого составила 48,5 на 100 (по отношению к показателю частоты выделения других возбудителей $p < 0,05$ во всех случаях). Его доля в структуре маркеров всех возбудителей составила 68,7%. Частота выделения маркеров таких микроорганизмов как *M. pneumoniae* и *H. influenzae* составила 10,7 и 7,6 на 100 обследованных соответственно, а их доля — 15,2 и 10,7%. Маркеры вирусов (РНК вируса гриппа H1N1 и РНК риновируса) были обнаружены лишь в единичных случаях.

Оценка результатов бактериологических исследований в многолетней динамике показала (табл. 3), что в 2021–2022 гг. по сравнению 2015–

Таблица 2. Частота выделения возбудителей внебольничной пневмонии у больных детей и взрослых по данным молекулярно-генетических исследований за 2015–2022 гг.

Table 2. 2015–2022 Frequency of isolated pathogens for community-acquired pneumonia in sick children and adults according to molecular genetic studies.

Маркеры микроорганизмов Microorganism markers	Частота выделения маркеров микроорганизмов на 100 обследованных Frequency of isolated microorganism markers per 100 examined		
	Дети Children n = 418	Взрослые Adults n = 479	Всего Total n = 897
ДНК <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> DNA	77,3 (72,9–81,2)	23,4 (19,7–27,4)	48,5 (45,2–51,0)
ДНК <i>Hemophilus influenzae</i> <i>Hemophilus influenzae</i> DNA	10,5 (7,8–13,8)	5,0 (3,2–7,3)	7,6 (5,9–9,5)
ДНК <i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i> DNA	15,3 (11,9–19,1)	6,7 (4,6–9,3)	10,7 (8,7–12,9)
РНК РС-вируса RS virus RNA	2,2 (0,9–4,1)	0,2 (0,01–1,1)	1,1 (8,5–12,9)
РНК вируса гриппа А Influenza A virus RNA	1,7 (0,7–3,4)	0,6 (0,1–2,2)	1,1 (8,5–12,9)
ДНК аденовируса Adenovirus DNA	0,9 (0,3–2,4)	0	0,4 (0,1–1,1)
ДНК <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Neisseria meningitidis</i> DNA	0,2 (0,01–1,7)	0	0,1 (0,1–0,6)
ДНК <i>Legionella pneumophila</i> <i>Legionella pneumophila</i> DNA	0	0,2 (0,01–1,1)	0,1 (0,1–0,6)
ДНК <i>Chlamydophila pneumoniae</i> <i>Chlamydophila pneumoniae</i> DNA	0		0
РНК Вирус гриппа В Influenza B virus RNA	0	0	0
ДНК <i>Chlamydophila psittaci</i> <i>Chlamydophila psittaci</i> DNA	0	0	0
РНК вирус гриппа H1N1 H1N1 influenza virus RNA	0	0	0,3 (0,1–0,9)
РНК риновируса Rhinovirus RNA	0	1,0 (0,3–2,4)	0,5 (0,1–1,3)

2017 гг. среди детей статистически значимо увеличилась частота выделения *S. aureus* — с 0,9 до 13,4 на 100 обследованных ($p = 0,001$). Среди взрослых увеличилось количество случаев выявления *S. pneumoniae* с 2,5 до 20,0 ($p = 0,001$), *K. pneumoniae* — с 1,9 до 13,1 ($p = 0,001$).

По данным молекулярно-генетических исследований среди детей и взрослых в 2021–2022 гг. по сравнению с 2015–2017 гг. статистически значимых изменений в этиологии ВП не произошло (табл. 4). Вместе с тем в 2018–2019 гг. по сравнению с 2015–2017 гг. по данным ПЦР существенно возросла частота выделения ДНК *M. pneumoniae* у детей — с 14,9 до 42,5, у взрослых — с 8,8 до 16,5 ($p = 0,05$).

Из числа обследованных на SARS-CoV-2 в 2021–2022 гг. у 11 детей и 106 взрослых анализ был положительный. При этом у инфицированных вирусом было выявлено более частое выделение ряда бактериальных возбудителей ВП, причем именно тех, количество которых возросло в многолетней динамике наблюдений. Так, по результатам бактериологических исследований показатель частоты выделения *K. pneumoniae* у детей с SARS-CoV-2 составил 27,3 (6,0–61,0)

на 100 обследованных против 3,0 (0,8–7,6) у SARS-CoV-2-негативных (тест Фишера = 0,01, $p < 0,05$). Частота выделения *S. aureus* у взрослых в группе больных коронавирусной инфекцией оказалась равным 11,3 (5,9–18,9) на 100 обследованных, тогда как у SARS-CoV-2-негативных — 2,4 (0,3–7,3) (тест Фишера = 5,5, $p < 0,05$). По данным ПЦР у детей показатель частоты выделения *H. influenzae* у пациентов с SARS-CoV-2 был 45,5 (16,8–76,6) на 100 обследованных, а у больных без SARS-CoV-2 — лишь 12,9 (7,7–19,9) (тест Фишера = 0,01, $p < 0,05$).

Обсуждение

По результатам многолетних бактериологических и молекулярно-генетических исследований доминирующими видами возбудителей у больных ВП оказались: *S. pneumoniae*, *K. pneumoniae*, *M. pneumoniae* и *H. influenzae*. При этом стабильно лидирующая этиологическая роль *S. pneumoniae* отмечена не только среди взрослых, но и среди детей, несмотря на проведение декретированных прививок против пневмококковой инфекции с 2014 г. Даже

Таблица 3. Частота выделения возбудителей внебольничной пневмонии у больных детей и взрослых по данным бактериологических исследований в 2015–2022 гг.

Table 3. 2015–2022 Frequency of isolated pathogens for community-acquired pneumonia in sick children and adults according to bacteriological studies

Микроорганизмы Microorganisms	Частота выделения микроорганизмов на 100 обследованных Frequency of isolation of microorganisms per 100 examined					
	2015–2017 гг.		2018–2019 гг.		2021–2022 гг.	
	Дети Children n = 201	Взрослые Adults n = 204	Дети Children n = 75	Взрослые Adults n = 85	Дети Children n = 142	Взрослые Adults n = 190
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3,5 (1,4–7,0)	2,5 (3,4–10,6)	1,3 (0,03–7,2)	27,1 (17,9–37,7)	3,5 (1,2–8,0)	20,0 (14,6–26,4)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,5 (0,3–4,3)	1,9 (0,5–4,9)	2,6 (0,3–9,2)	5,8 (1,9–13,2)	4,9 (2,0–9,8)	13,1 (8,7–18,9)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,5 (0,3–4,3)	2,5 (0,8–5,6)	1,3 (0,3–7,2)	1,1 (0,03–6,3)	2,8 (0,8–7,1)	5,8 (2,9–10,1)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,9 (0,1–3,5)	2,5 (0,8–5,6)	12,0 (5,6–21,5)	0	13,4 (8,3–20,1)	7,4 (4,1–12,1)
<i>Candida albicans</i>	0	0	0	0	4,9 (2,0–9,8)	3,1 (1,2–6,7)
<i>Escherichia coli</i>	0,9 (0,1–3,5)	0	1,3 (0,3–7,2)	0	0,71 (0,02–3,8)	6,8 (3,7–11,4)
<i>Haemophilus influenzae</i>	0,5 (0,1–2,7)	0	0	1,1 (0,3–6,3)	0	2,6 (0,9–6,0)
<i>Enterococcus faecalis</i>	0	0	1,3 (0,3–7,2)	0	0	4,2 (1,8–8,1)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	0	2,6 (0,3–9,2)	0	0	3,1 (1,2–6,7)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	0	1,3 (0,3–7,2)	0	0	4,2 (1,8–8,1)
<i>Neisseria meningitidis</i>	0	0	0	1,1 (0,3–6,3)	0	2,6 (0,9–6,0)
<i>Streptococcus oralis</i>	0	0	6,6 (2,2–4,8)	0	0	6,3 (3,3–10,8)

Таблица 4. Частота выделения маркеров возбудителей внебольничной пневмонии у больных детей и взрослых по данным молекулярно-генетических исследований в 2015–2022 гг.

Table 4. 2015–2022 Frequency of isolated pathogen markers for community-acquired pneumonia in sick children and adults according to molecular genetic studies.

Маркеры микроорганизмов Microorganism markers	Частота выделения маркеров микроорганизмов на 100 обследованных Frequency of isolation of markers of microorganisms per 100 examined					
	2015–2017 гг.		2018–2019 гг.		2021–2022 гг.	
	Дети Children	Взрослые Adults	Дети Children	Взрослые Adults	Дети Children	Взрослые Adults
ДНК <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> DNA	73,6 (66,9–79,6)	25,5 (20,5–31,0)	73,3 (61,7–82,8)	31,8 (22,1–42,1)	84,5 (77,5–90,0)	17,4 (12,3–23,5)
ДНК <i>Hemophilus influenzae</i> <i>Hemophilus influenzae</i> DNA	5,9 (3,1–10,2)	0,5 (2,4–8,8)	13,3 (6,6–23,1)	0	15,5 (9,9–22,5)	7,4 (4,1–12,0)
РНК РС-вируса RS virus RNA	1,9 (0,5–5,0)	0,5 (0,1–2,7)	0	0	3,5 (1,2–8,0)	0
РНК вируса гриппа А Influenza A virus RNA	0,5 (0,1–2,7)	0,9 (0,1–3,5)	4,0 (0,8–11,2)	1,2 (0,3–6,3)	1,4 (0,2–4,9)	0
ДНК аденовируса Adenovirus DNA	0	0	0	0	2,8 (0,8–7,1)	0
ДНК <i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i> DNA	14,9 (10,3–20,6)	8,8 (5,3–13,6)	45,3 (33,8–57,2)	16,5 (9,3–26,1)	0	0
ДНК <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Neisseria meningitidis</i> DNA	0,5 (0,1–2,7)	0	0	0	0	0
РНК риновируса Rhinovirus RNA	0	0	0	0	0	2,6 (0,9–6,6)

если учесть, что применение пневмококковых конъюгированных вакцин сопровождается вытеснением вакцинных штаммов *S. pneumoniae* серотипами, не входящими в состав вакцин [3, 10], вопрос о причинах отсутствия снижения частоты выделения пневмококка от больных ВП, особенно у детей, требует дополнительного изучения. Что касается статистически значимого увеличения частоты выделения в 2019 гг. *M. pneumoniae* у детей, то рост заболеваемости респираторным микоплазмозом в этот период отмечен не только в России [4, 6], но и на территории многих европейских государств, например, Дании, Швеции, Норвегии, Англии, Германии, Финляндии, Нидерландов, Франции [1]. В последние годы частота выделения микоплазм у детей значительно снизилась.

По данным лабораторных исследований в 2021–2022 гг. по сравнению с 2015–2017 гг. у больных ВП отмечено увеличение частоты выделения ряда условно-патогенных бактерий (*K. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. aureus*) за счет SARS-CoV-2-положительных пациентов. Известно, что респираторные вирусы, включая SARS-CoV-2, вызывают нарушения функционирования иммунной системы, что снижает восприимчивость к бактериальной инфек-

ции [8, 9]. Следовательно, есть основание считать, что COVID-19 может способствовать присоединению ВП бактериальной этиологии.

Заключение

S. pneumoniae, несмотря на проведение декретированных прививок против пневмококковой инфекции, остается ведущим возбудителем внебольничной пневмонии как у детей, так и взрослых. На изучаемой территории среди детей и взрослых за 2015–2022 гг. в среднем частота выделения пневмококка по данным бактериологических исследований составила 9,7 на 100 обследованных, по данным молекулярно-генетических исследований — 48,5 на 100 обследованных. В 2021–2022 гг. на фоне эпидемии новой коронавирусной инфекции у больных внебольничной пневмонией отмечено статистически значимое увеличение частоты выделения *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *H. influenzae*.

Конфликт интересов

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Список литературы/References

1. Кошкарина Е.А., Квашнина Д.В., Широкова И.Ю. Клинико-эпидемиологические и иммунологические характеристики микоплазменных пневмоний (аналитический обзор) // Медиаль. 2019. № 1 (23). С. 7–18. [Koshkarina E.A., Kvashnina D.V., Shirokova I.Yu. Clinical, epidemiological and immunological characteristics of mycoplasma pneumonias (analytical review). *Medial' = Medial*, 2019, no. 1 (23), pp. 7–18. (In Russ.)] doi: 10.21145/2225-0026-2019-1-7-18
2. Лабораторная диагностика внебольничной пневмонии пневмококковой этиологии: методические рекомендации. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017. 64 с. [Laboratory diagnosis of community-acquired pneumonia of pneumococcal etiology. Methodical recommendations Moscow: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, 2017. 64 p. (In Russ.)] URL: https://www.rosпотребнадзор.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=9036
3. Муравьев А.А., Козлов Р.С., Лебедева Н.Н. Эпидемиология серотипов S. pneumoniae на территории Российской Федерации // Клиническая микробиология и антимикробная терапия. 2017. Т. 19, № 3. С. 200–206. [Muravyev A.A., Kozlov R.S., Lebedeva N.N. Epidemiology of S. pneumoniae serotypes in the Russian Federation. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya terapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Therapy*, 2017, vol. 19, no. 3, pp. 200–206. (In Russ.)]
4. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2020. 299 с. [On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2019: state report. Moscow: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, 2020. 299 p. (In Russ.)] URL: https://www.rosпотребнадзор.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=14933
5. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Носков А.К., Ковалев Е.В., Чемисова О.С., Твердохлебова Т.И., Павлович Н.В., Водопьянов С.О., Цимбалистова М.В., Гаевская Н.Е., Воловикова С.Ф., Стенина С.И., Гудуева Е.Н., Сагакянц М.М., Алешукина А.В., Слись С.С. Особенности этиологии внебольничных пневмоний, ассоциированных с COVID-19 // Проблемы особо опасных инфекций. 2020. № 4. С. 99–105. [Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Noskov A.K., Kovalev E.V., Chemisova O.S., Tverdokhlebova T.I., Pavlovich N.V., Vodopyanov S.O., Tsimbalistova M.V., Gaevskaya N.E., Volovikova S.V., Stenina S.I., Gudueva E.N., Sagakyants M.M., Aleshukina A.V., Slis S.S. Features of the etiology of community-acquired pneumonia associated with COVID-19. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2020, no. 4, pp. 99–105. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2020-4-99-105
6. Сергевнин В.И., Овчинников К.В., Кузовникова Е.Ж., Эльмететова Н.В. Видовая структура возбудителей внебольничной пневмонии среди детей на фоне проведения декретированных прививок пневмококковой конъюгированной вакциной // Санитарный врач. 2021. № 4. С. 5–15. [Sergevnin V.I., Ovchinnikov K.V., Kuzovnikova E.Zh., Elmemetova N.V. Species composition of community-acquired pneumonia pathogens in children in association with decreed pneumococcal conjugated vaccine immunization. *Sanitarnyi vrach = Sanitary Doctor*, 2021, no. 4, pp. 5–15. (In Russ.)] doi: 10.33920/med-08-2104-01
7. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории: методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006. 126 с. [Technique for collecting and transporting biomaterials to microbiological laboratories: methodical recommendations. Moscow: Federal Center of Hygiene and Epidemiology of Rosпотребнадзор, 2006, 126 p. (In Russ.)] URL: https://www.rosпотребнадзор.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=4750
8. Du Toit A. Measles increases the risk of other infections. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2019, vol. 18, no. 1, pp. 2. doi: 10.1038/s41579-019-0301-7
9. Howard L.M. Is there an association between severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and Streptococcus pneumoniae? *Clin. Infect. Dis.*, 2021, vol. 72, no. 5, pp. e76–e78. doi: 10.1093/cid/ciaa1812
10. Sim J.Y., Chang L.Y., Chang T.H., Chen J.M., Lee P.I., Huang L.M., Lu C.Y. Pediatric parapneumonic effusion before and after national pneumococcal vaccination programs in Taiwan. *J. Formos. Med. Assoc.*, 2020, vol. 119, no. 11, pp. 1608–1618. doi: 10.1016/j.jfma.2020.07.026

Авторы:

Сергевнин В.И., д.м.н., профессор кафедры эпидемиологии и гигиены ФГБОУ ВО Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера МЗ РФ, г. Пермь, Россия;
Рожкова М.В., очный аспирант кафедры эпидемиологии и гигиены ФГБОУ ВО Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера МЗ РФ, г. Пермь, Россия;
Овчинников К.В., главный врач ГБУЗ ПК Пермский краевой центр по борьбе и профилактике со СПИД и инфекционными заболеваниями, г. Пермь, Россия;
Кузовникова Е.Ж., зам. главного врача, ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Пермском крае, г. Пермь, Россия.

Authors:

Sergevnin V.I., DSc (Medicine), Professor of the Department of Epidemiology and Hygiene, Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm, Russian Federation;
Rozhkova M.V., PhD Student, Department of Epidemiology and Hygiene, Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm, Russian Federation;
Ovchinnikov K.V., Chief Physician, Perm Regional Center for the Control and Prevention of AIDS and Infectious Diseases, Perm, Russian Federation;
Kuzovnikova E.Zh., Deputy Chief Physician, Perm Center of Hygiene and Epidemiology in Perm Region, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Perm, Russian Federation.

Поступила в редакцию 10.05.2023
 Принята к печати 02.11.2023

Received 10.05.2023
 Accepted 02.11.2023

СОПУТСТВУЮЩИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ПРИ COVID-19 И КТ-СЕМИОТИКА СТАЦИОНАРНЫХ БОЛЬНЫХ

А.В. Титова, У.К. Гивойно, Т.П. Денисова

ФГБОУ ВО Смоленский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Смоленск, Россия

Резюме. *Введение.* В Российской Федерации регистрация отдельных случаев COVID-19 началась в конце января 2020 г. Значительный рост произошел во второй половине марта. В данный момент ситуация с COVID-19 нестабильна. На момент 2023 г. лидерами по коронавирусной инфекции являются: США (104 958 987 человек), Индия (44 684 775 человек) и Франция (39 582 057 человек). Россия по общей заболеваемости занимает десятое место (22 137 084 человек, 395 727 случаев болезни с летальным исходом). Инфекция обладает способностью «наслаиваться» на уже существующую патологию, тем самым ухудшая состояние пациента вплоть до летального исхода. Мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) легких рекомендуется всем пациентам с COVID-19. При отсутствии возможности проведения МСКТ проводится обзорная рентгенография органов грудной клетки. Цель исследования — выявление наиболее часто встречающихся коморбидных заболеваний и изменений при радиологическом исследовании у пациентов с COVID-19. *Материалы и методы.* Исследование проводилось на базе инфекционного отделения № 1 ОГБУЗ «Клиническая больница № 1» г. Смоленска. В основу работы положены результаты изучения 69 карт стационарного больного с основным диагнозом «коронавирусная инфекция». Учтены данные анамнеза и дополнительных инструментальных исследований. *Результаты.* В исследование были включены 69 пациентов в возрасте от 18 до 91 года. Дыхательная недостаточность не наблюдалась в 75,81% случаев. Была выявлена группа пациентов (66,67%) с коморбидными патологиями органов и систем. Наиболее распространенными сопутствующими заболеваниями являлись: артериальная гипертензия (95,65%), ишемическая болезнь сердца (78,26%), сахарный диабет (30,43%), ожирение 1–2 степени (17,39%), хронический гепатит (17,39%). Заболевания желудочно-кишечного тракта и респираторной системы встречались реже. Структура регистрируемых осложнений данного заболевания следующая: двусторонняя полисегментарная пневмония — 72,46%; односторонняя полисегментарная пневмония — 2,8%; плеврит — 4,35%; односторонний гидроторакс — 1,45%. Во время госпитализации каждому из пациентов стационара проводилось радиологическое исследование. На рентгенографическое обследование приходилась меньшая часть исследований — 39,13%, на МСКТ органов грудной клетки — большая (60,87%). При МСКТ органов грудной клетки вначале стационарного лечения в подавляющем большинстве визуализировалась стадия КТ-2 (64,29%), в меньшем проценте случаев — КТ-1 (26,19%), реже всего встречались КТ-3 (7,14%) и КТ-4 (2,38%). Перед выпиской больного из стационара процент поражения легочной ткани по результатам радиологического исследования снизился в среднем на 12,16% у пациентов с первоначальной стадией КТ-1, на 14% — у больных с КТ-2, на 12% — с КТ-3, на 26% — с КТ-4. *Выводы.* Среди пациентов преобладало среднетяжелое течение заболевания без дыхательной недостаточности. Наличие сопутствующих заболеваний отмечается в основном у лиц старше

Адрес для переписки:

Титова Антонина Викторовна
214019, Россия, г. Смоленск, ул. Крупской, 28,
ФГБОУ ВО Смоленский государственный медицинский
университет МЗ РФ.
Тел.: 8 915 644-07-61.
E-mail: tito699@mail.ru

Contacts:

Antonina V. Titova
214019, Russian Federation, Smolensk, Krupskaya str., 28,
Smolensk State Medical University.
Phone: +7 915 644-07-61.
E-mail: tito699@mail.ru

Для цитирования:

Титова А.В., Гивойно У.К., Денисова Т.П. Сопутствующие заболевания при COVID-19 и КТ-семиотика стационарных больных // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 979–984. doi: 10.15789/2220-7619-ICC-8060

Citation:

Titova A.V., Givoyno U.K., Denisova T.P. Inpatient COVID-19-related comorbidities and CT-semiotics // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 979–984. doi: 10.15789/2220-7619-ICC-8060

50 лет. Наиболее распространенным клиническим осложнением коронавирусной инфекции являлась двусторонняя пневмония. После госпитализации пациента наблюдалось постепенное улучшение клинической картины, которое подтверждалось результатами радиологических исследований.

Ключевые слова: COVID-19, полисегментарная пневмония, дыхательная недостаточность, коморбидные состояния, КТ-диагностика, осложнение заболевания.

INPATIENT COVID-19-RELATED COMORBIDITIES AND CT-SEMIOTICS

Titova A.V., Givoyno U.K., Denisova T.P.

Smolensk State Medical University, Smolensk Russian Federation

Abstract. Introduction. In the Russian Federation, registration of individual COVID-19 cases started at the end of January 2020 that markedly increased in the second half of March. At the moment, the situation with COVID-19 is unstable. As of 2023, COVID-19 incidence in descending order is as follows: USA (104 958 987 people), India (44 684 775 people) and France (39 582 057 people). Russia ranked 10th regarding total COVID-19 incidence (22 137 084 people, including 395 727 fatalities). The infection is able to “overlap” with the underlying pathology, thereby worsening patient’s condition up to death. Lung multislice computed tomography (MSCT) is recommended for all patients with COVID-19. If unavailable, a chest X-ray is performed. The aim of the study was to identify the most frequent comorbid diseases and changes on radiological scan in patients with COVID-19. **Materials and methods.** The study was carried out at the Infectious Disease Department No. 1, Regional Public Health Institution “Clinical Hospital No. 1” Smolensk. For this, there were analyzed 69 hospital patient records with basic diagnosis — coronavirus infection. The data of anamnesis and additional instrumental investigations were taken into account. **Results.** 69 patients aged between 18 and 91 years were included in the study. Respiratory failure was not observed in 75.81% of cases. A group of patients (66.67%) with comorbidities of organs and systems was identified, among which most common were: arterial hypertension (95.65%), coronary heart disease (78.26%), diabetes mellitus (30.43%), grade 1–2 obesity (17.39%), chronic hepatitis (17.39%). Diseases of the gastrointestinal tract and respiratory system were less prevalent. The rate of reported complications is as follows: bilateral polysegmental pneumonia — 72.46%; unilateral polysegmental pneumonia — 2.8%; pleurisy — 4.35%; unilateral hydrothorax — 1.45%. Each of the inpatients underwent radiological examination during hospitalisation. X-ray examination accounted for a smaller proportion (39.13%) and multi-spiral chest computed tomography (MSCT) — for a bigger percentage (60.87%). Chest MSCT at the beginning of inpatient treatment visualized CT-2 stage (64.29%) in the vast majority, less — CT-1 (26.19%), least frequently — CT-3 (7.14%) and CT-4 (2.38%). Before patient discharge, an average of 12.16% improvement in the radiological picture was found in patients with initial CT-1 stage, 14% — in CT-2, 12% and 26% — in CT-3 and CT-4, respectively. **Conclusion.** The moderate disease course without respiratory depression prevailed among the patients. Co-morbidities were found mainly in the anamnesis of persons over 50 years old. The most frequent clinical complication of coronavirus infection was bilateral pneumonia. After patient’s hospitalization, clinical and instrumental picture gradually improved, which was confirmed by radiological data.

Key words: COVID-19, polysegmental pneumonia, respiratory depression, comorbid conditions, CT-diagnosis, disease complication.

Введение

ОРВИ — самая распространенная патология человека. Ежегодно в России регистрируется более 30 млн случаев. Самая высокая частота заболеваемости наблюдается в период с сентября по апрель. Снижение заболеваемости ОРВИ в 3–5 раз всегда отмечается в летние месяцы. Принимая во внимание эпидемиологические события 2019–2022 гг., любой случай ОРВИ следует рассматривать как подозрительный на COVID-19 [1].

Новая коронавирусная инфекция (COVID-19) — острое вирусное заболевание с преимущественным поражением верхних дыхательных путей, вызываемое геномным РНК-вирусом из семейства *Coronaviridae* (вирус SARS-CoV-2). Распространение SARS-CoV-2 произошло на территории Китайской Народной Республики в период с декабря 2019 по март 2020 г. во всех провинциях

страны. Наибольшее число случаев было выявлено в провинции Хубэй (более 84% от общего числа случаев в Китае). В конце февраля 2020 г. эпидемиологическая ситуация по COVID-19 в Южной Корее, Иране и Италия стала такой же масштабной, что впоследствии привело к значительному увеличению числа случаев заболевания в мире, связанное с активным перемещением людей между странами. ВОЗ объявил 11 марта 2020 г. о начале пандемии COVID-19 [1, 8].

Основным источником респираторных вирусных инфекций и COVID-19 является больной человек, даже на раннем этапе заболевания. Передача инфекции осуществляется воздушно-капельным, воздушно-пылевым и контактным путями [1].

В Российской Федерации регистрация отдельных случаев COVID-19 началась в конце января 2020 г. Значительный рост произошел во второй половине марта. Вследствие доми-

нирования новой коронавирусной инфекции наблюдалось снижение заболеваемости ОРВИ. Принимая во внимание такие эпидемиологические особенности, любой случай атипичной пневмонии, независимо от эпидемиологического анамнеза, расценивался как подозрительный на COVID-19 [1].

На момент 2023 г. лидерами по коронавирусной инфекции являются: США (104 958 987 человек), Индия (44 684 775 человек) и Франция (39 582 057 человек). Россия по общей заболеваемости занимает десятое место (22 137 084 человек, 395 727 случаев с летальным исходом) [14].

На сегодняшний день ситуация с COVID-19 нестабильна, в поликлинической практике увеличивается количество случаев, подтвержденного инфицирования новой коронавирусной инфекцией. Система здравоохранения не была готова к такому кризису. Все имеющиеся ресурсы срочно были перенаправлены на лечение случаев COVID-19; в результате лечение хронических заболеваний и хирургические вмешательства отошли на второй план [4].

Выявленные факторы риска включают: неправильное питание и нарушение двигательной активности, недостаточное соблюдение правил гигиены, невысокий уровень качества медицинского обслуживания. Таким образом, несоблюдение правил ношения средств индивидуальной защиты, недостаточно высокие показатели вакцинации, несоблюдение социальной дистанции, особенно молодыми людьми, способствовали распространению коронавирусной инфекции и высокому уровню заболеваемости [3].

Особой группой риска является население, ограниченное в возможности приобретения медикаментов и средств индивидуальной защиты: инвалиды, пожилые люди, мигранты, безработные [4, 9].

Что касается самого COVID-19, то некоторые люди переносят инфекцию в легкой и бессимптомной форме, другие — более серьезно, с угрозой для жизни. Дети болеют реже и легче. Иммунная реакция у людей отличается уже в первые минуты/часы заболевания. Это зависит от многих факторов. Инфекция SARS-CoV-2 разрушает эндотелий сосудов, альвеолоциты 1-го и 2-го порядка и запускает иммунный ответ с участием макрофагов и моноцитов, которые реагируют на инфекцию, высвобождая цитокины, инициируя первичный адаптивный иммунный ответ с участием Т- и В-лимфоцитов. Однако у некоторых пациентов наблюдается дисфункциональный иммунный ответ, который может вызвать тяжелую легочную или системную патологию [5].

COVID-19 обладает способностью «наслаиваться» на уже существующую хроническую соматическую и инфекционную патологию, тем са-

мым ухудшая состояние пациента и увеличивая риск серьезных осложнений, вплоть до развития летального исхода. В некоторых случаях новая коронавирусная инфекция становится пусковым механизмом для развития хронических заболеваний, повышает чувствительность организма к заражению различными патогенами [10, 13].

Мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) легких рекомендуется всем пациентам с COVID-19, у которых имеется подозрение на пневмонию. При отсутствии возможности проведения МСКТ проводится обзорная рентгенография органов грудной клетки [12].

Анализ компьютерно-томографической картины пациентов с легким/средним течением COVID-19 показал, что при положительной динамике может наблюдаться полное восстановление воздушности легочной ткани. У пациентов с тяжелым течением заболевания по мере его прогрессирования возможно развитие интерстициальной пневмонии, которая может привести к фиброзу легких. Анализ состояния пациентов с COVID-19 после выписки из больницы указывает на высокую частоту развития у них легочной дисфункции вследствие фиброза [7, 11].

Лучевые методы не являются основными в диагностике этого заболевания, поскольку коронавирусная инфекция не имеет патогномичных признаков. Единственным специфическим методом диагностики является ПЦР. При диагностике COVID-19 необходимо комплексно оценить эпидемиологический анамнез, клиническую картину, стадию заболевания, результаты лучевых и лабораторных анализов [7, 8].

Для снижения заболеваемости и смертности населения от вышеупомянутых патологий требуется высокий уровень коллективного иммунитета против бактериальных и вирусных инфекций (пневмококковая инфекция, грипп, COVID-19), которого можно достичь с помощью вакцинации [2, 6, 11].

Целью данного исследования было выявление наиболее часто встречающихся коморбидных заболеваний и изменений при радиологическом исследовании у пациентов с COVID-19.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе инфекционного отделения № 1 ОГБУЗ «Клиническая больница № 1» г. Смоленска. В основу работы положены результаты изучения 69 карт стационарного больного с основным диагнозом «Коронавирусная инфекция». Учтены данные анамнеза и дополнительных инструментальных исследований. В работе использованы стандартные методы статистики. Количественные величины представлены средними значениями стандартных отклонений, категориальные — абсолютными значениями

и процентами. Сравнение количественных признаков осуществлялось с помощью непараметрического критерия Колмогорова–Смирнова и Манна–Уитни, категориальных — точного теста Фишера. Статистическая значимость определялась по уровню $p = 0,05$.

Результаты

В исследование были включены 69 пациентов в возрасте от 18 лет до 91 года. Средний возраст составил 55,83 года (56,11 года для женщин; 56,2 года для мужчин). Соотношение женщин и мужчин составило 1:0,8 (женщины — 55,07%, мужчины — 44,93%). 20,29% ($n = 14$) пациентов проживают в сельской местности (71,43% женщин, 28,57% мужчин), 79,71% ($n = 55$) — в городских районах (50,9% женщин, 49,1% мужчин).

Всем пациентам оказывалась медицинская помощь согласно установленному стандарту. В лечении использовались антикоагулянтная, антиагрегантная, гормональная, антибактериальная и кислородная терапия. Стационарное лечение больных продолжалось от 5 до 36 дней. После госпитализации у всех пациентов было отмечено клиническое выздоровление.

Аносмия в первый день заболевания зафиксирована только у одного пациента, симптомы детоксикации — у 23,19%. Все пациенты отмечали слабость и повышение температуры тела.

Максимальная температура тела колебалась от 36,7 до 40°C, среднее значение составило 38°C. Кашель отмечается у трети пациентов у большинства из них (94,74%) он носил характер малопродуктивного частого.

Наиболее распространенной являлась средняя степень тяжести течения инфекции (75,36%), тяжелая форма наблюдалась у 23,19%. При этом снижения уровня насыщения кислородом ниже 95% у мужчин и ниже 89% у женщин не наблюдалось, в основном этот показатель составлял 97–99% в двух группах пациентов. У большинства больных признаков дыхательной недостаточности (ДН) не наблюдалось. ДН-1 была отмечена у 22,74% больных, случаи ДН-2 и ДН-3 практически отсутствовали.

Сопутствующие соматические заболевания могут повлиять на течение инфекционного процесса, в том числе ухудшить состояние пациента. Была выявлена группа пациентов (66,67%) с коморбидными патологиями различных органов и систем.

Среди пациентов наиболее распространенными сопутствующими заболеваниями были: артериальная гипертензия (95,65%), ишемическая болезнь сердца (78,26%), сахарный диабет (СД 1 типа — 4,35%; СД 2 типа — 26,08%), ожирение 1–2 степени (17,39%), хронический гепатит (17,39%). Заболевания желудочно-кишечного тракта и респираторной системы встречались реже.

Таблица 1. Структура коморбидных состояний по полу и возрасту

Table 1. Structure of comorbid conditions by sex and age

Коморбидное состояние Comorbid condition	Мужчины Men		Женщины Women	
	До 50 лет, % Up to 50 years of age, %	После 50 лет, % After 50 years of age, %	До 50 лет, % Up to 50 years of age, %	После 50 лет, % After 50 years of age, %
Артериальная гипертензия Arterial hypertension	8,69	34,78	4,31	91,3
Ишемическая болезнь сердца Coronary heart disease	8,69	47,83	–	78,26
Сахарный диабет Diabetes mellitus	–	4,35	–	30,43
Ожирение Obesity	13,04	4,35	–	17,39
Гепатит Hepatitis	4,35	8,69	–	17,39
Заболевания мочеполовой системы Diseases of the urogenital system	–	8,69	–	13,04
Заболевания эндокринной системы Diseases of the endocrine system	–	4,35	–	4,35
Заболевания желудочно-кишечного тракта Diseases of the gastrointestinal tract	–	–	4,35	21,74
Заболевания респираторной системы Diseases of the respiratory system	–	8,69	4,35	17,39

У мужчин наблюдались следующие сопутствующие состояния: артериальная гипертензия (43,48%), ишемическая болезнь сердца (56,52%), ожирение 1–3 степени (21,73%).

По сравнению с женщинами, у мужчин в анамнезе были такие заболевания, как подагра (13,04%), стеатоз печени и варикозное расширение вен нижних конечностей (8,69%).

По нашим данным каждый пациент старше 50 лет имеет хронические заболевания, чаще всего несколько.

Структура регистрируемых осложнений данного заболевания следующая: двусторонняя полисегментарная пневмония — 72,46%; односторонняя полисегментарная пневмония — 2,8%; плеврит — 4,35%; односторонний гидроторакс — 1,45%.

При исследовании каждому из пациентов стационара проводилось радиологическое исследование. При этом МСКТ была выполнена 60,87% пациентов, а рентгенографическое исследование легких — 39,13%.

По данным МСКТ органов грудной клетки (ОГК) выделяют 5 степеней изменения легочной ткани при COVID-19 [11]. Так вначале стационарного лечения в подавляющем большинстве случаев визуализировалась стадия КТ-2 — 64,29%, в меньшем проценте случаев КТ-1 — 26,19%, реже всего встречались КТ-3 — 7,14% и КТ-4 — 2,38%. В отличие от этого при контрольном проведении МСКТ ОГК перед выпиской пациента наблюдалось следующее распределение степеней изменения легочной ткани: КТ-0 — 7,14%, КТ-1 — 64,29%, КТ-2 — 26,19%, КТ-3 — 2,38%.

Процент поражения легочной ткани по результатам радиологического исследования снизился в среднем на 12,16% у пациентов с первоначальной стадией КТ-1, на 14% — у больных с КТ-2, на 12% — с КТ-3, на 26% — с КТ-4. Статистически достоверна взаимосвязь показателей объема поражения легочной ткани при радиологическом исследовании пациентов в начале госпитализации и при выписке из стационара, $p < 0,05$.

В ходе периодического тестирования каждого пациента было установлено, что в течение всего периода лечения отрицательный результат ПЦР-теста был определен у 23 пациентов (33,33%).

Таблица 2. Структура осложнений по половому признаку

Table 2. Structure of complications by gender

Осложнения Complications	Мужчины, % Men, %	Женщины, % Women, %
Двусторонняя полисегментарная пневмония Bilateral polysegmental pneumonia	80,65	65,79
Односторонняя полисегментарная пневмония Unilateral polysegmental pneumonia	3,22	2,63
Плеврит Plevritis	6,44	2,63
Односторонний гидроторакс Unilateral hydrothorax	–	2,63
Отсутствует Not available	12,9	28,95

В начале госпитализации отрицательный результат ПЦР-диагностики был получен в 8,7% случаев, при последующих тестах результат был положительным. Большинство пациентов (57,97%) было госпитализировано с подтвержденной коронавирусной инфекцией.

Выводы

Среди пациентов преобладало среднетяжелое течение заболевания с ДН-0. Наиболее распространенным клиническим осложнением коронавирусной инфекции является двусторонняя пневмония.

Сопутствующие заболевания встречались в основном в анамнезе у лиц старше 50 лет. Патология сердечно-сосудистой системы была наиболее распространенной коморбидной патологией во всех изученных группах.

После госпитализации пациента наблюдается постепенное улучшение клинической картины, которое подтверждалось результатами радиологических исследований.

Список литературы/References

1. Временные методические рекомендации. Лекарственная терапия острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) в амбулаторной практике в период эпидемии COVID-19. Версия 2 (16.04.2020). 2020. С. 3–15. [Temporary guidelines. Drug therapy of acute respiratory viral infections in outpatient practice during the COVID-19 epidemic. Version 2 (16.04.2020). 2020, pp. 3–15. (In Russ.)] URL: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/050/033/original/RESP_REC_V2.pdf
2. Брико Н.И., Коршунов В.А., Ломоносов К.С. Пневмококковая инфекция в Российской Федерации: состояние проблемы // Вестник Российской академии медицинских наук. 2021. Т. 76, № 1. С. 28–42. [Briko N.I., Korshunov V.A., Lomonosov K.S. pneumococcal infection in Russia: state of the issue. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2021, vol. 76, no. 1, pp. 28–42. (In Russ.)] doi: 10.15690/vramn8360

3. Горошко Н.В., Емельянова Е.К., Пацала С.В. Проблема медицинской активности населения России в эпоху COVID-19 // Социальные аспекты здоровья населения. 2022. Т. 68, № 3: 15. [Goroshko N.V., Emelyanova E.K., Patsala S.V. The problem of medical activity of the russian population during COVID-19. *Sotsial'nye aspekty zdorov'ya naseleniya = Social aspects of Population Health*, 2022, vol. 68, no. 3: 15. (In Russ.)] doi: 10.21045/2071-5021-2022-68-3-15
4. Евсева Я.В. Пожилые люди во время пандемии COVID-19 // Социальные и гуманитарные науки. Отечественная и зарубежная литература. Серия 11: Социология. 2021. № 2. С. 75–93. [Evseeva Ya.V. Older adults during the COVID-19 pandemic. *Sotsial'nye i gumanitarnye nauki. Otechestvennaya i zarubezhnaya literatura. Seriya 11: Sotsiologiya = Social and Humanitarian Sciences. Domestic and Foreign Literature. Issue 11, Sociology*, 2021, no. 2, pp. 75–93. (In Russ.)] doi: 10.31249/rsoc/2021.02.07
5. Ковтун О.П., Оленькова О.М., Бейкин Я.Б. Иммунный ответ при новой коронавирусной инфекции COVID-19 у детей и взрослых // Уральский медицинский журнал. 2021. Т. 20, № 4. С. 12–17. [Kovtun O.P., Olenkova O.M., Beikin Ja.B. Immune response in new coronavirus infection COVID-19 in children and adults *Ural'skii meditsinskii zhurnal = Ural Medical Journal*, 2021, vol. 20, no. 4, pp. 12–17. (In Russ.)] doi: 10.52420/2071-5943-2021-20-4-12-17
6. Кравченко Н.А., Зайкова З.А., Баянова Т.А., Бобкова Е.В. Пневмонии и COVID-19: анализ заболеваемости и смертности // Социальные аспекты здоровья населения. 2022. Т. 68, № 4. С. 1–16. [Kravchenko N.A., Zaikova Z.A., Bayanova T.A., Bobkova E.V. Pneumonia and COVID-19: morbidity and mortality analysis *Sotsial'nye aspekty zdorov'ya naseleniya = Social Aspects of Population Health*, 2022, vol. 68, no. 4, pp. 1–16. (In Russ.)] doi: 10.21045/2071-5021-2022-68-4-2
7. Лучевая диагностика коронавирусной болезни (COVID-19): организация, методология, интерпретация результатов: методические рекомендации // Серия «Лучшие практики лучевой и инструментальной диагностики». Выпуск 65. М.: ГБУЗ «Научно-практический клинический центр диагностики и телемедицинских технологий Департамента здравоохранения города Москвы», 2020. 76 с. [Coronavirus Diagnosis by Radiation (COVID-19): organization, methodology and interpretation of results: methodical recommendation. Series «Best practices of radiological and instrumental diagnostics». *Moscow: Scientific and Practical Clinical Center for Diagnostics and Telemedicine Technologies of the Moscow Department of Health*, 2020. 76 p. (In Russ.)]
8. Михайлов А.Н., Нечипоренко А.С., Водянова О.В. КТ-семиотика COVID-19 // Международные обзоры: клиническая практика и здоровье. 2021. № 1. С. 4–14. [Mikhailov A.N., Nechiporenko A.S., Vodyanova O.V. CT-semiotics of COVID-19 *Mezhdunarodnye obzory: klinicheskaya praktika i zdorov'e = International Reviews: Clinical Practice and Health*, 2021, no. 1, pp. 4–14. (In Russ.)]
9. Неравенство и бедность // Федеральная служба государственной статистики. [Inequality and poverty. Federal State Statistics Service (In Russ.)] URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/13723>
10. Семененко Т.А., Акимкин В.Г., Бурцева Е.И., Ноздрачева А.В., Симонова Е.Г., Тутельян А.В., Углева С.В., Кузин С.Н. Особенности эпидемической ситуации по острым респираторным вирусным инфекциям с учетом пандемического распространения COVID-19 // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2022. Т. 21, № 4. С. 4–15. [Semenenko T.A., Akimkin V.G., Burtseva E.I., Nozdracheva A.V., Simonova E.G., Tutelyan A.V., Ugleva S.V., Kuzin S.N. Characteristics of the epidemic situation associated with acute respiratory viral infections in the Russian Federation during the pandemic spread of COVID-19 *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccine Prevention*, 2022, vol. 21, no. 4, pp. 4–15. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2022-21-4-4-15
11. Суворенко Т.Н., Глушкова Е.Ф. Вакцинация от гриппа в условиях пандемии COVID-19 // Журнал Поликлиника. 2021. № 1. С. 70–77. [Suvorenko T.N., Glushkova E.F. Influenza vaccination in the context of the COVID-19 pandemic. *Zhurnal Poliklinika = Journal Polyclinic*, 2021, no. 1, pp. 70–77. (In Russ.)]
12. Ходкевич И.С., Кирюшина М.Ю. Компьютерная томография легких у пациента с пневмонией при COVID-19 в динамике // FORCIPE. 2021. Т. 4, № S1. С. 202–202. [Khodkevich I.S., Kiryushina M.Yu. Computed tomography of the lungs in a patient with pneumonia with COVID 19 in dynamics *FORCIPE*, 2021, vol. 4, no. S1, p. 202. (In Russ.)]
13. Шкарин В.В., Ковалишена О.В., Муртаева А.А., Сергеева А.В. Новая коронавирусная инфекция: аспекты комплексной коморбидности // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2022. Т. 21, № 2. С. 98–107. [Shkarin V.V., Kovalishena O.V., Murtaeva A.A., Sergeeva A.V. New coronavirus infection: aspects of complex comorbidity *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccine Prevention*, 2022, vol. 21, no. 2, pp. 98–107. (In Russ.)] doi:10.31631/2073-3046-2022-21-2-98-107
14. COVID — Coronavirus Statistics — Worldometer // Worldometer. URL: <https://www.worldometers.info/coronavirus>

Авторы:

Титова А.В., студент 6 курса ФГБОУ ВО Смоленский государственный медицинский университет Минздрава РФ, г. Смоленск, Россия;
Гивойно У.К., студент 6 курса ФГБОУ ВО Смоленский государственный медицинский университет Минздрава РФ, г. Смоленск, Россия;
Денисова Т.П., к.м.н., доцент кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВО Смоленский государственный медицинский университет Минздрава РФ, г. Смоленск, Россия.

Authors:

Titova A.V., 6th grade Student, Smolensk State Medical University, Smolensk, Russian Federation;
Givoyno U.K., 6th grade Student, Smolensk State Medical University, Smolensk, Russian Federation;
Denisova T.P., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Hospital Therapy, Smolensk State Medical University, Smolensk, Russian Federation

Поступила в редакцию 28.03.2023
 Принята к печати 02.10.2023

Received 28.03.2023
 Accepted 02.10.2023

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО ОСТЕОМИЕЛИТА, ВЫЗВАННОГО АССОЦИАЦИЕЙ *KYTOCOCCUS SCHROETERI* И *ENTEROCOCCUS FAECALIS*

С.Д. Борисов¹, И.Ф. Каримов¹, А.О. Плотников^{1,2}, К.С. Инчагова², А.С. Паньков¹,
Д.П. Даньшин³

¹ ФГБОУ ВО Оренбургский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Оренбург, Россия

² Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук — обособленное структурное подразделение ФГБУН Оренбургский федеральный исследовательский центр УрО РАН, г. Оренбург, Россия

³ ГАУЗ Оренбургский областной клинический специализированный центр травматологии и ортопедии, г. Оренбург, Россия

Резюме. Введение. Остеомиелиты в большинстве случаев являются мономикробными и вызываются различными грамположительными бактериями, однако предшествующая травма может способствовать формированию микробной ассоциации. Наличие двух и более патогенов в инфекционном очаге может сильно усложнять клиническую картину течения заболевания. *Kytococcus schroeteri* является одним из наиболее редко встречающихся возбудителей в клиническом материале. Число описанных случаев заболеваний, вызванных данным микроорганизмом, в мире насчитывает немногим более двух десятков. Цель исследования — анализ впервые выявленного клинического случая посттравматического остеомиелита, вызванного ассоциацией *Kytococcus schroeteri* и *Enterococcus faecalis*. **Материалы и методы.** Культуры получены бактериологическим методом из раневого отделяемого голени пациента. Идентификацию чистых культур бактерий осуществляли с использованием масс-спектрометра VITEK MS и подтверждали анализом нуклеотидной последовательности 16S рРНК. Установлены морфологические, тинкториальные и биохимические особенности полученных культур, а также определена их чувствительность к антибиотикам. **Результаты.** Клинический случай связан с установленным диагнозом «Хронический посттравматический остеомиелит левой голени». Из раневого отделяемого изолированы два вида микроорганизмов, которые были идентифицированы как *Kytococcus schroeteri* и *Enterococcus faecalis* с использованием метода MALDI-ToF масс-спектрометрии. Секвенирование гена 16S рРНК выделенных культур бактерий полностью подтвердило результаты MALDI-ToF масс-спектрометрии. Чувствительность к антибиотикам для *Kytococcus schroeteri* была определена по критериям для группы стафилококков согласно клиническим рекомендациям «Определение чувствительности к антимикробным препаратам (ред. 2021 г.)». **Выводы.** Нами впервые описан вариант микст-инфекции, вызванной двумя грамположительными бактериями *K. schroeteri* и *E. faecalis*. Подобные ассоциации могут усиливать патогенетические эффекты друг друга, что может способствовать переходу инфекции в хроническую форму с низкой вероятностью положительного результата бактериологического исследования. *K. schroeteri* является одним из представителей нормальной микрофлоры кожи, однако данный микроорганизм способен вызывать различные заболевания. При бактериологическом исследовании подозрительным признаком, указывающим на возможную принадлежность

Адрес для переписки:

Плотников Андрей Олегович
460000, Россия, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11,
Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН.
Тел.: 8 (3532) 77-54-17.
E-mail: protoz@mail.ru

Contacts:

Andrey O. Plotnikov
460000, Russian Federation, Orenburg, Pionerskaya str., 11,
Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis.
Phone: +7 (3532) 77-54-17.
E-mail: protoz@mail.ru

Для цитирования:

Борисов С.Д., Каримов И.Ф., Плотников А.О., Инчагова К.С.,
Паньков А.С., Даньшин Д.П. Клинический случай посттравматического
остеомиелита, вызванного ассоциацией *Kytococcus schroeteri*
и *Enterococcus faecalis* // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5.
С. 985–994. doi: 10.15789/2220-7619-ACC-15623

Citation:

Borisov S.D., Karimov I.F., Plotnikov A.O., Inchagova K.S., Pankov A.S.,
Danshin D.P. A clinical case of posttraumatic osteomyelitis associated
with *Kytococcus schroeteri* and *Enterococcus faecalis* // Russian Journal
of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 5,
pp. 985–994. doi: 10.15789/2220-7619-ACC-15623

культуры к виду *K. schroeteri*, является устойчивость к оксациллину. В связи с невозможностью использования имеющихся биохимических тест-систем, не нацеленных на дифференциацию *K. schroeteri* от родственных таксонов, надежная идентификация данного вида пока возможна лишь с применением метода MALDI-ToF масс-спектрометрии или секвенирования гена 16S рРНК.

Ключевые слова: *Kytococcus schroeteri*, *Enterococcus faecalis*, раневая инфекция, остеомиелит, MALDI-ToF масс-спектрометрия, секвенирование гена 16S рРНК.

A CLINICAL CASE OF POSTTRAUMATIC OSTEOMYELITIS ASSOCIATED WITH KYTOCOCCUS SCHROETERI AND ENTEROCOCCUS FAECALIS

Borisov S.D.^a, Karimov I.F.^a, Plotnikov A.O.^{a,b}, Inchagova K.S.^b, Pankov A.S.^a, Danshin D.P.^c

^a Orenburg State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Orenburg, Russian Federation

^b Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg Federal Research Center of the UrB RAS, Orenburg, Russian Federation

^c Orenburg Regional Clinical Specialized Center of Traumatology and Orthopedics, Orenburg, Russian Federation

Abstract. Introduction. In most cases, osteomyelitis is the monomicrobial disease caused by various Gram-positive bacteria. However, previous injury may contribute to formation of a microbial association. Presence of two or more pathogens in the infectious focus can markedly complicate the disease clinical picture. *Kytococcus schroeteri* is one of the rarest pathogens found in clinical samples. Slightly more than twenty described cases related to such infection have been recorded globally. The aim of the research was to analyse the first identified clinical case of post-traumatic osteomyelitis associated with *Kytococcus schroeteri* and *Enterococcus faecalis*. **Materials and methods.** The bacterial cultures were obtained from the wound discharge of the patient's shin by the cultural method. Identification of the bacterial cultures was performed using a VITEK MS mass spectrometer followed by 16S rRNA gene sequencing. The morphological, tinctorial and biochemical features of the cultures obtained were established, and their antibacterial resistance was also determined. **Results.** The clinical case was associated with the diagnosis "Chronic post-traumatic osteomyelitis of the left shin". Two types of microorganisms were isolated from the wound discharge, and identified as *Kytococcus schroeteri* and *Enterococcus faecalis* using the MALDI-ToF mass spectrometry method. 16S rRNA gene sequencing from the isolated bacterial cultures confirmed the MALDI-ToF mass spectrometry data. Antimicrobial susceptibility for this microorganism was determined according to the criteria for the staphylococcal group according to the clinical guide "Determination of sensitivity to antimicrobial drugs (rev. 2021)". **Conclusion.** For the first time, the mixed infection caused by two Gram-positive bacteria *K. schroeteri* and *E. faecalis* has been described. Such associations can enhance the pathogenic effects of each other bacterium, which may contribute to transition of the infection to a chronic form with a low probability of positive cultural test. *K. schroeteri* is a representative of the normal skin microbiota, but this microorganism is able to cause various infections. The *K. schroeteri* species should be differentiated from other representatives of the order *Micrococcales*. At cultural examination, resistance to oxacillin is a suspicious sign indicating that the bacterial culture might be potentially assigned to *K. schroeteri* species. Due to the unavailability of current biochemical tests for differentiation *K. schroeteri* from related taxa, reliable identification of this species is recommended using MALDI-ToF mass spectrometry or 16S rRNA gene sequencing.

Key words: *Kytococcus schroeteri*, *Enterococcus faecalis*, wound infection, osteomyelitis, MALDI-ToF mass spectrometry, 16S rRNA gene sequencing.

Введение

Остеомиелит представляет собой заболевание, различное по своему патогенезу, клиническим проявлениям и микробной этиологии. Наиболее типичными возбудителями инфекций подобного типа являются *Staphylococcus aureus*, выделяющийся более чем в 40% случаев, а также *Staphylococcus epidermidis* и *Streptococcus* spp. [11]. Реже обнаруживаются культуры грамотрицательных микроорганизмов, в частности, *Pseudomonas aeruginosa* и представители семейства *Enterobacteriaceae*, и лишь в отдельных случаях — виды *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus faecium* [9]. Кроме того, выявляются возбудители, нетипичные для остеомиелита, например, *Bartonella henselae*, *Pasteurella*

multocida, *Brucella* spp. и другие [7]. Также следует отметить, что зачастую остеомиелит представляет собой мономикробный инфекционный процесс, однако остеомиелиты, связанные с травмой или переломами, в 20–30% случаев являются полимикробными [12].

Вид *Kytococcus schroeteri* впервые был описан в 2002 г. и представляет собой аэробные неподвижные грамположительные кокки, не образующие капсулу [5]. Сложности в идентификации данного вида не позволяли раньше точно определять его при выделении бактериальной культуры возбудителя инфекций. Ситуация коренным образом изменилась с внедрением в клиническую микробиологию метода MALDI-ToF масс-спектрометрии, открывшего возможности ускоренного и более точного определения так-

сономической принадлежности микроорганизма вплоть до вида [4]. *K. schroeteri* является одним из наиболее редко встречающихся в клиническом материале возбудителей. Число описанных случаев заболеваний, вызванных данным микроорганизмом, в мире насчитывает немногим более двух десятков. Инфекции, вызванные данным видом, имеют некоторое сходство с инфекциями, вызванными коагулазонегативными стафилококками, и часто ассоциированы с хирургическим вмешательством или повреждениями, связанными с кожными покровами. В большинстве своем *K. schroeteri* был обнаружен при эндокардите, дисците и остеомиелите на фоне протезирования [2]. Стоит отметить, что впервые описанный случай остеомиелита, ассоциированный с данным микроорганизмом, был зарегистрирован у пациента с силиконовым имплантом левого плеча, страдающего рецидивирующей инфекцией, этиология которой впервые была установлена как стафилококковая, затем как микрококковая, и наконец, как китоккокковая [8]. Однако во всех случаях описанных инфекций *K. schroeteri* по-видимому являлся единственным этиологическим агентом, поскольку о наличии других возбудителей в исследуемом материале не упоминается.

Тем не менее наличие двух и более патогенов в инфекционном очаге может сильно усложнять клиническую картину течения заболевания вследствие межвидовых взаимодействий и изменения активности сосуществующих микроорганизмов. На примере *Enterococcus faecalis* показано, что, с одной стороны, данные бактерии могут выступать в качестве соколонизаторов, ускоряя процесс заселения биотопа [10], либо угнетать активность иммунной системы, что дает возможность активироваться оппортунистам [21]. С другой стороны, между разными видами в одном локусе возможны антагонистические взаимоотношения, ведущие, в частности, к нарушению структуры биопленок, образованных грамотрицательными бактериями [3, 20].

В связи с актуальностью выявления новых и редких возбудителей инфекций, в особенности — их ассоциаций, цель исследования заключалась в анализе впервые выявленного клинического случая посттравматического остеомиелита, вызванного ассоциацией *Kytococcus schroeteri* и *Enterococcus faecalis*.

Материалы и методы

Пациент С., мужского пола, 1983 г. рождения, в сентябре 2022 г. травма в быту, в результате падения с высоты собственного роста на левой голени сформировалась рана, которую лечил самостоятельно. Примерно за неделю до обращения в области раны появился свищевой ход с гнойным отделяемым. 11.10.2022

пациент обратился в ГАУЗ «Городская клиническая больница № 4» города Оренбурга (позже переименовано в ГАУЗ «Оренбургский областной клинический специализированный центр травматологии и ортопедии»), госпитализирован в отделение экстренной травматологии, где находился на лечении с 11.10.2022 по 18.10.2022.

Взятие материала осуществляли 14.10.2022 г. с помощью стерильных тупферов (Rustech, Россия), в стерильные пробирки с 2 мл транспортной среды Стюарта (Oxoid, Великобритания) согласно методическим указаниям МУ 4.2.2039-05 [1]. Материал транспортировали в микробиологическую лабораторию научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО Оренбургский государственный медицинский университет Минздрава России (зав. лабораторией — к.м.н. С.Д. Борисов), где проводили выделение культур микроорганизмов и их идентификацию по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам, а также по белковым спектрам, оцениваемым методом MALDI-ToF. Посев материала осуществляли секторным методом на чашки, содержащие колумбийский агар с 5% дефибрированной бараньей кровью (Средофф, Россия), после чего материал инкубировали при 37°C и просматривали колонии после 24 и 48 ч роста. Из отдельных колоний готовили мазки, окрашивали по Граму с использованием набора для окраски «Микро-Грамм-НИЦФ» (ООО «НИЦФ», Россия) и просматривали при увеличении ×1000 в микроскопе «Primo Star» (Carl Zeiss, Германия). Культуры идентифицировали с помощью метода MALDI-ToF на масс-спектрометре «VITEK MS» (bioMérieux, Франция). Биохимические свойства изучали с использованием биохимических тест-систем «STAPHYtest 16» (Erba Lachema s.r.o., Чехия) и API STAPH (bioMérieux, Франция) согласно инструкции изготовителя. Тест на цитохромоксидазу осуществляли с использованием тест-полос «OXI-test» и реактива для оксидазы (Erba Lachema s.r.o., Чехия). Тест на пирролидонилариламидазу осуществляли с использованием тест-полос «PYRA-test» и реактива для «PYRA-test» (Erba Lachema s.r.o., Чехия). Продукцию ацетоина оценивали с использованием тест-полос «VP-test» и реактивов VPT-I и VPT-II (Erba Lachema s.r.o., Чехия). Дополнительно ростовые свойства оценивали на лактозо-цистиновом агаре с пониженным содержанием электролитов (Oxoid, Великобритания) и солевом агаре (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) в течение 48 ч при 37°C. Рост в анаэробных условиях оценивался на колумбийском агаре с 5% дефибрированной бараньей кровью (Средофф, Россия) при инкубации в анаэрогастате (Thermo Fisher Scientific, США) с использованием газогенерирующих пакетов «Анаэрогаз» (ООО «ИНКО», Россия). Чувствительность к антибиотикам определяли

согласно методике, описанной в клинических рекомендациях «Определение чувствительности к антимикробным препаратам (ред. 2021 г.)», диско-диффузионным методом на агаре Мюллера–Хинтона (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) с использованием дисков с антибиотиками производства «ООО НИЦФ» (Россия) и Erba Lachema s.r.o. (Чехия).

Для идентификации по последовательности гена 16S рРНК выделенные культуры были переданы в Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук (ИКВС УрО РАН) — обособленное структурное подразделение ФГБУН Оренбургского федерального исследовательского центра УрО РАН. Получение ампликонов гена 16S рРНК проводили в ЦКП «Персистенция микроорганизмов» ИКВС УрО РАН (зав. ЦКП — к.м.н. А.О. Плотников). Ампликоны гена 16S рРНК получали методом ПЦР с праймерами 27F (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) и 1492R (GGTACCTTGTACGACTT) (ЗАО Евроген, Россия) и высокоточной Q5 ДНК-полимеразой (New England Biolabs Inc., США). Параметры ПЦР: 1) начальная денатурация при 98°C 30 с; 2) 35 циклов: денатурация при 98°C 10 с; отжиг праймеров при 63°C 30 с; элонгация при 72°C 45 с; 3) завершающий этап элонгации при 72°C 5 мин. Секвенирование полученных ампликонов проводили в ЗАО «Евроген» (Россия) на генетическом анализаторе «Applied Biosystems 3500xL» (Thermo Scientific, США).

Последовательности гена 16S рРНК выделенных культур *Enterococcus faecalis* и *Kytococcus schroeteri* депонированы в GenBank (NCBI) под номерами OQ685952.1 и OQ692569.1 соответственно. Данные штаммы микроорганизмов депонированы в Сетевую коллекцию симбионтных микроорганизмов ИКВС УрО РАН с названиями *Enterococcus faecalis* ICIS11 и *Kytococcus schroeteri* ICIS13 и доступны по запросу (<https://ikvs.info/biobank>).

Результаты

При госпитализации пациента в ходе осмотра установлено наличие свищевой раны 0,5 × 0,5 см со скудным гнойным отделяемым на передней поверхности средней трети левой голени, края раны гиперемированы, грануляции скудные, дном раны является надкостница. В области раны определяется свищевой ход со скудным серозно-гнойным отделяемым. Из анамнеза: в 2000 г. получил перелом обеих костей левой голени в автодорожной травме, после чего осуществлялся остеосинтез костей левой голени аппаратом внешней фиксации до полной консолидации перелома. Через шесть месяцев после демонтажа аппарата появилась гематома на ле-

вой голени, что потребовало вскрытия и дренирования. В сентябре 2022 г. получил бытовую травму левой голени, за медицинской помощью не обращался, лечился самостоятельно, через три недели появился свищевой ход с гнойным отделяемым. Диагноз по МКБ-10: «M86.6 Другой хронический остеомиелит, Хронический посттравматический остеомиелит левой голени. Гнойный свищ левой голени. Ожирение 3 ст.». При поступлении в общеклиническом анализе крови показатели в пределах нормы: лейкоциты — $5,00 \times 10^9$ /л; эритроциты — $5,13 \times 10^{12}$ /л; гемоглобин — 150,00 г/л; гематокрит — 42,00%; тромбоциты — $193,00 \times 10^9$ /л; гранулоциты — 53,00%; средние лейкоциты (Mid) — 7,30%; лимфоциты — 39,70%. В биохимическом анализе крови все показатели в пределах нормы: калий — 4,4 ммоль/л; натрий — 143,0 ммоль/л; холестерин — 4,1 ммоль/л; глюкоза — 5,8 ммоль/л; креатинин — 89,0 мкмоль/л; мочевины — 7,2 ммоль/л; общий белок — 88,0 г/л. На рентгенограмме левой голени: отломки переломов на уровне средней трети диафиза большеберцовой кости и нижней трети диафиза малоберцовой кости плотно консолидированы, на уровне верхней трети диафиза малоберцовой кости отломки стоят с диастазом, смежные поверхности с краевым склерозом — ложный сустав. По данным фистулографии контраст образует скопление на уровне мягких тканей по переднему контуру левой голени.

В ходе микробиологического исследования раневого отделяемого на колумбийском агаре с 5% дефибрированной бараньей кровью обнаружены два типа колоний в диагностическом количестве. Первый тип — белые колонии с полупрозрачным краем средних размеров, количество около 10^6 КОЕ/мл, по данным световой микроскопии — грамположительные кокки овоидной формы, расположенные чаще парно, реже — одиночно. Второй тип — белые мелкие колонии, количество около 10^5 КОЕ/мл, по данным световой микроскопии — грамположительные крупные овоидные кокки в парах, тетрадах или цепочках (рис. 1, III обложка). На вторые сутки инкубации колонии второго типа приобрели бежевую пигментацию.

С использованием MALDI-ToF масс-спектрометра «VITEK MS» (bioMérieux, Франция) культуры первого и второго типа были идентифицированы с уровнем сходства 99,9% по клинической базе микроорганизмов как *Enterococcus faecalis* и *Kytococcus schroeteri* соответственно.

Установлено, что культура *K. schroeteri* не обладает оксидазной и пирролидонилариламидазной активностью, не образует ацетоин в реакции Фогеса–Проскауера, но обладает каталазной активностью. Использование биохимических тест-систем «STAPHYtest 16» (Erba Lachema s.r.o., Чехия) и «API STAPH» (bioMérieux, Франция)

выявило низкую сахаролитическую активность исследуемого штамма и позволило идентифицировать его только как представителя родов *Micrococcus* или *Dermatococcus*. Таким образом, биохимические тест-системы, используемые в клинической микробиологии для идентификации бактерий, не позволяют корректно идентифицировать вид *K. schroeteri*.

Выявлены особенности роста на различных типах питательных сред, в частности рост на колумбийском агаре с бараньей кровью обильный, колонии округлые, выпуклые с ровным краем, при этом бежевая пигментация более отчетливо проявляется после 48 ч инкубации при 37°C. На лактозо-цистиновом агаре с пониженным содержанием электролитов (CLED) рост хоро-

ший, формируются округлые колонии молочного цвета, а на желточно-солевом агаре — рост очень слабый.

При инкубации в анаэроstate (Thermo Fisher Scientific, США) с использованием газогенерирующих пакетов «Анаэрогаз» (ООО «ИНКО», Россия) в течение 72 ч роста культуры *K. schroeteri* не наблюдалось, что свидетельствует о принадлежности исследуемой культуры к облигатным аэробам. Чувствительность к антибиотикам была определена по критериям для группы стафилококков согласно клиническим рекомендациям «Определение чувствительности к антимикробным препаратам (ред. 2021 г.)» с использованием дисков (табл. 1). Культура показала резистентность

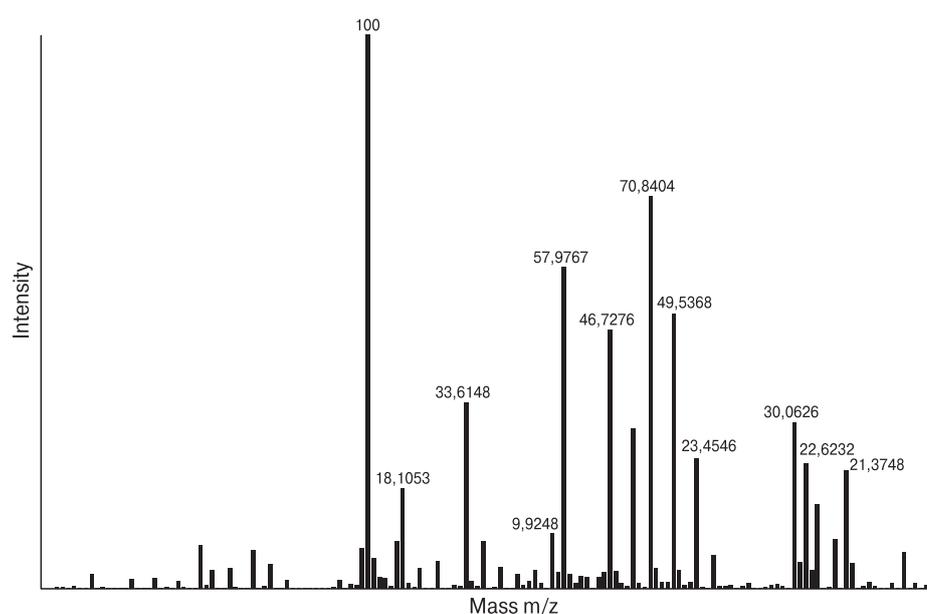
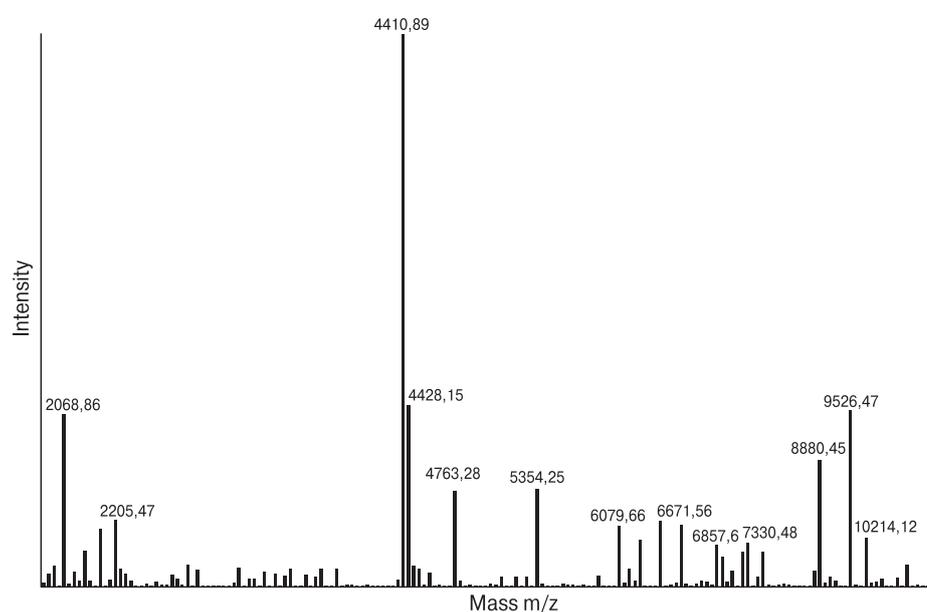
Таблица 1. Результаты антибиотикограммы выделенной культуры *Kytococcus schroeteri* ICIS13

Table 1. Antibacterial resistance in *Kytococcus schroeteri* ICIS13 culture

Группа Group	Антибиотик Antibiotic	Доза (мкг) Dose (µg)	Резистентность/чувствительность Resistance/sensitivity
Пенициллины Penicillins	Бензилпенициллин Benzylpenicillin	1 Ед/Unit	устойчив resistant
Пенициллины Penicillins	Ампициллин Ampicillin	2	устойчив resistant
Пенициллины Penicillins	Тикарциллин Ticarcillin	75	чувствителен sensitive
Пенициллины Penicillins	Оксациллин Oxacillin	1	устойчив resistant
Цефалоспорины Cephalosporins	Цефокситин Cefoxitin	30	чувствителен sensitive
Цефалоспорины Cephalosporins	Цефиксим Cefixime	5	устойчив resistant
Цефалоспорины Cephalosporins	Цефотаксим Cefotaxime	5	устойчив resistant
Тетрациклины Tetracyclines	Тетрациклин Tetracycline	30	чувствителен sensitive
Аминогликозиды Aminoglycosides	Гентамицин Gentamicin	10	чувствителен sensitive
Макролиды Macrolides	Эритромицин Erythromycin	15	чувствителен sensitive
Линкозамиды Lincosamides	Клиндамицин Clindamycin	2	чувствителен sensitive
Фторхинолоны Fluoroquinolones	Ципрофлоксацин Ciprofloxacin	5	чувствителен при увеличенной экспозиции sensitive at long exposition
Сульфаниламиды Sulfonamides	Триметоприм/Сульфаметоксазол Trimethoprim/Sulfomethoxazole	1,25/23,75	чувствителен sensitive
Амфениколы Amphenicols	Левомецетин Levomecetin	30	чувствителен sensitive
Стероидные Steroids	Фузидовая кислота Fusidic acid	10	чувствителен sensitive
Ансамцины Ansamycins	Рифампицин Rifampicin	5	чувствителен sensitive
Полипептиды Polypeptides	Бацитрацин Bacitracin	0,04 Ед/Unit	устойчив resistant
Гликопептиды Glycopeptides	Ванкомицин Vancomycin	5	чувствителен sensitive
Оксазолидиноны Oxazolidinones	Линезолид Linezolid	10	чувствителен sensitive

Таблица 2. Результаты антибиотикограммы выделенной культуры *Enterococcus faecalis* ICIS11Table 2. Antibacterial resistance in *Enterococcus faecalis* ICIS11 culture

Группа Group	Антибиотик Antibiotic	Доза (мкг) Dose (μg)	Резистентность/чувствительность Resistance/sensitivity
Пенициллины Penicillins	Ампициллин Ampicillin	2	чувствителен sensitive
Карбапенемы Carbapenems	Имипенем Imipenem	10	устойчив resistant
Фторхинолоны Fluoroquinolones	Ципрофлоксацин Ciprofloxacin	5	чувствителен sensitive
Гликопептиды Glycopeptides	Ванкомицин Vancomycin	5	чувствителен sensitive
Аминогликозиды Aminoglycosides	Гентамицин Gentamicin	30	чувствителен sensitive
Оксазолидиноны Oxazolidinones	Линезолид Linezolid	10	чувствителен sensitive

**Рисунок 2. Масс-спектры культур *Enterococcus faecalis* ICIS11 (вверху) и *Kytococcus schroeteri* ICIS13 (внизу)**Figure 2. Mass spectra of *Enterococcus faecalis* ICIS11 (top) and *Kytococcus schroeteri* ICIS13 (bottom) cultures

к бензилпенициллину, ампициллину, оксациллину, цефиксиму, цефотаксиму, бацитрацину. Для *E. faecalis* чувствительность к антибиотикам определяли по критериям для группы энтерококков (табл. 2), культура оказалась устойчивой к имипенему.

Детальное изучение спектра белков выделенных культур с использованием программного пакета SARAMIS (bioMérieux, Франция) позволило установить, что для культуры *E. faecalis* характерно 174 пика, профиль которых на 99,9% соответствует профилю суперспектра *E. faecalis* 14, основанного на исследовании штамма DSM 20478 и ряда других изолятов. Для полученной нами культуры *K. schroeteri* характерно наличие 153 пиков, что на 99,9% совпадает с профилем суперспектра *Kytococcus schroeteri* 1, собранного на образце П1_V2P2A_K (рис. 2).

Секвенирование гена 16S рРНК выделенных культур бактерий полностью подтвердило результаты MALDI-ToF масс-спектрометрии. Поиск го-

мологических последовательностей гена 16S рРНК в базе данных rRNA/ITS (NCBI) с помощью инструмента BLAST на дату 19.06.2023 г. показал следующие результаты. Последовательность гена 16S рРНК длиной 1443 н.п. выделенного штамма *E. faecalis* оказалась на 100% идентичной последовательности гена *E. faecalis* CC-11 (accession No. GenBank: MW175600.1), депонированной автором из Великобритании (Королевский колледж Лондона). Последовательность гена 16S рРНК длиной 1404 н.п. выделенного штамма *K. schroeteri* показала 99,72% сходства с последовательностью гена *K. schroeteri* isolate CSUR-FIRM1 (accession No. GenBank: DQ358755.1), выделенного из крови пациента с бактериальным эндокардитом (Renvoise и соавт., 2008). Сравнимые последовательности отличались лишь по 4 нуклеотидам и объединялись на филогенетическом древе в общий кластер из 15-ти последовательностей гена 16S рРНК культур *K. schroeteri*, депонированных в GenBank (NCBI) (рис. 3).

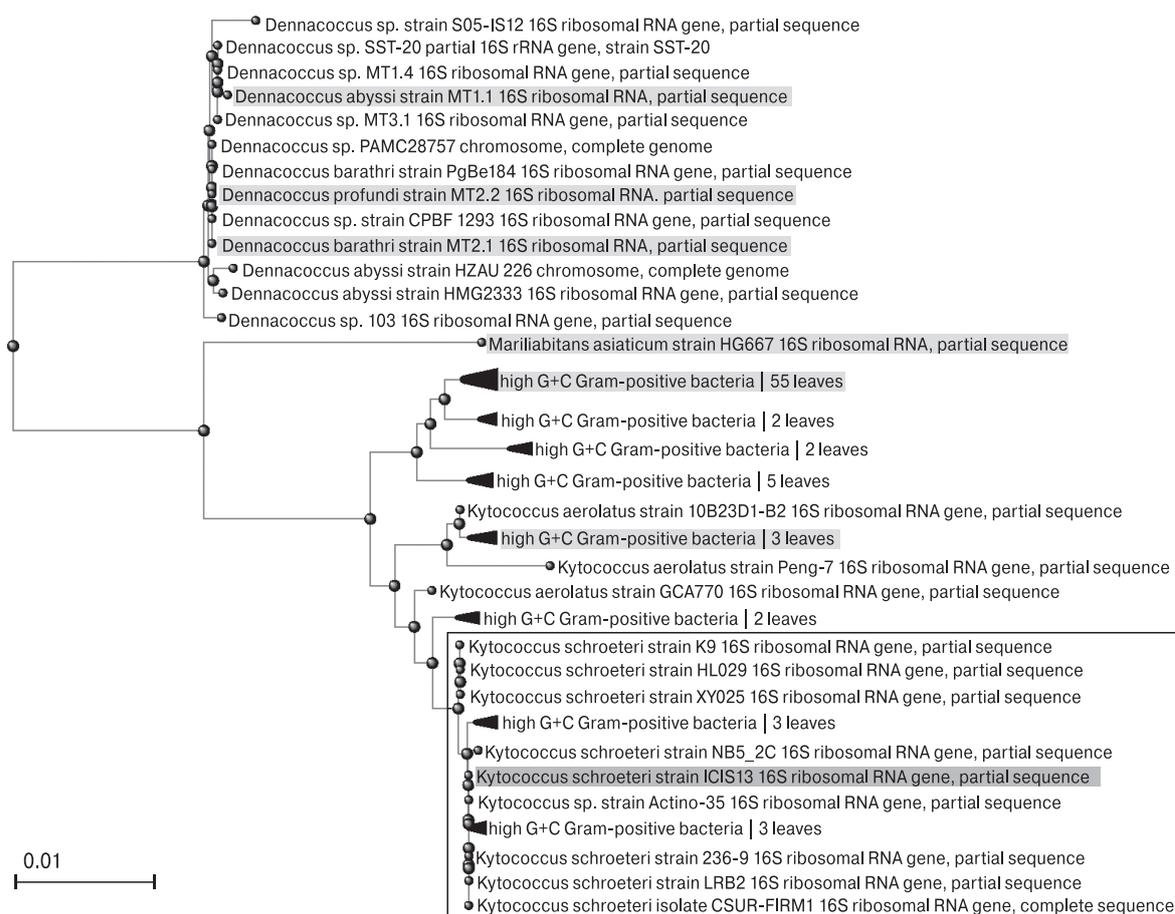


Рисунок 3. Филогенетическое древо, построенное с помощью инструмента BLAST (NCBI) по последовательностям гена 16S рРНК методом Fast Minimum Evolution, демонстрирующее кластер *Kytococcus schroeteri* (в рамке) из 15 последовательностей, включая ген выделенного штамма *K. schroeteri* ICIS13

Figure 3. Phylogenetic tree built using the BLAST tool (NCBI) based on the 16S rRNA gene sequences analyzed by Fast Minimum Evolution method showing the *Kytococcus schroeteri* cluster (in frame) composed of 15 sequences including the gene of isolated *Kytococcus schroeteri* strain ICIS13

12.10.2022 пациенту выполнено оперативное вмешательство: хирургическая обработка гнойного очага левой голени. При ревизии раны обнаружен небольшой участок сухой девитализированной большеберцовой кости. Выполнена декорткация участка, ультразвуковая кавитация ран. Рана обильно промыта перекисью водорода, стерильным 0,9% раствором хлорида натрия, осушена. Рана частично ушита отдельными узловыми швами. До и после операции пациент получал анальгетическую, сосудистую терапию. В качестве антимикробной терапии назначен гентамицин внутримышечно с режимом дозирования по 160 мг дважды в сутки в течение семи дней. В результате лечения отмечено улучшение общего состояния пациента, температура тела снизилась до нормальной, рана очистилась и начала эпителизоваться, бактерии из раны не высеваются. Перед выпиской по данным осмотра левой голени: края раны эпителизованы, без признаков воспаления, дно раны — надкостница, отделяемого из раны нет, швы состоятельны. Рана заживает вторичным натяжением. Полного заживления раневой поверхности следует ожидать в течение двух недель. Рекомендовано наблюдение у травматолога по месту жительства, перевязки с антисептиками ежедневно, снятие швов через 14 дней. После выписки пациент повторно в данное медицинское учреждение не обращался.

Обсуждение

Род *Kytococcus* (семейство *Kytococcaceae*, порядок *Micrococcales*, класс *Actinomycetes*, фила *Actinomycetota*) впервые был выделен в качестве самостоятельного таксона из рода *Micrococcus* в 1995 г. [19] и согласно базе данных LPSN — List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (<https://lpsn.dsmz.de>) включает в себя три вида: *K. aerolatus*, *K. schroeteri*, *K. sedentarius*. Тем не менее на данный момент не сформированы критерии оценки чувствительности к антибиотикам, а большинство исследователей использует критерии устойчивости/чувствительности, разработанные для стафилококков [2, 18]. *K. schroeteri* обычно характеризуется устойчивостью к пенициллину и цефалоспорином, что не типично для рода *Micrococcus* [14].

Несмотря на то что *K. schroeteri* является одним из представителей нормальной микрофлоры кожи, данный микроорганизм способен вызывать различные заболевания, включая эндокардит протезных клапанов, инфекцию вентрикулоперитонеального шунта, протезный дисцит на фоне диабета второго типа, пневмонию и бактериемию на фоне астмы или лейкемии, а также инфекции после операций по протезированию сухожилий и костей [17].

Одной из проблем определения этиологии заболеваний, вызванных *K. schroeteri*, является относительно слабая известность данного вида, который был впервые описан лишь в 2002 г. [5], а также отсутствие тест-систем, в том числе биохимических, для надежной культуральной идентификации, в связи с чем достоверная идентификация до недавнего времени была возможна лишь с помощью риботипирования. В настоящее время в диагностических лабораториях по-прежнему невозможно бактериологическими методами надежно выделять и идентифицировать бактерии вида *Kytococcus schroeteri*. Данная ситуация объясняет скудное количество информации об этом таксоне — около двух десятков клинических случаев описано в международных журналах, при этом ни одной публикации российских авторов, и всего 15 последовательностей гена 16S рРНК из культур *K. schroeteri* депонировано в крупнейшей мировой базе данных GenBank (NCBI). В нашей работе удалось идентифицировать культуру *K. schroeteri*, выделенную в ассоциации с другим видом бактерий, только с помощью MALDI-ToF масс-спектрометрии. Достоверность идентификации подтверждена секвенированием гена 16S рРНК. Стоит отметить, что вид *K. schroeteri* был добавлен в базу микроорганизмов «VITEK MS — клиническое применение» только начиная с версии 3.2.

В нашем исследовании впервые описан вариант микст-инфекции, вызванной двумя грамположительными бактериями: *K. schroeteri* и *E. faecalis*. Подобные ассоциации могут усиливать патогенетические эффекты друг друга. Одной из причин такого эффекта является образование биопленки в раневой области [15], в которой один вид бактерий способствует адгезии и колонизации другого вида. Как следствие, раневая инфекция может переходить в хроническую форму с низкой вероятностью положительного посева при проведении микробиологического исследования [6]. Обнаружение энтерококков, чаще всего именно *E. faecalis*, как в нашем исследовании, в составе ассоциаций возбудителей инфекции, способствует передаче и распространению генов резистентности к антибиотикам [13], но в то же время может препятствовать колонизации раны грамотрицательными бактериями за счет антагонизма [20].

Таким образом, следует дифференцировать представителей вида *K. schroeteri* от других представителей порядка *Micrococcales*. При бактериологическом исследовании подозрительным признаком, указывающим на возможную принадлежность культуры *K. schroeteri*, является устойчивость к оксациллину. В связи с невозможностью использования имеющихся биохимических тест-систем, не нацеленных на дифференциацию *K. schroeteri* от родственных таксонов,

надежная идентификация данного вида пока возможна лишь с применением метода MALDI-ToF масс-спектрометрии или секвенирования гена 16S рРНК. Для более полного представления о биологии бактерий рода *Kytococcus* требуется более тщательное исследование, которое позволило бы охарактеризовать частоту встречаемости этих бактерий в клиническом материале, фенотипические особенности штаммов, в том числе сахаролитическую и протеолитическую активности, факторы патогенности, персистентный потенциал, механизмы и гены устойчивости к антибиотикам, особенности структуры генома. Дальнейшие

исследования различных типов бактериальных ассоциаций помогут выявить закономерности патогенеза при смешанных инфекциях, что позволит разработать более эффективные средства этиотропной терапии этих заболеваний.

Благодарности

Авторы выражают благодарность д.т.н., в.н.с. ЦКП «Персистенция микроорганизмов» ИКВС УрО РАН (г. Оренбург) Ю.А. Хлопко за депонирование последовательностей ДНК в GenBank (NCBI).

Список литературы/References

1. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории: Методические указания (МУ 4.2.2039-05). М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006. 126 с. [Technique for collecting and transporting biomaterials to microbiological laboratories: Guidelines (MU 4.2.2039-05). Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor, 2006. 126 p. (In Russ.)]
2. Bagelman S., Zvigule-Neidere G. Insight into *Kytococcus schroeteri* infection management: a case report and review. *Infect. Dis. Rep.*, 2021, vol. 13, no. 1, pp. 230–238. doi: 10.3390/idr13010026
3. Ballén V., Ratia C., Cepas V., Soto S.M. Enterococcus faecalis inhibits *Klebsiella pneumoniae* growth in polymicrobial biofilms in a glucose-enriched medium. *Biofouling*, 2020, vol. 36, no. 7, pp. 846–861. doi: 10.1080/08927014.2020.1824272
4. Bayraktar B., Dalgic N., Duman N., Petmezci E. First case of bacteremia caused by *Kytococcus schroeteri* in a child with congenital adrenal hyperplasia. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2018, vol. 37, no. 12, pp. 304–305. doi: 10.1097/INF.0000000000002014
5. Becker K., Schumann P., Wüllenweber J., Schulte M., Weil H.-P., Stackebrandt E., Peters G., Von Eiff C. *Kytococcus schroeteri* sp. nov., a novel Gram-positive actinobacterium isolated from a human clinical source. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2002, vol. 52, pp. 1609–1614. doi: 10.1099/00207713-52-5-1609
6. Black C.E., Costerton J.W. Current concepts regarding the effect of wound microbial ecology and biofilms on wound healing. *Surg. Clin. North Am.*, 2010, vol. 90, no. 6, pp. 1147–1160. doi: 10.1016/j.suc.2010.08.009
7. Carek P.J., Dickerson L.M., Sack J.L. Diagnosis and management of osteomyelitis. *Am. Fam. Physician.*, 2001, vol. 63, no. 12, pp. 2413–2420.
8. Chan J.F., Wong S.S., Leung S.S., Fan R.Y., Ngan A.H., To K.K., Lau S.K., Yuen K.Y., Woo P.C. First report of chronic implant-related septic arthritis and osteomyelitis due to *Kytococcus schroeteri* and a review of human *K. schroeteri* infections. *Infection*, 2012, vol. 40, no. 5, pp. 567–573. doi: 10.1007/s15010-012-0250-9
9. García Del Pozo E., Collazos J., Cartón J.A., Camporro D., Asensi V. Bacterial osteomyelitis: microbiological, clinical, therapeutic, and evolutive characteristics of 344 episodes. *Rev. Esp. Quimioter.*, 2018, vol. 31, no. 3, pp. 217–225
10. Gaston J.R., Andersen M.J., Johnson A.O., Bair K.L., Sullivan C.M., Guterman L.B., White A.N., Brauer A.L., Learman B.S., Flores-Mireles A.L., Armbruster C.E. Enterococcus faecalis polymicrobial interactions facilitate biofilm formation, antibiotic recalcitrance, and persistent colonization of the catheterized urinary tract. *Pathogens*, 2020, vol. 9, no. 10: 835. doi: 10.3390/pathogens9100835
11. Kremers H.M., Nwojo M.E., Ransom J.E., Wood-Wentz C.M., Melton L.J. 3rd, Huddleston P.M. 3rd. Trends in the epidemiology of osteomyelitis: a population-based study, 1969 to 2009. *J. Bone Joint Surg. Am.*, 2015, vol. 97, no. 10, pp. 837–845. doi: 10.2106/JBJS.N.01350
12. Masters E.A., Ricciardi B.F., Bentley K.L.M., Moriarty T.F., Schwarz E.M., Muthukrishnan G. Skeletal infections: microbial pathogenesis, immunity and clinical management. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2022, vol. 20, no. 7, pp. 385–400. doi: 10.1038/s41579-022-00686-0
13. Mundy L.M., Sahm D.F., Gilmore M. Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2000, vol. 13, no. 4, pp. 513–522. doi: 10.1128/cmr.13.4.513-522.2000
14. Noguchi K., Nishimura R., Ikawa Y., Mase S., Matsuda Y., Fujiki T., Kuroda R., Araki R., Maeba H., Yachie A. Half of *Micrococcus* spp. cases identified by conventional methods are revealed as other life-threatening bacteria with different drug susceptibility patterns by 16S ribosomal RNA gene sequencing. *J. Infect. Chemother.*, 2020, vol. 26, no. 3, pp. 318–319. doi: 10.1016/j.jiac.2019.10.019
15. Percival S.L., Hill K.E., Williams D.W., Hooper S.J., Thomas D.W., Costerton J.W. A review of the scientific evidence for biofilms in wounds. *Wound Repair Regen.*, 2012, vol. 20, no. 5, pp. 647–657. doi: 10.1111/j.1524-475X.2012.00836.x
16. Renvoise A., Roux V., Casalta J.P., Thuny F., Ribéri A. *Kytococcus schroeteri*, a rare agent of endocarditis. *Int. J. Infect. Dis.*, 2008, vol. 12, no. 2, pp. 223–227. doi: 10.1016/j.ijid.2007.06.011
17. Shah A.S., Vijayvargiya P., Jung S., Wilson J.W. Postoperative hardware-related infection from *Kytococcus schroeteri*: its association with prosthetic material and hematological malignancies — a report of a case and review of existing literature. *Case Rep. Infect. Dis.*, 2019: 6936472. doi: 10.1155/2019/6936472
18. Shah S., Thakkar P., Poojary S., Singhal T. A case of *Kytococcus schroeteri* prosthetic valve endocarditis in a patient with COVID-19 infection. *Indian J. Med. Microbiol.*, 2023, vol. 42, pp. 89–91. doi: 10.1016/j.ijmmb.2022.09.001
19. Stackebrandt E., Koch C., Gvozdiak O., Schumann P. Taxonomic dissection of the genus *Micrococcus*: *Kocuria* gen. nov., *Nesterenkonia* gen. nov., *Kytococcus* gen. nov., *Dermacoccus* gen. nov., and *Micrococcus* Cohn 1872 gen. emend. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 1995, vol. 45, no. 4, pp. 682–692. doi: 10.1099/00207713-45-4-682

20. Tan C.A.Z., Lam L.N., Biukovic G., Soh E.Y., Toh X.W., Lemos J.A., Kline K.A. Enterococcus faecalis antagonizes Pseudomonas aeruginosa growth in mixed-species interactions. *J. Bacteriol.*, 2022, vol. 204, no. 7: e0061521. doi: 10.1128/jb.00615-21
21. Tien B.Y.Q., Goh H.M.S., Chong K.K.L., Bhaduri-Tagore S., Holec S., Dress R., Ginhoux F., Ingersoll M.A., Williams R.B.H., Kline K.A. Enterococcus faecalis promotes innate immune suppression and polymicrobial catheter-associated urinary tract infection. *Infect. Immun.*, 2017, vol. 85, no. 12: e00378-17. doi: 10.1128/iai.00378-17

Авторы:

Борисов С.Д., к.м.н., заслуженный врач Российской Федерации, заведующий и врач-бактериолог микробиологической лаборатории научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО Оренбургский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Оренбург, Россия;

Каримов И.Ф., к.б.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии ФГБОУ ВО Оренбургский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Оренбург, Россия; биолог микробиологической лаборатории научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО Оренбургский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Оренбург, Россия;

Плотников А.О., к.м.н., доцент, директор Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН — обособленного структурного подразделения ФГБНУ Оренбургский федеральный исследовательский центр УрО РАН, г. Оренбург, Россия; доцент кафедры профилактической медицины ФГБОУ ВО Оренбургский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Оренбург, Россия;

Инчагова К.С., к.б.н., старший научный сотрудник Центра коллективного пользования «Персистенция микроорганизмов» Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН — обособленного структурного подразделения ФГБНУ Оренбургский федеральный исследовательский центр УрО РАН, г. Оренбург, Россия;

Паньков А.С., д.м.н., доцент, зав. кафедрой эпидемиологии и инфекционных болезней ФГБОУ ВО Оренбургский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Оренбург, Россия; директор научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО Оренбургский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Оренбург, Россия;

Даньшин Д.П., врач-травматолог ГАУЗ Оренбургский областной клинический специализированный центр травматологии и ортопедии, г. Оренбург, Россия.

Authors:

Borisov S.D., PhD (Medicine), Honored Worker of Science of the Russian Federation, Head and Bacteriologist of the Microbiological Laboratory, Science Research Center, Orenburg State Medical University, Ministry of Health of Russia, Orenburg, Russian Federation;

Karimov I.F., PhD (Biology), Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology, Immunology, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation; Biologist of the Microbiological Laboratory, Science Research Center, Orenburg State Medical University, Ministry of Health of Russia, Orenburg, Russian Federation;

Plotnikov A.O., PhD (Medicine), Associate Professor, Director, Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg Federal Research Center of the UrB RAS, Orenburg, Russian Federation; Associate Professor, Department of Preventive Medicine, Orenburg State Medical University, Ministry of Health of Russia, Orenburg, Russian Federation;

Inchagova K.S., PhD (Biology), Senior Researcher, Science Resource Center "Persistence of microorganisms", Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg Federal Research Center of the UrB RAS, Orenburg, Russian Federation;

Pankov A.S., DSc (Medicine), Associate Professor, Head of the Department of Epidemiology and Infectious Diseases, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation; Director of the Science Research Center, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation;

Danshin D.P., Traumatologist, Orenburg Regional Clinical Specialized Center of Traumatology and Orthopedics, Orenburg, Russian Federation.

ПАМЯТИ НАТАЛИИ НИКОЛАЕВНЫ БЕСЕДНОВОЙ



Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора с прискорбием сообщает, что 23 сентября 2023 года на 89-м году жизни скончалась Наталия Николаевна Беседнова, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, действительный член Российской академии наук, лауреат Государственной премии СССР, выдающийся ученый, блестящий организатор, прекрасный педагог и замечательный человек.

Наталия Николаевна Беседнова родилась 2 февраля 1935 года в г. Клязьма Московской области. После окончания в 1959 году Первого Московского медицинского института им. И.М. Сеченова по распределению приехала в г. Владивосток, где начала работать врачом-эпидемиологом городской санитарно-эпидемиологической станции. С 1960 года трудовая деятельность Н.Н. Беседновой связана с Научно-исследовательским институтом эпидемиологии и микробиологии, где она прошла путь от младшего научного сотрудника до руководителя лаборатории, заместителя директора по научной работе и директора Института, которым успешно руководила на протяжении двух десятилетий.

В 1969 году Наталия Николаевна защитила кандидатскую, в 1980 году — докторскую диссертацию на тему «Экспериментальное и клиничко-эпидемиологическое изучение псевдотуберкулезной инфекции». В 1991 году ей было присвоено звание профессора по специальности «Аллергология и иммунология». В 1993 году Н.Н. Беседнова была избрана членом-корреспондентом, в 2000 году — академиком Российской академии медицинских наук. С 2013 года Н.Н. Беседнова — действительный член Российской академии наук.

В последние годы своей научной деятельности Н.Н. Беседнова занимала должность главного научного сотрудника Института.

Научная деятельность Н.Н. Беседновой была сосредоточена на проблемах диагностики, лечения и профилактики инфекционных заболеваний. Под ее руководством выполнены циклы обширных исследований по иммунологии брюшного тифа, псевдотуберкулеза, дифтерии. В 1989 году за работу по изучению нового клиничко-эпидемического проявления псевдотуберкулезной инфекции у человека (дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки) в числе группы сотрудников Института Н.Н. Беседнова была удостоена Государственной премии СССР.

В 1970-х годах Наталья Николаевна явилась инициатором создания и развития нового научного направления по изучению клеточных и молекулярных механизмов иммуномодулирующего действия биологически активных веществ из гидробионтов Тихого океана, организовав широкое сотрудничество с Тихоокеанским институтом биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Тихоокеанским научно-исследовательским рыбохозяйственным центром, Тихоокеанским государственным медицинским университетом и практическими учреждениями здравоохранения. В результате исследований, координируемых Н.Н. Беседновой, были получены новые данные об иммуномодулирующих, антибактериальных, антивирусных, противоопухолевых, антиадгезивных, антиэндотоксических, проапоптотических, гепатозащитных, гиполипидемических свойствах биологически активных веществ морского происхождения, установлены клеточные и молекулярные механизмы иммуномодулирующего действия, обоснована возможность конструирования инновационных лекарственных средств на их основе, разработаны экологически безопасные продукты функционального питания и биологически активные добавки к пище, удостоенные золотых и платиновых знаков качества, дипломов победителей национальных и зарубежных конкурсов. Н.Н. Беседнова являлась научным руководителем «Клинико-диагностического центра геронтологии и биотерапии», созданного при ее участии на базе терапевтического отделения Медицинского объединения ДВО РАН, где проводится оценка клинической эффективности препаратов на основе биологически активных веществ из объектов наземной и морской флоры и фауны Дальнего Востока.

Н.Н. Беседновой создана школа высококвалифицированных специалистов в области микробиологии и иммунологии, многие из которых в настоящее время работают на кафедрах в вузах, ведут лабораториями Института, отделениями клиник. Под ее руководством защищены 31 кандидатская и 6 докторских диссертаций. Н.Н. Беседнова является автором более 300 печатных работ, 32 патентов, 15 монографий, пособий для практических врачей, технологической документации.

С 2014 году Н.Н. Беседнова возглавила работу Объединенного Ученого Совета ДВО РАН по медицинским и физиологическим наукам, многие годы являлась членом диссертационных советов ДКМ 208.007.02 и Д 307.012.01, членом Координационного Совета и Чрезвычайной противоэпидемической комиссии при Департаменте здравоохранения администрации Приморского края, членом редакционных коллегий журналов «Антибиотики и химиотерапия», «Бюллетень Сибирского отделения РАМН», «Тихоокеанский медицинский журнал», «Здоровье. Медицинская экология. Наука».

В 2001 году Н.Н. Беседновой было присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки Российской Федерации». Ее весомый вклад в науку отмечен высокими наградами СССР и Российской Федерации: орденом «Знак Почета», медалью ВДНХ, орденом Дружбы, медалью им. академика В.И. Покровского.

На протяжении всей своей трудовой деятельности Наталья Николаевна Беседнова оставалась интеллигентным, добрым и внимательным к коллегам и друзьям человеком, отдавала все силы, знания и опыт сотрудникам института.

Ушла из жизни замечательная женщина. Ее не забудут те, кто когда-либо общался с ней. Нам всем будет не хватать доброго друга и мудрого наставника. Светлая память о ней навсегда сохранится в наших сердцах.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Статьи представляются в редакцию через систему электронного издательства (<http://iimmun.ru>) в соответствии с требованиями журнала «Инфекция и иммунитет» и «Инструкцией для авторов», представленной на сайте. С февраля 2016 года журнал «Инфекция и иммунитет» публикует статьи на двух языках (русском и английском).

Основные виды статей, публикуемых в журнале

Оригинальная статья

Статья должна описывать результаты законченного исследования. Допускается объем статьи до 20 машинописных страниц, включая рисунки, таблицы. Статья должна содержать: 1) введение; 2) материалы и методы; 3) результаты исследований; 4) обсуждение результатов; 5) благодарности.

- **Введение** содержит обоснование цели и задач проведенного исследования.
- **Материалы и методы** могут излагаться в виде отдельных фрагментов с короткими подзаголовками.
- Все нетрадиционные модификации методов должны быть описаны с достаточной степенью подробности. Для всех используемых в работе реактивов, животных, клеточных культур и т.д. необходимо точно указывать производителей и/или источники получения (с названиями страны, фирмы, института).
- **Результаты** описываются в логической последовательности в виде отдельных фрагментов, разделенных подзаголовками, без элементов обсуждения, без повторения методических подробностей, без дублирования цифровых данных, приведенных в таблицах и рисунках.
- В **обсуждении** проводится детальный анализ полученных данных в сопоставлении с данными литературы, что служит обоснованием выводов и заключений авторов.
- Раздел **«Благодарности»** не является обязательным, но крайне желателен. В этом разделе авторы могут выразить признательность организации, субсидировавшей проведение исследований, коллегам, консультировавшим работу в процессе ее выполнения и/или написания, а также техническому персоналу за помощь в выполнении исследований. Благодарности за предоставление специфических реактивов или оборудования, как правило, помещаются в разделе «Материалы и методы».

Краткие сообщения

Журнал публикует небольшие по объему статьи, которые имеют безусловную новизну и значимость. Эти статьи проходят ускоренное рецензирование и публикуются в короткие сроки. Общий объем краткого сообщения ограничен 8 машинописными страницами, количество рисунков и/или таблиц не может быть более 3, а список использованных литературных источников не должен превышать 15. Титульный лист оформляется, как описано ниже (см. «Подготовка статей»). Разделы краткого сообщения аналогичны вышеописанным разделам оригинальной статьи, но не выделяются заголовками и подзаголовками, результаты могут быть изложены вместе с обсуждением.

Обзорные статьи и лекции

Обзорные статьи и лекции в основном заказываются редакцией или могут быть рекомендованы одним из членов редколлегии. Более подробную информацию о правилах оформления этих статей можно узнать в редакции.

Библиографические стандарты описания цитируемых публикаций

Описание статьи из журнала:

Салина Т.Ю., Морозова Т.И. Иммунологические методы в дифференциальной диагностике // Туберкулез и болезни легких. 2011. Т. 88, № 11. С. 50–53.

Salina T.Yu., Morozova T.I. Immunological methods in differential diagnostics. Tuberculosis and Lung Diseases, 2011, vol. 88, no. 11, pp. 50–53.

Описание статьи из книги (монографии):

Шурыгина И.А., Чеснокова М.В., Климов В.Т. Псевдотуберкулез. Новосибирск: Наука, 2003. 320 с.

Shurygina I.A., Chesnokova M.V., Klimov V.T. Pseudotuberculosis. Novosibirsk: Nauka, 2003. 320 p.

Примеры правильного оформления англоязычных ссылок:

Turenne C.Y., Wallace R., Behr M.A. Mycobacterium avium in the postgenomic era. Clin. Microb. Rev., 2007, vol. 20, no. 2, pp. 205–229.

Goodman J.W., Parslow T.G. Immunoglobulin proteins. Basic and Clinical Immunology. Ed. Stites D.P., Terr A.I., Parslow T.G. Appleton & Lange, 1994, pp. 66–79.

Ссылки на литературные источники в тексте статьи, в рисунках и таблицах обозначаются арабскими цифрами в квадратных скобках [1, 2, 3,...]. Не допускаются ссылки на диссертации, авторефераты диссертаций, публикации в сборниках, методические документы местного уровня. Количество источников не ограничено. В каждой ссылке приводятся все авторы работы. Неопубликованные статьи в список не включаются.

Обозначения, сокращения и единицы измерения

Для сложных терминов или названий, наиболее часто используемых в тексте статьи, можно ввести (в круглых скобках после первого упоминания полного названия термина) не более 3–5 нетрадиционных сокращений. Узаконенные международными номенклатурами сокращения используются в соответствующей транскрипции. Например, для термина «интерлейкин» используется сокращение «IL», а не русскоязычный вариант «ИЛ»; аналогично этому используются сокращения: «TNF», а не «ТНФ» или «ФНО»; «CD», а не «СД». Названия микроорганизмов приводятся в оригинальной транскрипции с использованием курсива (*E. coli*, *Streptococcus pyogenes*). Единицы измерения приводятся без точки после их сокращенного обозначения, регламентированного международными правилами (с, ч, см, мл, мг, кДа и т.д.).

Оформление иллюстративного материала

Иллюстративный материал должен быть оригинальным, т.е. ранее нигде не опубликованным. Общее количество иллюстраций (таблиц и рисунков) не должно превышать восьми. При большем количестве иллюстраций их публикация оплачивается автором. Публикация цветных иллюстраций (независимо от их количества) также оплачивается автором.

Размеры иллюстраций:

- максимальная высота — 210 мм
- максимальная ширина для 1 столбца — 82 мм, для 2 столбцов — 170 мм

Таблицы. Каждая таблица предоставляется отдельным файлом. Таблицы нумеруются арабскими цифрами отдельно от нумерации рисунков (графиков и фотографий). Название печатается над таблицей. Весь текст на русском языке, содержащийся в таблице, включая единицы измерения, должен быть переведен на английский язык; при этом перевод следует помещать в ячейку с соответствующим русским текстом отдельной строкой. Название таблицы и текст примечания к ней также должны быть переведены на английский язык и приведены под русским текстом с новой строки. Для пометок в таблицах следует использовать одну или несколько (*). Пояснения печатаются после соответствующего количества (*) под таблицей. Единицы измерения, при необходимости, включаются в заголовки строк или столбцов.

Рисунки (графики и фотографии). В тексте статьи названия рисунков (графиков, фотографий) и таблиц размещаются сразу после абзаца, где на них дается первая ссылка. Все рисунки нумеруются последовательно арабскими цифрами по мере их включения в текст статьи. Названия рисунков и подписи к ним выносятся в виде списка в отдельный файл. В списке указываются: номер рисунка, название (с большой буквы), текст примечаний (для микрофотографий должно быть указано увеличение). Подписи к рисункам даются краткие, но достаточно информативные. Названия рисунков и примечаний к ним, нарисовочные подписи, текст легенды должны быть переведены на английский язык и размещены под соответствующим текстом с новой строки. Рисунки могут быть представлены в графических форматах с расширением .tif (разрешение не менее 300 dpi при 100% масштабе), .eps или .ai. Изображения, встроенные в документы Word, не принимаются. Графики и диаграммы предоставляются вместе с таблицами, на основе которых они были созданы, или с численными обозначениями показателей, отображаемых соответствующими графическими элементами (столбиками, секторами и т.п.) в виде файлов с расширениями .doc или, предпочтительнее, .xls.

Плата за публикацию статей

При соблюдении правил публикация статей в журнале «Инфекция и иммунитет» является бесплатной для авторов и учреждений, в которых они работают. Редакция может потребовать оплату в следующих случаях: 1) за публикацию цветных иллюстраций; 2) при большом количестве иллюстративного материала (свыше 8 иллюстраций).

Подготовка статей

При предоставлении статьи авторы должны руководствоваться требованиями, приведенными в нижеследующих пунктах. Статья может быть отклонена, если она им не соответствует.

1. Направляя статью в журнал, авторы гарантируют, что поданные материалы не были ранее опубликованы полностью или по частям, в любой форме, в любом месте или на любом языке. Так же авторы гарантируют, что статья не представлена для рассмотрения и публикации в другом журнале. С момента принятия статьи к печати в журнале «Инфекция и иммунитет» приведенный в ней материал не может быть опубликован авторами полностью или по частям в любой форме, в любом месте и на любом языке без согласования с руководством журнала. Исключением может являться: 1) предварительная или последующая публикация материалов статьи в виде тезисов или короткого резюме; 2) использование материалов статьи как части лекции или обзора; 3) использование автором представленных в журнал материалов при написании диссертации или книги. Воспроизведение всего издания или части любым способом запрещается без письменного разрешения издателей. Нарушение закона будет преследоваться в судебном порядке. Охраняется Законом РФ № 5351-1 «Об авторском праве и смежных правах» от 09.07.93 г.
2. Файл отправляемой статьи представлен в формате .doc, .docx, .rtf.
3. Помимо файла со статьей, предоставлены следующие файлы:
 - 1) Файл с метаданными (при загрузке в систему ему присваивается имя «Метаданные»):
 - фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность автора, ответственного за дальнейшую переписку с редакцией (на русском и английском языках);
 - название учреждения, где работает ответственный автор (в русском и официально принятом английском вариантах);
 - почтовый адрес для переписки с указанием почтового индекса (на русском и английском языках);
 - телефон, факс (с указанием кода страны и города), e-mail;
 - фамилия и инициалы остальных соавторов, их ученые степени, ученые звания, должности;
 - полное название статьи, направляемой в редакцию;
 - количество страниц текста, количество рисунков, количество таблиц;
 - раздела журнала, для которого предназначена данная работа: «Лекции», «Обзоры», «Оригинальные статьи», «Краткие сообщения», «В помощь практическому врачу»;
 - дата отправления работы.
 - 2) Отсканированная копия файла с метаданными подписанная всеми авторами (при загрузке в систему ему присваивается имя «Подписи авторов»).

- 3) Титульный лист (при загрузке в систему ему присваивается имя «Титульный лист»), по форме:
 - название статьи (без использования каких-либо сокращений, на русском и английском языках);
 - фамилия, имя, отчество, ученая степень, ученое звание, должность каждого из соавторов статьи (полностью, на русском и английском языках);
 - подразделение и учреждение, в котором выполнялась работа; в случае, если авторами статьи являются сотрудники разных учреждений, то последние нумеруются по порядку, начиная с единицы, и соответствующая цифра размещается после фамилии автора, представляющего данное учреждение; для маркировки авторов в англоязычной части статьи вместо цифр используются латинские буквы (a, b, c, d и т.д.);
 - сокращенное название статьи для верхнего колонтитула (не более 35 символов, включая пробелы и знаки препинания, на русском и английском языках);
 - не менее 6 ключевых слов на русском и английском языках;
 - адрес для переписки с указанием номера телефона, факса и адреса e-mail.
- 4) Резюме (при загрузке в систему ему присваивается имя «Резюме»). Предоставляется в виде одного абзаца без ссылок и специфических сокращений. Объем — не менее 300 слов. Резюме в полном объеме представляется также в переводе на английский язык. В отдельных случаях, по решению редакционной коллегии, может быть затребован развернутый вариант резюме на английском языке.
- 5) Рисунки, если они есть — каждый отдельным файлом (при загрузке в систему каждому рисунку присваивается имя «Рисунок_Порядковый номер рисунка. Название рисунка»).
- 6) Файл в формате .doc, .docx, .rtf со списком, в котором указываются: номер рисунка, название (с большой буквы), текст примечаний (для микрофотографий должно быть указано увеличение). Подписи к рисункам даются краткие, но достаточно информативные.
- 7) Таблицы, если они есть — каждая отдельным файлом (название каждой таблицы должно быть приведены заголовком в файле с самой таблицей).
- 8) Файл с цитируемой литературой (при загрузке в систему ему присваивается имя «Литература») в виде таблицы из четырех столбцов (альбомная ориентация), где:

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	Ф.И.О., название публикации и источника на английском языке	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или ее DOI
Размещаются в таблице в алфавитном порядке, вначале русскоязычные, затем на языках с латинской графикой	Указывать по библиографическому стандарту, представленному выше	Официальное англоязычное название публикации и источника, где она опубликована — для русскоязычных статей. В редких случаях, когда не существует официальных англоязычных названий, редакция просит предоставлять их перевод, обозначая его красным цветом шрифта. Для англоязычных публикаций и источников в этом столбце ставится прочерк	В том случае, если информация о статье не размещена на официальном сайте издания, допустимо использовать URL статьи со сторонних сайтов, в т.ч. системы www.e-library.ru . DOI статьи приводится в квадратных скобках после URL-адреса

4. Текст должен быть набран с одинарным межстрочным интервалом; используется кегль шрифта в 14 пунктов; для выделения используется курсив, а не подчеркивание; все ссылки на иллюстрации, графики и таблицы расположены в соответствующих местах в тексте, а не в конце документа.
5. Текст соответствует стилистическим и библиографическим требованиям.
6. Если вы отправляете статью в рецензируемый раздел журнала, то вы согласны с требованиями слепого рецензирования, подробнее о котором можно узнать на сайте журнала (<http://iimmun.ru>) в рубрике «Рецензирование» раздела «О журнале».

Вы можете оформить подписку на журнал
«Инфекция и иммунитет» через отделения связи:
ООО «Урал-Пресс-Округ» и электронный каталог «Российская периодика»
в сети Internet на сайте www.arpk.org.
Подписной индекс 41392.
Подписка на электронную версию журнала
на сайте www.elibrary.ru

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

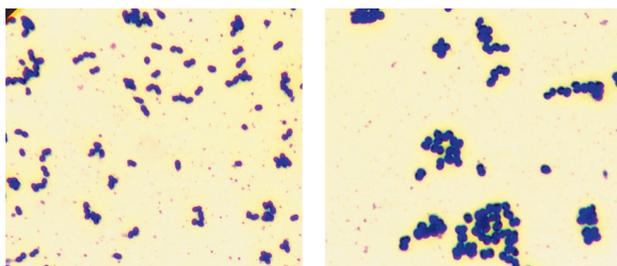
Аак О.В.	947	Круглов Е.Е.	899	Тотолян А.А.	873
Алексеева Н.П.	931	Кузовникова Е.Ж.	972	Турдиева Ш.Т.	939
Арсентьева Н.А.	873	Кулемзин С.В.	853	Учеваткина А.Е.	947
Бабайкина О.Н.	809	Куликов А.Н.	873	Филиппова Л.В.	947
Бакштановская И.В.	923	Курлава Л.В.	923	Фролова Е.В.	947
Борисов С.Д.	985	Литвинова Н.А.	853	Хамитов Р.А.	853
Васильев Н.Ю.	947	Любимова Н.Е.	873	Черных Е.И.	873
Васильева Н.В.	947	Макарова М.А.	899	Чистяков С.И.	809
Воронина Е.В.	809	Мальшева И.Е.	967	Эсмедяева Д.С.	931
Ганиева Д.К.	939	Маркова О.А.	853	Abbaspour F.	885
Гивойно У.К.	979	Мусаева Т.Д.	822	Abdalsada H.K.	957
Григорьева С.А.	923	Насирова Г.Р.	939	Afsahi A.M.	885
Григорьева Т.В.	853	Овчинников К.В.	972	Al-Hakeim H.K.	957
Даньшин Д.П.	985	Останкова Ю.В.	873	Al-Mayali H.H.	957
Денисова Т.П.	979	Паньков А.С.	985	Almulla A.F.	957
Добрынина М.А.	864	Певцов Д.Э.	873	Blinova O.V.	909
Дьякова М.Е.	931	Плотников А.О.	985	Dadras O.	885
Заиченко И.Е.	809	Потеряев Д.А.	853	Fakhredini K.	885
Зорина В.Н.	841	Праскурничий Е.А.	864	Hadi H.H.	957
Зуев Е.В.	853	Рожкова М.В.	972	Karmokov I.A.	909
Зурочка А.В.	864	Рябова Л.В.	864	Kolosovskaya E.N.	909
Зурочка В.А.	864	Сайтгаллина М.А.	873	Mehraeen E.	885
Инчагова К.С.	985	Сарапульцев А.П.	864	Mirzapour P.	885
Кальгина Г.А.	923	Светлова М.В.	809	Molla A.	885
Каримов И.Ф.	985	Сергеев В.И.	972	Moustafa S.R.	957
Кафтырева Л.А.	899	Соболев А.В.	947	Mozafari N.	885
Кашенко В.А.	873	Станевич О.В.	873	Rad F.F.	885
Киселева И.В.	822	Степанова К.Б.	923	Riabiko E.G.	909
Козлова Я.И.	947	Степанова Т.Ф.	923	SeyedAlinaghi S.	885
Комелькова М.В.	864	Талаев В.Ю.	809	Shahidi R.	885
Коробова З.Р.	873	Титова А.В.	979	Siami H.	885
Короткевич И.А.	853	Тихонович Э.Л.	967	Tokarevich N.K.	909
Косырева А.Н.	923	Топчиева Л.В.	967		

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

адаптивный иммунитет	923	микогенная сенсibilизация	947	<i>Alternaria</i> spp.	947
активация	809	молекулярная мимикрия	841	<i>Aspergillus</i> spp.	947
аллергический бронхолегочный		молекулярно-генетический метод	972	В-клеточный рецептор	809
аспергиллез	947	натуральные киллеры (NK-клетки)	864	В-лимфоциты	864
аллергическое грибковое заболевание		нейтрофильная эластаза	931	CD46	864
дыхательных путей	947	неспецифическая резистентность	923	COVID-19	841, 853, 873, 885, 979
антибиотикорезистентность	899	осложнение заболевания	979	EAgEC	899
антиген	809	особенности циркуляции		<i>Enterococcus faecalis</i>	985
аутоиммунитет	841	коронавирусов	822	<i>Escherichia coli</i>	899
бактериологический метод	972	остеомиелит	985	hemodialysis patients	957
бактериофаг-терапия	939	остеопороз	923	incidence	909
биомаркеры	931	острые респираторные инфекции	822	inflammation	957
бронхиальная астма	947	острый тонзиллит	939	ixodes tick-borne borreliosis	909
вакцина	853	пандемический SARS-CoV-2	822	KREC	873
взрослые	972	полиморфизм генов	967	<i>Kytococcus schroeteri</i>	985
виды бактерий	972	полисегментарная пневмония	979	Lyme disease	909
вирулентность	899	поствакцинальные осложнения	841	MALDI-ToF масс-спектрометрия	985
вирусоподобные частицы	809	постковидные пациенты	864	matrix metalloproteinase-1	957
внебольничная пневмония	972	постковидный синдром	841	medicine	885
воспаление	967	провоспалительные цитокины	939	neural network	957
ген <i>IL1A</i>	967	ПЦР	899	Northwestern Federal District	
генетические полиморфизмы	923	раневая инфекция	985	of the Russian Federation	909
гранулема	967	репарация	931	prophylaxis	909
дети	939, 979	респираторные вирусы	822, 972	SARS-CoV-2	841, 853, 873, 885
дыхательная недостаточность	979	ротовая полость	939	SARS-CoV-2-инфекция	864
иммунизация	853	саркоидоз легких	967	T-клетки	864
иммунная система	864	сезонные коронавирусы	822	T-лимфоциты	864
иммунный ответ	923	секвенирование гена 16S рРНК	985	therapy	885
иммунный статус	873	секреторный иммуноглобулин А	939	tick bite incidence	909
иммуногенность	853	тканевые ингибиторы матричных		tick-borne encephalitis	909
инфекционные агенты	967	металлопротеиназы	931	tissue inhibitor of metalloproteinases-1	957
коморбидные состояния	979	туберкулез	931	TNK-лимфоциты	864
коронавирусная инфекция	853	хронический описторхоз	923	treatments	885
коронавирусы человека	822	цитокины	967	TREC	873
КТ-диагностика	979	цитоскелет	809	umbrella review	885
лабораторные маркеры	873	эпитоп	809	vitamin D	957
матричные металлопротеиназы	931	язвенный колит	899		

Иллюстрации к статье «Клинический случай посттравматического остеомиелита, вызванного ассоциацией *Kytococcus schroeteri* и *Enterococcus faecalis*» (авторы: С.Д. Борисов, И.Ф. Каримов, А.О. Плотников, К.С. Инчагова, А.С. Паньков, Д.П. Даньшин) (с. 985–994)

Illustrations for the article “A clinical case of posttraumatic osteomyelitis associated with *Kytococcus schroeteri* and *Enterococcus faecalis*” (authors: Borisov S.D., Karimov I.F., Plotnikov A.O., Inchagova K.S., Pankov A.S., Danshin D.P.) (pp. 985–994)



**Рисунок 1. Микроскопия культур *Enterococcus faecalis* (слева) и *Kytococcus schroeteri* (справа).
Окраска по Граму, увеличение ×1000**

Figure 1. Microscopy imaging of *Enterococcus faecalis* (left) and *Kytococcus schroeteri* (right) cultures.
Gram stainining, ×1000 magnification

Подписной индекс:
Урал-Пресс – 41392

