

2025

ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ

ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ

январь–февраль

2025, том 15

№ 1

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

Главный редактор

Тотоян Арег 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
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
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 «Либерпринт»

196084, Санкт-Петербург,
ул. Старообрядческая, д. 22,
литера В, помещ. 1-Н, 4.
Тел./факс: (812) 388-90-00.

Подписано в печать 25.02.2025 г. Формат 60 x 90 1/8.
Печать офсетная. Усл.-печ. л. 25.
Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.).
Заказ № 1039

© Инфекция и иммунитет
© Северо-Западное отделение медицинских наук, 2025
© НИИЭМ имени Пастера, 2025
© СПб РО РААКИ, 2025

Russian Journal of Infection and Immunity

(Infektsiya i immunitet)

January–February

2025, volume 15

No. 1

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, Tokio, 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, Institut 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

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
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.
Phone: +7 (812) 233-08-58.

Publishing House of St. Petersburg Pasteur Institute

197101, St. Petersburg, Mira str., 14.
Phone/fax: +7 (812) 644-63-11.
E-mail: izdatelstvo@pasteurorg.ru

Produced at the Allegro Printing House

196084, Russian Federation, St. Petersburg,
Starobryadcheskaya str., 22, build. B,
suite 1-H, off. 4.
Phone/fax: +7 (812) 388-90-00.

Passed for printing 25.02.2025. 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, 2025

© St. Petersburg Pasteur Institute, 2025

© SPb RAACI, 2025

СОДЕРЖАНИЕ

Обзоры

Иванова А.В., Зубова А.А., Касьян Ж.А., Дмитриева Л.Н., Чумачкова Е.А., Поспелов М.В., Зимирова А.А., Шилова Л.Д., Ярулина С.А., Щербакова С.А., Кутырев В.В.

ОБЗОР АКТУАЛЬНЫХ РИСКОВ ОСЛОЖНЕНИЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКИ ПО ИНФЕКЦИОННЫМ БОЛЕЗНЯМ В ИНДО-ЗАПАДНО-ТИХООКЕАНСКОМ РЕГИОНЕ, ЗНАЧИМЫХ ДЛЯ САНИТАРНОЙ ОХРАНЫ ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ 9

Еноктаева О.В.

ОПИСАНИЕ МЕДИАТОРОВ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СТРЕССА У ВИДОВ РОДА *CANDIDA* 19

Хостелиди С.Н., Серебряная Н.Б.

ИММУНОТЕРАПИЯ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ *CANDIDA* spp.: МИФ ИЛИ РЕАЛЬНОСТЬ? 27

Оригинальные статьи

Гапон М.Н., Иванова Е.А., Твердохлебова Т.И., Кантария А.В., Тагиров З.Т., Логинов И.А., Гапон Э.А.

ОЦЕНКА МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У БЕРЕМЕННЫХ МЫШЕЙ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ПРИЕМЕ КОММЕРЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НАНОСЕРЕБРА 37

Шалело К.В., Сторожева К.В., Крысанова А.А., Будиловская О.В., Хуснутдинова Т.А., Копылова А.А., Тапильская Н.И., Савичева А.М., Беспалова О.Н.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МИКРОБИОТЫ ЭНДОМЕТРИЯ С АНТИМИКРОБНЫМИ ПЕПТИДАМИ У ЖЕНЩИН С РАЗНЫМИ ФОРМАМИ БЕСПЛОДИЯ 46

Смирнова Н.И., Рыбальченко Д.А., Лозовский Ю.В., Краснов Я.М., Щелканова Е.Ю., Федоров А.В., Кутырев В.В.

ГЕНОМНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ТОКСИГЕННЫХ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAЕ* O1 БИОВАРА ЭЛЬ ТОР, ВЫДЕЛЕННЫХ В ПЕРИОД ТРЕХ ВОЛН СЕДЬМОЙ ПАНДЕМИИ ХОЛЕРЫ 57

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

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОПИСТОРХОЗОМ ПРИ НАЛИЧИИ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ К РАЗВИТИЮ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТОНИИ 71

Светлова Е.В., Балацкая Н.В., Куликова И.Г., Саакян С.В., Свирина И.В., Андрюшин А.Е., Мякошина Е.Б.

ИНФИЦИРОВАННОСТЬ ОПУХОЛИ ВИРУСАМИ ГЕРПЕСА ЧЕЛОВЕКА И ОСОБЕННОСТИ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМОЙ 79

Попкова М.И., Филатова Е.Н., Минаева С.В., Сахарнов Н.А., Уткин О.В.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА ЭПШТЕЙНА–БАРР У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ В НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ 88

Костинов М.П., Батожаргалова Б.Ц., Бишева И.В., Курбатова Е.А., Шमितько А.Д., Лукина Г.В., Муртазалиева Д.А., Сходова С.А., Благовидов Д.А.

ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ НА ФОНЕ ПНЕВМОКОККОВОЙ ВАКЦИНАЦИИ 103

СейедАлинаги С., Афсахи А.М., Мирзапур П., Аликарами С., Афзалиян А., Матини П., Махрохи С., Али З., Пашаи А., Эслами С., Вахеди Ф., Паранджху П., Хабиби М.А., Молла А., Даджу А., Парихани С.Н., Мехраин Э., Хакетт Д.

ЦИТОКИНЫ И ВИЧ-АССОЦИИРОВАННЫЕ НЕВРОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ: СИСТЕМАТИЧЕСКИЙ ОБЗОР 112

Ханна Х.У.З., Шахин Р.М.Х., Сами Л.А.

СЕРОРАСПРОСТРАНЕННОСТЬ, АССОЦИИАЦИИ РИСКА И СТОИМОСТЬ СКРИНИНГА НА ИНФЕКЦИИ ВГС, ВГВ И ВИЧ У ПРЕДОПЕРАЦИОННЫХ ПАЦИЕНТОВ В ЕГИПТЕ 125

Сароян Т.А., Курская О.Г., Соломатина М.В., Шаршов К.А., Шестопалов А.М., Ерофеева М.К., Стукова М.А., Бузицкая Ж.В., Лиознов Д.А.

ОЦЕНКА ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИН ПРОТИВ ГРИППА И COVID-19 В СЕЗОНЫ 2020–2021, 2021–2022, 2022–2023 В НОВОСИБИРСКЕ	134
--	------------

Гималдинова Н.Е., Любовцева Л.А., Сергеев А.В.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТАБИЛЬНОЙ И ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ ТУБЕРКУЛЕМ ЛЕГКИХ	143
--	------------

Закерихамиди М., Боскабади Х., Найери М., Бади З., Багери Ф., Амирхани С.

ИЗМЕНЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА, МОРФОЛОГИИ И ОБЪЕМА ТРОМБОЦИТОВ ПРИ НЕОНАТАЛЬНОМ СЕПСИСЕ	152
---	------------

Синем А., Севги Э.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ: ПЕРВИЧНАЯ ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДА ФОРМИРОВАНИЯ БИОПЛЕНКИ IN VITRO У ШТАММА TRICHOSPORON ASANII, ВЫДЕЛЕННОГО ОТ ПАЦИЕНТОВ В ТУРЦИИ	161
---	------------

Краткие сообщения

Себа Д., Бенаклеф Н., Белаиде К.

АНАЛИЗ ВРЕМЕННЫХ РЯДОВ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ПОДТВЕРЖДЕННЫХ СЛУЧАЕВ ГРИППА А В АЛЖИРЕ	168
--	------------

Захарова И.Б., Терешко Д.Л., Чирсков П.Р., Буй Л.А.Т., Томсон Ш., Новицкая И.В.

РЕТРОСПЕКТИВНАЯ ОЦЕНКА ГУМОРАЛЬНОГО ОТВЕТА ПРИ МЕЛИОИДОЗЕ ЖИВОТНЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МНОГОЛЕТНИХ ДАННЫХ	173
---	------------

Лысакова Е.В., Рыбцов С.А., Тоцаков В.Ю.

ПРОДУКЦИЯ ПРОВосПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ОТВЕТ НА СТИМУЛЯЦИЮ АДГЕЗИРУЮЩИХСЯ КЛЕТОК ДОНОРСКОЙ КРОВИ РАСТВОРИМЫМ ЛПС И ФАГОЦИТИРУЕМЫМИ БАКТЕРИЯМИ	178
---	------------

Ащина Л.А., Баранова Н.И., Кулиева О.А., Болгова А.И.

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В РАЗВИТИИ КРАЙНЕ ТЯЖЕЛОГО СОСТОЯНИЯ ПРИ COVID-19	185
--	------------

Потапнев М.П., Максимович А.В., Дунаев И.А., Гущина Л.М., Карпенко Ф.Н.

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ ПЛАЗМЫ ИММУННОЙ ANTI-COVID-19 И ЕГО СВЯЗЬ С ИСХОДОМ ЗАБОЛЕВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИММУННОЙ ПЛАЗМОЙ	190
---	------------

Правила для авторов	197
----------------------------------	------------

Авторский указатель	200
----------------------------------	------------

Предметный указатель	200
-----------------------------------	------------

CONTENTS

Reviews

Ivanova A.V., Zubova A.A., Kas'jan Zh.A., Dmitrieva L.N., Chumachkova E.A., Pospelov M.V., Zimirova A.A., Shilova L.D., Jarulina S.A., Shcherbakova S.A., Kuttyrev V.V.

REVIEW OF ACTUAL RISKS ON AGGRAVATING INFECTIOUS DISEASES EPIDEMIOLOGICAL SITUATION IN THE INDO-WEST-PACIFIC REGION IMPORTANT FOR SANITARY PROTECTION OF THE TERRITORY OF THE RUSSIAN FEDERATION 9

Enoktaeva O.V.

DESCRIPTION OF ENVIRONMENTAL STRESS MEDIATORS IN *CANDIDA* SPECIES 19

Khostelidi S.N., Serebryanaya N.B.

IMMUNOTHERAPY OF *CANDIDA* spp.-CAUSED INFECTIONS: MYTH OR REALITY? 28

Original articles

Gapon M.N., Ivanova E.A., Tverdokhlebova T.I., Kantaria A.V., Tagirov Z.T., Loginov I.A., Gapon E.A.

BIOMEDICAL PARAMETERS ASSESSED IN PREGNANT MICE RECEIVING ORAL COMMERCIAL NANOSILVER PREPARATIONS 37

Shalepo K.V., Storozheva K.V., Krysanova A.A., Budilovskaya O.V., Khusnutdinova T.A., Kopylova A.A., Tapil'skaya N.I., Savicheva A.M., Bespalova O.N.

INTERPLAY BETWEEN ENDOMETRIAL MICROBIOTA AND ANTIMICROBIAL PEPTIDES IN WOMEN WITH DIFFERENT INFERTILITY FORMS 46

Smirnova N.I., Rybal'chenko D.A., Lozovsky Yu.V., Krasnov Ya.M., Shchelkanova E.Yu., Fedorov A.V., Kuttyrev V.V.

GENOMIC DIVERSITY OF TOXIGENIC *VIBRIO CHOLERA* O1 BIOVAR EL TOR STRAINS ISOLATED DURING THREE WAVES OF THE 7th CHOLERA PANDEMIC 57

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

IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH CHRONIC OPISTHORCHIASIS COUPLED TO MUTANT GENES ASSOCIATED WITH PREDISPOSITION TO ARTERIAL HYPERTENSION DEVELOPMENT 71

Svetlova E.V., Balatskaya N.V., Kulikova I.G., Saakyan S.V., Svirina I.V., Andryushin A.E., Myakoshina E.B.

TUMOR INFECTION WITH HUMAN HERPES VIRUSES AND FEATURES OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTE SUBSET COMPOSITION IN PATIENTS WITH UVEAL MELANOMA 79

Popkova M.I., Filatova E.N., Minaeva S.V., Sakharnov N.A., Utkin O.V.

MOLECULAR AND GENETIC CHARACTERISTICS OF EPSTEIN-BARR VIRUS ISOLATES IN ADULT PATIENTS WITH HIV INFECTION IN NIZHNY NOVGOROD REGION 89

Kostinov M.P., Batozhargalova B.Ts., Bisheva I.V., Kurbatova E.A., Shmitko A.D., Lukina G.V., Murtazaliev D.A., Skhodova S.A., Blagovidov D.A.

LEUKOCYTE PHAGOCYtic ACTIVITY IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS DURING VACCINATION WITH PNEUMOCOCCAL VACCINE 103

SeyedAlinaghi S., Afsahi A.M., Mirzapour P., Alikarami S., Afzalian A., Matini P., Mahrokhi S., Ali Z., Pashaei A., Eslami S., Vahedi F., Paranjkhoo P., Habibi M.A., Molla A., Dadjou A., Parikhani S.N., Mehraeen E., Hackett D.

CYTOKINES AND HIV ASSOCIATED NEUROLOGICAL MANIFESTATIONS: A SYSTEMATIC REVIEW 112

Hanna H.W.Z., Shahin R.M.H., Samy L.A.

SEROPREVALENCE, RISK ASSOCIATIONS, AND TESTING COST OF SCREENING FOR HCV, HBV, AND HIV INFECTIONS AMONG A GROUP OF PRE-OPERATIVE EGYPTIAN PATIENTS 125

Saroyan T.A., Kurskaya O.G., Solomatina M.V., Sharshov K.A., Shestopalov A.M., Erofeeva M.K., Stukova M.A., Buzitskaya Zh.V., Lioznov D.A.

ASSESSMENT OF INFLUENZA AND COVID-19 VACCINE EPIDEMIOLOGIC EFFICACY IN THE 2020-2021, 2021-2022, 2022-2023 SEASONS IN NOVOSIBIRSK 134

Gimaldinova N.E., Lyubovtseva L.A., Sergeev A.V.

COMPARATIVE MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS FOR STABLE AND PROGRESSIVE PULMONARY TUBERCULOMA	143
---	------------

Zakerhamidi M., Boskabadi H., Nayeri M., Badiie Z., Bagheri F., Amirkhani S.

CHANGES IN NUMBER, MORPHOLOGY AND VOLUME OF PLATELETS DURING NEONATAL SEPSIS	152
---	------------

Sinem A., Sevgi E.

A PRELIMINARY STUDY: FIRSTLY OPTIMISATION OF THE <i>IN VITRO</i> BIOFILM FORMATION METHOD IN <i>TRICHOSPORON ASAHII</i> STRAINS ISOLATED FROM PATIENTS IN TÜRKIYE	161
--	------------

Short communications

Seba D., Benaklef N., Belaïde K.

TIME SERIES ANALYSIS FOR MODELING AND PREDICTING CONFIRMED CASES OF INFLUENZA A IN ALGERIA	168
---	------------

Zakharova I.B., Tereshko D.L., Chirskov P.R., Bui T.L.A., Thomson S., Novitskaya I.V.

A RETROSPECTIVE LONG-TERM ASSESSMENT OF ANTIBODY RESPONSE IN MELIOIDOSIS ANIMALS	173
---	------------

Lysakova E.V., Rybtsov S.A., Toshchakov V.Yu.

PROINFLAMMATORY CYTOKINE PRODUCTION BY ADHERENT DONOR BLOOD CELLS STIMULATED BY SOLUBLE LPS AND PHAGOCYTED BACTERIA	178
--	------------

Ashchina L.A., Baranova N.I., Kulieva O.A., Bolgova A.I.

ROLE OF TOLL-LIKE RECEPTORS POLYMORPHISMS IN THE DEVELOPMENT OF EXTREMELY SEVERE COVID-19	185
--	------------

Potapnev M.P., Maksimovich A.V., Dunayev I.A., Hushchina L.M., Karpenko F.N.

CYTOKINE PROFILE OF COVID-19 CONVALESCENT PLASMA AND ITS RELATIONSHIP TO OUTCOME OF TREATED PATIENTS	190
---	------------

Instructions to Authors	197
--------------------------------------	------------

Author index	200
---------------------------	------------

Subject index	200
----------------------------	------------

ОБЗОР АКТУАЛЬНЫХ РИСКОВ ОСЛОЖНЕНИЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКИ ПО ИНФЕКЦИОННЫМ БОЛЕЗНЯМ В ИНДО-ЗАПАДНО-ТИХООКЕАНСКОМ РЕГИОНЕ, ЗНАЧИМЫХ ДЛЯ САНИТАРНОЙ ОХРАНЫ ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

А.В. Иванова, А.А. Зубова, Ж.А. Касьян, Л.Н. Дмитриева, Е.А. Чумачкова, М.В. Пospelov, А.А. Зимирова, Л.Д. Шилова, С.А. Ярулина, С.А. Щербакова, В.В. Кутырев

ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия

Резюме. В обзоре представлены обобщенные эпидемиологические данные и проанализирована ситуация в странах Индо-Западно-Тихоокеанского региона по инфекционным болезням, требующим проведения мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации. Основным источником информации послужили официальные сайты и периодические издания ВОЗ, Министерств здравоохранения соответствующих стран. Использованы данные других международных организаций (Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН, Всемирная организация здравоохранения животных), электронные агрегаторы оперативной информации (ProMED-mail, EpiSouth, arbo-zoonet и др.), материалы статей в рецензируемых журналах, освещающих эпидемиологические вопросы. В последние годы по целому ряду причин риск заноса инфекционных болезней на территорию России из описываемого региона многократно возрос: активно развивается туризм в страны Азии, происходит рост числа торгово-экономических связей, увеличивается количество прямых авиарейсов со странами региона. В работе систематизированы данные по заболеваемости и территориальному распространению болезней в Западно-Тихоокеанском регионе и регионе Юго-Восточной Азии с позиции возможных рисков для посещающих ее лиц. В ходе проведенного анализа установлено, что эпидемиологическая ситуация, складывающаяся в настоящее время в Индо-Тихоокеанском регионе, представляет собой существенную угрозу санитарно-эпидемиологическому благополучию населения Российской Федерации, прежде всего за счет увеличивающихся рисков заноса опасных инфекционных болезней на территорию нашей страны. Наиболее вероятным является риск заноса таких инфекционных болезней как холера, малярия и лихорадка денге, неблагоприятная эпидемиологическая ситуация по которым складывается в последние годы в регионе. При этом, наличие прямого транспортного сообщения регионов России с рядом стран региона (Таиланд, Шри-Ланка, Вьетнам, Мальдивы, Индия, Монголия, Китай, Мьянма) многократно

Адрес для переписки:

Иванова Александра Васильевна
410005, Россия, г. Саратов, ул. Университетская, 46,
ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный
институт «Микроб» Роспотребнадзора.
Тел.: 8 927 223-91-53.
E-mail: rusrapi@microbe.ru

Contacts:

Aleksandra V. Ivanova
410005, Russian Federation, Saratov, Universitetskaya str., 46,
Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor.
Phone: +7 927 223-91-53.
E-mail: rusrapi@microbe.ru

Для цитирования:

Иванова А.В., Зубова А.А., Касьян Ж.А., Дмитриева Л.Н., Чумачкова Е.А., Пospelov М.В., Зимирова А.А., Шилова Л.Д., Ярулина С.А., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Обзор актуальных рисков осложнения эпидемиологической обстановки по инфекционным болезням в Индо-Западно-Тихоокеанском регионе, значимых для санитарной охраны территории Российской Федерации // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 9–18. doi: 10.15789/2220-7619-ROA-17692

Citation:

Ivanova A.V., Zubova A.A., Kas'jan Zh.A., Dmitrieva L.N., Chumachkova E.A., Pospelov M.V., Zimirova A.A., Shilova L.D., Jarulina S.A., Shcherbakova S.A., Kutuyrev V.V. Review of actual risks on aggravating infectious diseases epidemiological situation in the Indo-West-Pacific region important for sanitary protection of the territory of the Russian Federation // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 9–18. doi: 10.15789/2220-7619-ROA-17692

увеличивает риск заноса указанных болезней. Согласно ранее разработанной методике расчета риска заноса инфекционных болезней на территорию Российской Федерации, установлено, что существует высокий риск заноса лихорадки денге с территории Лаоса, Малайзии, Непала, Таиланда и Филиппин.

Ключевые слова: *особо опасные инфекционные болезни, Индо-Западно-Тихоокеанский регион ВОЗ, оценка риска завоза, лихорадка денге, малярия, чума, обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия.*

REVIEW OF ACTUAL RISKS ON AGGRAVATING INFECTIOUS DISEASES EPIDEMIOLOGICAL SITUATION IN THE INDO-WEST-PACIFIC REGION IMPORTANT FOR SANITARY PROTECTION OF THE TERRITORY OF THE RUSSIAN FEDERATION

Ivanova A.V., Zubova A.A., Kas'jan Zh.A., Dmitrieva L.N., Chumachkova E.A., Pospelov M.V., Zimirova A.A., Shilova L.D., Jarulina S.A., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V.

Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation

Abstract. Here, we review summarized epidemiological data and analyze the situation on infectious diseases in the countries of the Indo-West-Pacific region that require measures for sanitary protection of the territory of the Russian Federation. The main source of relevant information was the official websites and periodicals of the WHO, Ministries of Health of the respective countries. The data from other international organizations (Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Organization for Animal Health), electronic aggregators of operational information (ProMED-mail, EpiSouth, arbo-zoonet, etc.), data from articles published in peer-reviewed journals covering epidemiological issues were used. In recent years, due to a set of reasons, the risk of infectious diseases entering Russia from the Indo-West-Pacific region has increased manifold: actively developing tourism to Asian countries, higher number of trade and economic ties, increased number of direct flights with the countries of the region. The paper systematizes data on morbidity and territorial distribution of diseases in the Western Pacific and South-East Asia regions by assessing potential risks for persons visiting it. During the analysis, it has been established that the epidemiological situation currently developing in the Indo-Pacific region poses a significant threat to the sanitary and epidemiological welfare of the population primarily due to the increasing risks for spread of dangerous infectious diseases into the territory of the Russian Federation. The most probable is the risk of spreading of infectious diseases such as cholera, malaria and dengue fever, the unfavorable epidemiological situation on which has developed in recent years in the region. At the same time, the presence of direct transportation links between Russian regions and a number of countries in the region (Thailand, Sri Lanka, Vietnam, Maldives, India, Mongolia, China, Myanmar) multiplies the risk of spreading for such diseases. According to the previously developed methodology for calculating the risk of infectious diseases entering the territory of the Russian Federation, it was established that there is a high risk of dengue fever entry from Laos, Malaysia, Nepal, Thailand and the Philippines.

Key words: *particularly dangerous infectious diseases, WHO Indo-West Pacific Region, risk assessment of importation, dengue fever, malaria, plague, sanitary and epidemiological welfare.*

Введение

Обширные пространства Индо-Западно-Тихоокеанского региона всегда представляли особенный интерес для эпидемиологов, в первую очередь в контексте обеспечения санитарно-эпидемиологической безопасности: природно-климатические факторы этой части планеты, социокультурные особенности местных обществ, а также ретроспективные эпидемиологические данные позволяют оценить риски появления новых угроз, заноса инфекционных болезней на эндемичные территории и возникновения чрезвычайных ситуаций как высокие.

С целью оптимизации сбора и анализа информации, а также для повышения качества формирования отчетности и удобства администрирования 48 государств и государственных образований этого макрорегиона отнесены Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) к 2 отдельным регионам: Западно-Тихоокеанскому (ЗТР) и Юго-Восточной Азии (ЮВА), включающим 37

и 11 стран (территорий) соответственно [18]. Тем не менее в эпидемиологическом отношении такое деление довольно условно.

Почти половина населения мира проживает в ЮВА и ЗТР [4]. Практически вся их площадь приходится на субтропические, тропические, субэкваториальные и экваториальные климатические пояса. Государства этого макрорегиона крайне разнообразны в социо-демографическом отношении. В части из них большая доля населения живет в условиях крайней бедности, другие являются примерами процветающих современных экономик. Всего в ЮВА за чертой бедности проживают 9% населения, в ЗТР — порядка 1%. Значительная неоднородность характерна практически для всех показателей социального и экономического развития (ВВП, уровня образования, темпов урбанизации, демографических показателей, доступа к качественной медицинской помощи) как внутри отдельного региона, так и между административно-территориальными единицами некоторых стран [15, 11].

Исторически рассматриваемая географическая область — предполагаемое место зарождения многих инфекционных болезней: чумы, холеры, лихорадки денге, японского энцефалита, болезни, вызванной вирусом Нипах [30, 31, 34, 38, 37, 28]. В последние годы, регион послужил источником неконтролируемого распространения среди населения ряда инфекционных болезней: тяжелого острого респираторного синдрома, COVID-19, нескольких подтипов гриппа и других инфекций [33].

Основные эпидемиологические риски на территориях региона связаны с широким распространением трансмиссивных инфекций, в первую очередь малярии и лихорадки денге. Неудовлетворительные санитарно-гигиенические условия и отсутствие должного уровня эпидемиологического надзора во многих странах приводят к делящемуся эпидемиологическому неблагоприятию по кишечным инфекциям, в том числе по холере. Высокая плотность населения, несовершенство национальных механизмов предупреждения и контроля распространения инфекций, передающихся воздушно-капельным путем, способствуют возникновению дополнительных рисков по данной категории болезней. Климатический фактор также вносит заметный вклад в эпидемиологическое неблагоприятие в регионе (расширение ареала обитания переносчиков, возникновение ЧС природного характера и др.) [24, 25, 40].

В последние годы по целому ряду причин риск заноса инфекционных болезней на территорию России из описываемого региона многократно возрос: активно развивается туризм в страны Азии, происходит рост числа торгово-экономических связей, увеличивается количество прямых авиарейсов со странами региона.

В настоящем обзоре представлена обобщенная информация, касающаяся основных эпидемиологических рисков ЗТР и ЮВА с позиции обеспечения санитарной охраны территории Российской Федерации. Основным источником информации послужили официальные сайты и периодические издания ВОЗ, Министерств здравоохранения соответствующих стран. Используются данные других международных организаций (Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН, Всемирная организация здравоохранения животных), электронные агрегаторы оперативной информации (ProMED-mail, EpiSouth, arbo-zoonet и др.), материалы статей в рецензируемых журналах, освещающих эпидемиологические вопросы.

Далее представлена более подробная информация об инфекционных болезнях, регистрируемых в регионе, требующих проведения мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации.

Чума. Природные очаги чумы описаны на территориях 10 стран региона (табл.), но только в двух из них отмечены эпидемические проявления в последнее десятилетие. В Китае и Монголии за период с 2014 по 2023 гг., в общей сложности зарегистрировано 39 случаев болезни, 16 из которых закончились летальным исходом. Практически ежегодная эпизоотическая и эпидемическая активность отмечается в горных и высокогорных природных очагах чумы, расположенных в Северном, Северо-Западном и Западном Китае, а также в природных очагах Монгольского Алтая. Среди основных источников заражения людей выделяют сурков (в 69,2% случаев) и их эктопаразитов (30,7%). Как правило, в эпидемиологическом анамнезе большинства заболевших, отмечена несанкционированная охота и/или употребление в пищу мяса инфицированного животного. В прошлом, крупнейшие вспышки чумы в регионе отмечали на территориях Индии (1994 г. — 481 случай), Мьянмы (1992 г. — 528 случаев), Вьетнама (1993 г. — 481 случай), Индонезии (2007 г. — 71 случай). В настоящее время, в большинстве стран Индо-Западно-Тихоокеанского региона сохраняется благополучная эпидемиологическая обстановка по чуме.

Холера остается одной из значимых проблем здравоохранения в регионе. Эпидемические проявления холеры не регистрировали лишь в Восточном Тиморе, Лаосе, на Мальдивах и на некоторых океанских островах (Вануату, Науру, Ниуэ, Острова Кука, Палау). В структуре заболеваемости холерой в странах Юго-Восточной Азии наибольший удельный вес больных приходится на Индию, являющуюся эндемичным очагом классической азиатской холеры и холеры Эль-Тор. Здесь ежегодно регистрируют вспышки заболевания: от нескольких десятков до нескольких тысяч случаев. Только за последнее десятилетие на территории Индии зарегистрировано свыше 22 тыс. случаев болезни. Кроме того, серьезные социально-экономические последствия от практически ежегодных вспышек холеры отмечают в Бангладеш, где большинство случаев болезни фиксируют как острую водянистую диарею, без соответствующего лабораторного подтверждения. Крупнейшая вспышка в стране с совокупным количеством случаев более 601 тыс. отмечена в 2022 г. На территории Таиланда в период с 2010 по 2016 гг. проявления холеры регистрировали ежегодно (2479 случаев). В Непале эпидемиологическое неблагоприятие по холере отмечено в период с 2014 по 2022 г. (2174 случая).

Эндемичными территориями в странах Западно-Тихоокеанского региона ВОЗ считаются Бруней, Вьетнам, Камбоджа, Китай (КНР), Малайзия, Республика Корея, Папуа-Новая Гвинея и Филиппины. Наиболее сложная эпи-

Таблица. Природные очаги чумы в Индо-Тихоокеанском регионе [1, 17]

Table. Natural plague foci in the Indo-Pacific region [1, 17]

Страна Country	Природно-очаговая территория Natural Focal Area	Возможные носители чумы Possible carriers of plague	Дата регистрации последнего случая (год) Date of registration of the last case (year)
Юго-Восточная Азия/Southeast Asia			
Индия India	Основные природные очаги в Индии находятся в северной, центральной и южной частях страны, приурочены к умеренно влажным биотопам, расположенным в подгорных областях и на плоскогорьях на высоте от 610 до 1200 м над уровнем моря The main natural foci in India are in the northern, central and southern parts of the country, confined to moderately humid biotopes located in the foothills and plateaus at an altitude of 610 to 1200 m above sea level	Пушистая крыса <i>Millardia meltada</i>, крысы рода <i>Rattus</i>, бандикоты (<i>Bandicota bengalensis</i>, <i>B. indica</i>) Fluffy rat <i>Millardia meltada</i> , rats of the genus <i>Rattus</i> , bandicoots (<i>Bandicota bengalensis</i> , <i>B. indica</i>)	2004
Индонезия (о. Ява) Indonesia (Java)	Выделяют 4 зоны: 1 зона — «чистые» рисовые поля на равнине далеко от гор; 2 зона — рисовые поля предгорий и межгорных долин; 3 зона — низгорная, с небольшими полями риса на террасах; перемежаемыми невозделываемыми сухими участками; 4 зона — засушливая, полей нет Four zones are distinguished: Zone 1 — “pure” rice fields on the plain far from the mountains; Zone 2 — rice fields of foothills and intermountain valleys; Zone 3 — lowland, with small rice fields on terraces, interspersed with uncultivated dry areas; Zone 4 — arid, no fields	Крысы рода <i>Rattus</i> (<i>Rattus argentiventer</i>, <i>R. exulans</i>), бандикоты (<i>Bandicota</i> sp.), домовые мыши (<i>Mus musculus</i>) Rats of the genus <i>Rattus</i> (<i>Rattus argentiventer</i> , <i>R. exulans</i>), bandicoots (<i>Bandicota</i> sp.), house mice (<i>Mus musculus</i>)	2008
Мьянма Myanmar	Предположительно, в Мьянме имеется два очага в центральной части страны и на ее северо-восточной окраине, где смыкаются между собой энзоотичные территории Мьянмы и КНР (провинция Юньнань) Myanmar is believed to have two outbreaks in the central part of the country and on its northeastern edge, where the enzootic territories of Myanmar and the China (Yunnan Province) meet	Крысы (<i>R. rattus</i>, <i>R. losea</i>, <i>R. flavipectus</i>, <i>R. exulans</i>, <i>R. norvegicus</i>, <i>Nesokia indica</i>, <i>Millardia meltada</i>), бандикоты (<i>Bandicota bengalensis</i>), землеройки (<i>Suncus murinus</i>) Rats (<i>R. rattus</i> , <i>R. losea</i> , <i>R. flavipectus</i> , <i>R. exulans</i> , <i>R. norvegicus</i> , <i>Nesokia indica</i> , <i>Millardia meltada</i>), bandicoots (<i>Bandicota bengalensis</i>), shrews (<i>Suncus murinus</i>)	1994
Непал Nepal	Северо-запад Непала, округ Баджанг провинция Сети, вблизи границы с Тибетским автономным районом КНР Northwest Nepal, Bajhang District, Seti Province, near the border with the Tibet Autonomous Region of the China	Не установлено Not established	1968
Таиланд Thailand	Вероятные природные очаги чумы располагаются в прилегающей к Мьянме западной (очевидно, горные районы хребтов Танен-Таунджи и Кун-Тан), центральной (плато Дай-Лаунг-Донгпьяфа) и южной частях страны Probable natural foci of plague are located in the adjacent western (apparently the mountainous areas of the Tanen-Taunji and Kun-Tan ranges), central (Dai Laung-Dongpyapha Plateau) and southern parts of Myanmar.	Крысы (<i>Rattus rattus</i>, <i>R. exulans</i>), бандикоты (<i>Bandicota indica</i>), землеройки (<i>Suncus murinus</i>) Rats (<i>Rattus rattus</i> , <i>R. exulans</i>), bandicoots (<i>Bandicota indica</i>), shrews (<i>Suncus murinus</i>)	1952
Западно-Тихоокеанский регион/Western Pacific region			
Вьетнам Vietnam	Потенциальные природные очаги (плато Контум и Центральное плато) в провинциях, граничащих с Лаосом и Камбоджей Potential natural hotspots (Kontum Plateau and Central Plateau), in provinces bordering Laos and Cambodia	Крысы (<i>Rattus exulans</i>, <i>R. tanezumi</i>, <i>R. nitidus</i>, <i>R. rattus</i>, <i>R. norvegicus</i>, <i>R. losea</i>, <i>R. flavipectus</i>, <i>Berylmys bowersi</i>, <i>Maxomys surifer</i>), землеройки (<i>Suncus murinus</i>) Rats (<i>Rattus exulans</i> , <i>R. tanezumi</i> , <i>R. nitidus</i> , <i>R. rattus</i> , <i>R. norvegicus</i> , <i>R. losea</i> , <i>R. flavipectus</i> , <i>Berylmys bowersi</i> , <i>Maxomys surifer</i>), shrews (<i>Suncus murinus</i>)	2003

Страна Country	Природно-очаговая территория Natural Focal Area	Возможные носители чумы Possible carriers of plague	Дата регистрации последнего случая (год) Date of registration of the last case (year)
Западно-Тихоокеанский регион/Western Pacific region			
Камбоджа Cambodia	Равнины Нижнего Меконга и его правого притока Тонле-Сап, Центральное плато Plains of the Lower Mekong and its right tributary Tonle Sap, Central Plateau	Крысы (<i>Rattus rattus</i>, <i>R. norvegicus</i>), землеройки (<i>Suncus murinus</i>) Rats (<i>Rattus rattus</i> , <i>R. norvegicus</i>), shrews (<i>Suncus murinus</i>)	1973
Китай China	На территории страны 12 природных очагов чумы. Первичные очаги распространены в горных, степных, полупустынных и пустынных ландшафтных зонах Китая, в южных субтропических регионах — вторичные природные очаги чумы There are 12 natural foci of plague in the country. Primary foci are distributed in mountainous, steppe, semi-desert and desert landscape zones of China, while secondary natural plague foci are found in southern subtropical regions	Тарбаганы (<i>Marmota sibirica</i>), суслики (<i>Spermophilus dauricus</i>), пищухи (<i>Ochotona dauurica</i>), полевки (<i>Lasiopodomys gregalis</i>, <i>L. brandti</i>), тушканчики (<i>Allactaga sibirica</i>) и др. Tarbagans (<i>Marmota sibirica</i>), gophers (<i>Spermophilus dauricus</i>), pika (<i>Ochotona dauurica</i>), voles (<i>Lasiopodomys gregalis</i> , <i>L. brandti</i>), marmosets (<i>Allactaga sibirica</i>) and others	2023
Лаос Laos	Южная часть страны Southern part of the country	Не установлено Not established	1996
Монголия Mongolia	Практически вся территория страны. Лишь на территории 2 аймаков (Булган и Селенге) не обнаружено природных очагов чумы за все годы изучения распространения инфекции в Монголии Practically the whole territory of the country. Only in the territory of 2 aimags (Bulgan and Selenge) no natural plague foci were found during all the years of studying the spread of infection in Mongolia	Тарбаганы (<i>Marmota sibirica</i>, <i>Marmota baibacina</i>) Tarbagans (<i>Marmota sibirica</i> , <i>Marmota baibacina</i>)	2023

демиологическая ситуация по холере складывается в Республике Филиппины. На всей территории страны существует высокий риск заражения холерой. Только за последнее десятилетие на Филиппинах зафиксировано более 14 тыс. случаев болезни. Крупнейшие вспышки холеры в стране отмечены в 2014 и 2022 гг. (4547 и 6062 случая соответственно). На территориях других стран в последние годы отмечена тенденция к снижению уровня заболеваемости. В Китае регистрируют единичные местные случаи болезни. В Малайзии — ограниченные вспышки заболевания (2021 г. — 50 случаев). В Австралии, Японии, Новой Зеландии, Южной Корее ежегодно регистрируют единичные завозные случаи заболевания.

Необходимо отметить, что по данным ВОЗ глобальный эпидемиологический учет холеры искажается из-за отсутствия полной отчетности из стран Азии с высоким уровнем заболеваемости, в связи с чем фактическое число случаев заболевания холерой в регионе может быть гораздо выше [21].

Малярия. Серьезную проблему для ряда стран Индо-Западно-Тихоокеанского региона

представляет высокая заболеваемость малярией. Только две страны в Юго-Восточной Азии в настоящее время имеют статус «свободной от малярии»: Мальдивы (с 2015 г.) и Шри-Ланка (2016 г.). При этом за последние 20 лет регион добился значительных успехов в борьбе с малярией. По состоянию на 2022 г. общая численность случаев заболевания сократилась на 78%, с 22,9 млн до 5 млн; случаев смерти — на 75%, с 35 000 до 9000. Согласно данным последнего Всемирного доклада о малярии [3], общее количество случаев болезни в Юго-Восточной Азии составило, лишь 2% в общемировом зачете. Большая доля случаев приходится на Индию (82,5% в регионе ЮВА), Индонезию (15,6%), Мьянму (1,6%).

В Западно-Тихоокеанском регионе ВОЗ основная доля заболевших малярией регистрируется в Папуа-Новой Гвинее (более 90% в ЗТР) и на Соломоновых островах (9%). По данным ВОЗ, 5 из 9 эндемичных стран региона (Камбоджа, Лаос, Малайзия, Филиппины и Вьетнам), на долю которых еще в прошлом десятилетии приходилась большая часть заболевших, сегодня находятся на пути к достижению цели программы по элиминации малярии, а имен-

но снижению заболеваемости более чем на 75% к 2025 г. На большинстве островных государств малярию не регистрируют с 1963 г. Местная передача в Австралии, Брунее и Сингапуре прекращена в 80-х годах прошлого столетия. С 2012 г. малярию не регистрируют в Японии, Кирибати и Тувалу [19]. В течении последних 5 лет, Малайзия сообщает о нулевом количестве случаев заболевания. В 2021 г. Китай сертифицирован как страна, свободная от малярии [2].

Лихорадка денге. Наиболее актуальными инфекционными болезнями для региона являются арбовирусные лихорадки, прежде всего лихорадка денге. В современный период местная передача возбудителя денге происходит во всех странах региона, за исключением Австралии, Монголии, КНДР и Республики Корея. По данным ВОЗ [5], более 50% заболевших в мире фиксируется именно среди жителей региона. Кроме того, такие страны как Индия, Индонезия, Мьянма, Шри-Ланка и Таиланд входят в число 30 государств с наибольшей регистрацией случаев заболевания. По оценочным данным ВОЗ, в настоящее время более 1,5 млрд человек, проживающих в странах ЮВА и ЗТР, ежегодно подвергаются риску заболевания лихорадкой денге. На территории региона установлена циркуляция всех субтипов вируса денге (1, 2, 3, 4) [14]. Болезнь регистрируют круглогодично. Кроме того, в странах с высоким уровнем заболеваемости отмечено увеличение длительности вспышек, которые приобретают все большую интенсивность и географические масштабы. Только в 2022–2023 гг. на территории региона общее количество официально зарегистрированных случаев заболевания превысило 2 млн. Наиболее неблагоприятными в эпидемиологическом отношении странами в ЗТР являются Филиппины, где в 2023 г. зарегистрировано 167 355 заболевших и 575 умерших (коэффициент летальности 0,34%), и Вьетнам (149 557 заболевших и 36 умерших, коэффициент летальности 0,02%). В Юго-Восточной Азии — Бангладеш (в 2023 г. 321 179 случаев), Индия (94 198 случаев), Шри-Ланка (5454 случая). Необходимо заметить, что в регионе ведется ограниченный учет заболеваемости денге, особенно в островных государствах и территориях Тихого океана, в связи с чем фактическое число случаев заболевания в регионе может быть значительно выше [5].

Лихорадка Зика. Первые упоминания о болезни в регионе Юго-Восточной Азии относятся к 1960-м годам [35]. Вплоть до 1980-х, легкие формы лихорадки Зика уже выявляли во многих странах Азии. Присутствие вируса Зика в регионе подтверждалось обнаружением его в комарах-переносчиках и у обезьян. До 2007 г. у людей регистрировались единичные клинические случаи, в связи с чем болезнь не вызывала серьезных опа-

сений. Первая крупная вспышка лихорадки Зика зарегистрирована в 2007 г. на одном из островов Микронезии, где были инфицированы 73% населения, однако течение заболевания в основном было легким и непродолжительным [10]. В 2013–2014 гг. вспышка охватила Французскую Полинезию. Одновременно была зафиксирована волна заболеваемости редким аутоиммунным заболеванием — синдромом Гийена–Барре (42 случая), что поставило вопрос о его ассоциации с вирусом Зика [12]. Именно эти первые эпидемические вспышки свидетельствовали о потенциальной опасности вируса. В 2016 г. болезнь зарегистрирована в Сингапуре. В настоящее время циркуляция вируса подтверждена на территории Индии, Индонезии, Мьянмы, Таиланда и Восточного Тимора. Случаи заболевания среди населения зарегистрированы в Индии (вспышки в 2017, 2018, 2023 гг.), Индонезии (2016 г.), Таиланде (2023 г.), Восточном Тиморе (2024 г.). Местные случаи заболевания лихорадкой Зика в ЗТР отмечены на территориях: Вануату (2015 г.), на Соломоновых островах (2015–2016 гг. — 302 случая заболевания), в Новой Каледонии (2015 г. — 82 случая, из них только 10 случаев заболевания импортированных) и на Филиппинах (2012, 2016 гг.). Кроме того, ряд фактов свидетельствуют о возможной циркуляции вируса и в других странах региона: положительные серологические находки у местных жителей, наличие случаев заболевания в соседних государствах и наличие потенциальных переносчиков инфекции.

Лихорадка Западного Нила. Циркуляция вируса лихорадки Западного Нила (ВЗН) остается малоизученной проблемой в регионе. Известно об обнаружении вируса в Камбодже, Республике Корея, Малайзии Бангладеш, Индонезии и Непале. В научных публикациях имеются данные о регистрации случаев заболевания на территории Шри-Ланки [29]. В Австралии проявления ЛЗН связаны с циркуляцией вируса Кунджин (подтип ВЗН). Заболевание, вызванной данной разновидностью вируса, характеризуется более мягким течением, редким поражением ЦНС и отсутствием летальности [13].

Японский энцефалит. С момента выявления вируса японского энцефалита в 1870 г. в Японии, заболевание широко распространилось по территории всего Азиатского региона [37]. По данным ВОЗ, в настоящее время 24 страны с населением более 3 млрд человек в регионах ЮВА и Западной части Тихого океана подвержены риску передачи вируса [23]. В регионе идентифицированы как минимум 10 видов комаров-переносчиков вируса, основным из которых является *Culex tritaeniorhynchus*. Годовая заболеваемость варьируется между странами и внутри них, составляя от менее 10 до более 100 на 100 тыс. населения или выше во время вспышек. Основной

контингент риска — дети до 15 лет. Большинство взрослых в эндемичных странах обладают иммунитетом, перенеся инфекцию в детстве, однако болезнь может затронуть лиц любого возраста. Заболеваемость имеет сезонный характер, с тенденцией к росту в муссонный и постмуссонный периоды, когда популяция комаров выше. Наиболее крупные вспышки обычно происходят с мая по октябрь, достигая пика в сезон дождей. Эпидемиологическое неблагополучие по японскому энцефалиту зарегистрировано на территории Бангладеш, Бутана, Индии, Индонезии, Мьянмы, Непала, Таиланда, Восточного Тимора и Шри-Ланки. В ЗТР — японский энцефалит распространен в Камбодже, Вьетнаме, Китае, Лаосе и Малайзии. В настоящее время благодаря кампании вакцинации против японского энцефалита на территории региона отмечен низкий уровень заболеваемости.

Новой проблемой общественного здравоохранения в регионе является *инфекция, вызванная вирусом Нипах*. Первое выявление вируса Нипах, как причины вспышки энцефалита зарегистрировано в регионе в 2001 г. в округе Мехерпур в Бангладеш. За период с 2001 по 2023 гг. в стране зарегистрирован 341 случай заболевания, в том числе 242 летальных, в 34 из 64 округов страны [36]. В 2023 г. отмечено 10 летальных случаев болезни, что является самым высоким показателем летальности за последние семь лет. По состоянию на март 2024 г. в Бангладеш зарегистрировано 2 летальных случая. Отдельные вспышки энцефалита, вызванного вирусом Нипах регистрируют на территории Индии: 2001 г. (66 случаев), 2018 г. — 2 вспышки (5 и 23 случая), 2019 г. (1 случай), 2021 г. (1 случай), 2023 г. (6 случаев). На территории других стран ЮВА (Бутан, Индонезия, Мьянма, Таиланд, Шри-Ланка) имеются данные о распространении (вероятном обитании) нескольких видов летучих мышей рода *Pteropus*, которые могут переносить вирус Нипах, однако случаев заболевания среди населения не отмечалось. В ЗТР отмечены единичные вспышки. В Малайзии вспышка вируса Нипах (сентябрь 1998 г. — май 1999 г.) привела к 265 случаям острого энцефалита со 105 смертельными исходами [27]. В 1999 г. в Сингапуре подтверждена острая инфекция, вызванная вирусом Нипах у 11 работников одной скотобойни, куда незадолго до вспышки были завезены свиньи из Малайзии, как позже оказалось инфицированные вирусом Нипах [28]. На Филиппинах во вспышке 2014 г. зарегистрировано 17 случаев болезни (летальность 82%). Десять пациентов имели в анамнезе тесный контакт с лошадьми или употребление конины. За тот же период была зарегистрирована смерть 10 лошадей, у 9 из которых наблюдались неврологические

симптомы [26]. К территориям высокого риска распространения вируса Нипах также относят Вьетнам, Камбоджу, Китай и Палау.

Полиомиелит. Местная передача полиовируса в настоящее время на территории стран региона отсутствует. В 2000 г. Региональная комиссия по сертификации ликвидации полиомиелита подтвердила, что Регион Западной части Тихого океана свободен от передачи местного дикого полиовируса. Последний известный случай передачи местного полиовируса произошел в Камбодже в 1997 г. В 2014 г. ВОЗ признала регион Юго-Восточной Азии свободным от полиомиелита, вызванного диким полиовирусом. Последние случаи отмечены в Индии в 2008 г.

Мелиоидоз. По оценкам, на Южную Азию приходится 44% глобального бремени заболеваемости мелиоидозом [39]. Болезнь эндемична в ряде стран региона (Индия, Шри-Ланка, Таиланд, Австралия, Бруней, Вьетнам, Камбоджа, Китай, Лаос, Малайзия, Мьянма, Папуа-Новая Гвинея и Сингапур). Согласно оценочным данным ежегодная встречаемость болезни на эндемичных территориях составляет до 50 случаев на 100 тыс. населения [6]. Наибольшее число случаев ежегодно регистрируют на территории Малайзии, Северной Австралии, Сингапура и в Таиланде. В 2023 г. вспышки отмечены в Таиланде (110 случаев), Австралии (52 случая), Сингапуре (20 случаев) и Китае (7 случаев).

Таким образом, в ходе проведенного анализа установлено, что эпидемиологическая ситуация, складывающаяся в настоящее время в Индо-Тихоокеанском регионе, представляет собой существенную угрозу санитарно-эпидемиологическому благополучию населения Российской Федерации, прежде всего за счет увеличивающихся рисков заноса опасных инфекционных болезней на территорию нашей страны.

Наиболее вероятным является риск заноса таких инфекционных болезней как холера, малярия и лихорадка денге, неблагополучная эпидемиологическая ситуация по которым складывается в последние годы в регионе. При этом наличие прямого транспортного сообщения регионов России с рядом стран региона (Таиланд, Шри-Ланка, Вьетнам, Мальдивы, Индия, Монголия, Китай, Мьянма) многократно увеличивает риск заноса указанных болезней.

В связи с постоянной регистрацией чумы в странах региона, в том числе граничащих с Российской Федерацией (Монголия, Китай) занос чумы из Индо-Западно-Тихоокеанского региона представляет существенный риск для эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации, что определяет приоритетность данного региона в мониторинге эпидемиологических рисков заноса чумы для санитарной охраны Российской Федерации.

Необходимо отметить, что присутствующая вероятность осложнения эпидемиологической ситуации на территории Российской Федерации за счет прибытия заболевших лиц такими инфекционными болезнями, как лихорадка денге, Зика, Западного Нила, остается низкой в связи с отсутствием потенциала к дальнейшему распространению болезни. В то же время занос инфицированных переносчиков упомянутых болезней может представлять большую угрозу в некоторых регионах России (Черноморское побережье Кавказа, Крым) в связи с наличием подходящих климатических условий для широкого распространения комаров-переносчиков и инициации местной формы передачи инфекции.

Согласно ранее разработанной методике расчета риска заноса инфекционных болезней на территорию Российской Федерации [7] с учетом пассажиропотока и показателя заболеваемости конкретной инфекционной болезнью на 100 тыс. населения в каждой стране региона, проведена оценка внешних эпидемиологических угроз из стран региона. Проведенная оценка позволила ранжировать риск заноса инфекционных болезней из стран региона по следующим категориям:

Минимальный риск — занос случая холеры из Индии, Китая и Таиланда; малярии

из Филиппин; ЛЗН — из Австралии и Индии; денге из Индии.

Низкий риск — занос случая чумы из Монголии; холеры — из Филиппин; малярии — из Бангладеша, Индии, КНДР, Малайзии и Непала; денге — из Австралии и Китая (Тайвань); мелиоидоза — из Австралии, Сингапура и Таиланда.

Средний риск — занос случая холеры из Бангладеш; денге — из Бангладеша, Вьетнама, Камбоджи, Сингапура, Мьянмы и Шри-Ланки.

Высокий риск — занос случая денге из Лаоса, Малайзии, Непала, Таиланда, Филиппин.

Данная работа, является завершающей в серии аналитических обзоров современного распространения в регионах мира инфекционных болезней, требующих проведения мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации [8, 9, 20, 22].

Подробные эпидемиологические материалы в виде 5 томов, сформированные по регионам ВОЗ: Восточно-Средиземноморскому (2020 г.), Европейскому (2021 г.), Американскому (2022 г.), Африканскому (2023 г.), Юго-Восточной Азии (2024 г.) и Западно-Тихоокеанскому (2024 г.), представлены в открытом доступе на сайте ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора [16].

Список литературы/References

1. Атлас природных очагов чумы России и зарубежных государств / Под ред. д-ра мед. наук, проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН, д-ра мед. наук, проф. В.В. Кутырева. Калининград: РА Полиграфычъ, 2022. 348 с. [Atlas of natural plague foci of Russia and foreign countries / Eds. A.Yu. Popova, V.V. Kutyrev. Kaliningrad: RA Poligrafyich, 2022. 348 p. (In Russ.)]
2. Всемирный доклад о малярии, 2021 г. [Malaria World Report, 2021] URL: <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2021> (02.06.2024)
3. Всемирный доклад о малярии, 2023 г. [Malaria World Report, 2023] URL: <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2023> (02.06.2024)
4. Демографические перспективы мира, 2022. Департамент по экономическим и социальным вопросам. Отдел народонаселения Организации Объединенных Наций. 01.06.2024. [World Population Prospects 2022. Department of Economic and Social Affairs Population Division. United Nations] URL: <https://population.un.org/wpp> (01.06.2024)
5. Денге — ситуация в мире. [Dengue — global situation] URL: <https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON498> (02.06.2024)
6. Захарова И.Б. Актуальные вопросы современной эпидемиологии мелиоидоза: обзор литературы и анализ случаев завоза инфекции в эндемичные регионы // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2018. Т. 23, № 3. С. 126–133. [Zakharova I.B. Actual issues of the modern epidemiology of melioidosis: a literature review and analysis of imported cases to non-endemic regions. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases*, 2018, vol. 23, no. 3, pp. 126–133. (In Russ.)] doi: 10.18821/1560-9529-2018-23-3-126-13
7. Зубова А.А., Иванова А.В., Щербакова С.А., Куклев Е.В., Топорков В.П., Бойко А.В. Современные подходы к оценке риска завоза инфекционных болезней на территорию Российской Федерации // Проблемы особо опасных инфекций. 2023. № 2. С. 120–126. [Zubova A.A., Ivanova A.V., Shcherbakova S.A., Kuklev E.V., Toporkov V.P., Boiko A.V. Advanced Approaches to Assessment of Risk of Infectious Disease Importation onto the Territory of the Russian Federation. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2023, no. 2, pp. 120–126. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2023-2-120-126
8. Иванова А.В., Удовиченко С.К., Шиянова А.Е., Дмитриева Л.Н., Поспелов М.В., Касьян Ж.А., Зимирова А.А. Распространение инфекционных болезней, значимых для санитарной охраны территории Российской Федерации, в Европейском регионе ВОЗ // Проблемы особо опасных инфекций. 2021. № 4. С. 16–26. [Ivanova A.V., Udovichenko S.K., Shiyanova A.E., Dmitrieva L.N., Pospelov M.V., Kas'yan Zh.A., Zimirova A.A. Distribution of Infectious Diseases Significant for Sanitary Protection of the Territory of the Russian Federation in the WHO European Region. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2021, no. 4, pp. 16–26. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2021-4-16-26
9. Иванова А.В., Зубова А.А., Касьян Ж.А., Дмитриева Л.Н., Чумачкова Е.А., Зимирова А.А., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Обзор актуальных рисков заноса инфекционных болезней на территорию Российской Федерации из стран Африканского континента // Дезинфекционное дело. 2023. № 4. С. 33–45. [Ivanova A.V., Zubova A.A.,

- Kas'jan Zh.A., Dmitrieva L.N., Chumachkova E.A., Zimirova A.A., Shcherbakova S.A., Kutyrav V.V. Review of current epidemiological risks of introducing infectious diseases into the Russian Federation from the African continent. *Dezinfektsionnoe delo = Disinfection Affairs*, 2023, no. 4, pp. 33–45. (In Russ.) doi: 10.35411/2076-457X-2023-4-33-45
10. История вируса Зика. [History of Zika virus] URL: <https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/the-history-of-zika-virus> (02.06.2024)
 11. Ключевые показатели для Азиатско-Тихоокеанского региона в 2023 году. 54 издание. Азиатский банк развития. [Key Indicators for Asia and the Pacific 2023. Asian Development Bank] URL: <https://www.adb.org/publications/key-indicators-asia-and-pacific-2023> (01.06.2024)
 12. Лихорадка Зика — ситуация в мире. [Zika fever — global situation] URL: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/documents/emergencies/zika/zika-epidemiology-update_february-2022_clean-version.pdf?sfvrsn=c4cec7b7_13&download=true (02.06.2024)
 13. Лихорадка Западного Нила / Под ред. д-ра мед. наук А.В. Топоркова. Волгоград: Издательство «Волга-Пресс», 2017. 304 с. [West Nile Fever. Ed. by A.V. Toporkov. Volgograd: Volga-Press, 2017. (In Russ.)]
 14. Марков В.И. Лихорадка денге // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2015. Т. 12, № 3. С. 40–43. [Markov V.I. Dengue fever. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie* = *Infectious Diseases: News, Opinions, Training*, 2015, vol. 12, no. 3, pp. 40–43. (In Russ.)]
 15. Нестабильность и бедность в странах. [Fragility and poverty] URL: <https://blogs.worldbank.org/en/opendata/fragility-and-poverty-sub-saharan-africa-two-sides-same-coin> (01.06.2024)
 16. Обзоры и прогнозы. ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. [Reviews and predictions. Russian Anti-Plague Institute «Microbe»] URL: https://microbe.ru/pro_epid/review/ (04.06.2024)
 17. Попов Н.В., Куклев Е.В., Слудский А.А., Тарасов М.А., Матросов А.Н., Князева Т.В., Караваева Т.Б., Кутырев В. В. Ландшафтная приуроченность и биоценотическая структура природных очагов чумы дальнего зарубежья. Северная и Южная Америка, Африка, Азия // Проблемы особо опасных инфекций. 2005. Т. 89, № 1. С. 9–15. [Popov N.V., Kuklev E.V., Sludskii A.A., Tarasov M.A., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Karavaeva T.B., Kutyrav V. V. Landscape confinement and biocenotic structure of natural plague foci of remote foreign countries in North and South Americas, Africa, Asia. *Problemy osobo opasnykh infektsiy* = *Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2005, vol. 89, no. 1, pp. 9–15. (In Russ.)]
 18. Страны. ВОЗ. [Countries. WHO] URL: <https://www.who.int/countries> (01.06.2024)
 19. Страны и территории, сертифицированные ВОЗ как свободные от малярии. [Countries and territories certified malaria free by WHO] URL: <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/elimination/countries-and-territories-certified-malaria-free-by-who> (02.06.2024)
 20. Удовиченко С.К., Никитин Д.Н., Бородай Н.В., Иванова А.В., Путинцева Е.В., Викторов Д.В., Топорков А.В., Костылева А.А. Инфекционные болезни Американского региона, актуальные в плане надзора и контроля на глобальном уровне // Проблемы особо опасных инфекций. 2022. № 2. С. 122–133. [Udovichenko S.K., Nikitin D.N., Boroday N.V., Ivanova A.V., Putintseva E.V., Viktorov D.V., Toporkov A.V., Kostyleva A.A. Infectious Diseases in the Americas Region that Are Relevant to the Global Surveillance and Control. *Problemy osobo opasnykh infektsiy* = *Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2022, no. 2, pp. 122–133. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2022-2-122-133
 21. Холера — ситуация в мире. [Cholera — global situation] URL: <https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON437>. (02.06.2024)
 22. Шиянова А.Е., Удовиченко С.К., Дмитриева Л.Н., Иванова А.В., Топорков В.П., Куклев Е.В., Бойко А.В. Распространение инфекционных болезней, значимых для санитарной охраны территории Российской Федерации, в Восточно-Средиземноморском регионе // Проблемы особо опасных инфекций. 2017. № 4. С. 15–22. [Shiyanova A.E., Udovichenko S.K., Dmitrieva L.N., Ivanova A.V., Toporkov V.P., Kouklev E.V., Boiko A.V. Dissemination of Infectious Diseases Significant for the Sanitary Protection of the Territory of the Russian Federation in East-Mediterranean Region. *Problemy osobo opasnykh infektsiy* = *Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2017, no. 4, pp. 15–22. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2017-4-15-22
 23. Японский энцефалит. [Japanese encephalitis] URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/japanese-encephalitis> (02.06.2024)
 24. Bishwajit G., Ide S., Ghosh S. Social determinants of infectious diseases in South Asia. *Int. Sch. Res. Notices*, 2014, no. 2014: 135243. doi: 10.1155/2014/135243
 25. Coker R.J., Hunter B.M., Rudge J.W., Liverani M., Hanvoravongchai P. Emerging infectious diseases in southeast Asia: regional challenges to control. *Lancet*, 2011, vol. 377, no. 9765, pp. 599–609. doi: 10.1016/S0140-6736(10)62004-1
 26. Faus-Cotino J., Reina G., Pueyo J. Nipah virus: a multidimensional update. *Viruses*, 2024, vol. 16, no. 2: 179. doi: 10.3390/v16020179
 27. Looi L.M., Chua K.B. Lessons from the Nipah virus outbreak in Malaysia. *Malays. J. Pathol.*, 2007, vol. 29, no. 2, pp. 63–67.
 28. Lo Presti A., Cella E., Giovanetti M., Lai A., Angeletti S., Zehender G., Ciccozzi M. Origin and evolution of Nipah virus. *J. Med. Virol.*, 2016, vol. 88, no. 3, pp. 380–388. doi: 10.1002/jmv.24345
 29. Lohitharajah J., Malavige G.N., Chua A.J., Ng M.L., Arambepola C., Chang T. Emergence of human West Nile Virus infection in Sri Lanka. *BMC Infect. Dis.*, 2015, no. 15: 305. doi: 10.1186/s12879-015-1040-7
 30. Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. Yersinia pestis genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.*, 2010, vol. 42, no. 12, pp. 1140–1143. doi: 10.1038/ng.705
 31. Okeke I.N. Africa in the time of cholera: a history of pandemics from 1817 to the present. *Emerg. Infect. Dis.*, 2012, vol. 18, no. 2: 362. doi: 10.3201/eid1802.111535
 32. Paton N.I., Leo Y.S., Zaki S.R., Auchus A.P., Lee K.E., Ling A.E., Chew S.K., Ang B., Rollin P.E., Umaphathi T., Sng I., Lee C.C., Lim E., Ksiazek T.G. Outbreak of Nipah-virus infection among abattoir workers in Singapore. *Lancet*, 1999, vol. 354, no. 9186, pp. 1253–1256. doi: 10.1016/S0140-6736(99)04379-2

33. Petersen E., Koopmans M., Go U., Hamer D.H., Petrosillo N., Castelli F., Storgaard M., Al Khalili S., Simonsen L. Comparing SARS-CoV-2 with SARS-CoV and influenza pandemics. *Lancet. Infect. Dis.*, 2020, vol. 20, no. 9: e238–e244. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30484-9
34. Rudnick A., Lim T.W. Dengue fever studies in Malaysia. *Institute of Medical Research of Malaysia Bulletin*, 1986, vol. 23, pp. 151–152.
35. Salehuddin A.R., Haslan H., Mamikutty N., Zaidun N.H., Azmi M.F., Senin M.M., Syed Ahmad Fuad S.B., Thent Z.C. Zika virus infection and its emerging trends in Southeast Asia. *Asian Pac. J. Trop. Med.*, 2017, vol. 10, no. 3, pp. 211–219. doi: 10.1016/j.apjtm.2017.03.002
36. Satter S.M., Aquib W.R., Sultana S., Sharif A.R., Nazneen A., Alam M.R., Siddika A., Akther Ema F., Chowdhury K.I.A., Alam A.N., Rahman M., Klena J.D., Rahman M.Z., Banu S., Shirin T., Montgomery J.M. Tackling a global epidemic threat: Nipah surveillance in Bangladesh, 2006–2021. *PLoS Negl Trop. Dis.*, 2023, vol. 17, no. 9: e0011617. doi: 10.1371/journal.pntd.0011617
37. Solomon T., Ni H., Beasley D.W., Ekkelenkamp M., Cardoso M.J., Barrett A.D. Origin and evolution of Japanese encephalitis virus in southeast Asia. *J. Virol.*, 2003, vol. 77, no. 5, pp. 3091–3098. doi: 10.1128/jvi.77.5.3091-3098.2003
38. Wang E., Ni H., Xu R., Barrett A.D., Watowich S.J., Gubler D.J., Weaver S.C. Evolutionary relationships of endemic/epidemic and sylvatic dengue viruses. *J. Virol.*, 2000, vol. 74, no. 7, pp. 3227–3234. doi: 10.1128/jvi.74.7.3227-3234.2000
39. Wiersinga W.J., Currie B.J., Peacock S.J. Melioidosis. *N. Engl. J. Med.*, 2012, vol. 367, no. 11, pp. 1035–1044. doi: 10.1056/NEJMra1204699
40. Zain A., Sadarangani S.P., Shek L.P., Vasoo S. Climate change and its impact on infectious diseases in Asia. *Singapore Med J.*, 2024, vol. 65, no. 4, pp. 211–219. doi: 10.4103/singaporemedj.SMJ-2023-180

Авторы:

Иванова А.В., к.м.н., и. о. зав. лабораторией эпидемиологического анализа и прогнозирования ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;
Зубова А.А., младший научный сотрудник лаборатории санитарной охраны и ЧС отдела эпидемиологии ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;
Касьян Ж.А., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории санитарной охраны и ЧС отдела эпидемиологии ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;
Дмитриева Л.Н., научный сотрудник лаборатории санитарной охраны и ЧС отдела эпидемиологии ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;
Чумачкова Е.А., научный сотрудник лаборатории санитарной охраны и ЧС отдела эпидемиологии научный сотрудник отдела эпидемиологии ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;
Поспелов М.В., младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологического анализа и прогнозирования ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;
Зиминова А.А., младший научный сотрудник лаборатории санитарной охраны и ЧС отдела эпидемиологии ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;
Шилова Л.Д., научный сотрудник лаборатории эпидемиологического анализа и прогнозирования ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;
Ярулина С.А., лаборант лаборатории эпидемиологического анализа и прогнозирования ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;
Щербакова С.А., д.б.н., заместитель директора по научной и экспериментальной работе ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;
Кутырев В.В., д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия.

Authors:

Ivanova A.V., PhD (Medicine), Acting Head of the Laboratory of Epidemiological Analysis and Forecasting, Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation;
Zubova A.A., Junior Researcher, Laboratory of Sanitary Protection and Emergency Situations, Epidemiology Department, Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation;
Kas'yan Zh.A., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Sanitary Protection and Emergency Situations, Epidemiology Department, Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation;
Dmitrieva L.N., Researcher, Laboratory of Sanitary Protection and Emergency Situations, Epidemiology Department, Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation;
Chumachkova E.A., Researcher, Laboratory of Sanitary Protection and Emergency Situations, Epidemiology Department, Researcher, Epidemiology Department, Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation;
Pospelov M.V., Junior Researcher, Laboratory of Epidemiological Analysis and Forecasting, Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation;
Zimirova A.A., Junior Researcher, Laboratory of Sanitary Protection and Emergency Situations, Epidemiology Department, Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation;
Shilova L.D., Researcher, Laboratory of Epidemiological Analysis and Forecasting, Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation;
Jarulina S.A., Laboratory Assistant, Laboratory of Epidemiological Analysis and Forecasting, Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation;
Shcherbakova S.A., DSc (Biology), Deputy Director for Scientific and Experimental Work, Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation;
Kutyrev V.V., RAS Full Member, DSc (Medicine), Professor, Director of the Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation.

ОПИСАНИЕ МЕДИАТОРОВ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СТРЕССА У ВИДОВ РОДА *CANDIDA*

О.В. Еноктаева

ФГБОУ ВО Тюменский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Тюмень, Россия

Резюме. Успешное распространение микромицетов рода *Candida* в различных нишах хозяина обусловлено их способностью избегать стресс, вызванный иммунной системой хозяина и другими факторами, направленными на блокирование процессов жизнедеятельности у этих грибов. Сбор, систематизация и интерпретирование полученных знаний о множественных регуляторных путях, контролирующих метаболизм в клетке, позволили по-иному взглянуть на процессы адаптации патогенных организмов к изменяющимся условиям среды. Этот обзор литературы посвящен изучению цинк-кластерных активаторов транскрипции TAC1 (Transcriptional activator of CDR) и MRR1 (Multidrug resistance regulator), регулирующих сверхэкспрессию генов-мишеней, работа которых направлена на обеспечение резистентных свойств у видов рода *Candida* по отношению к триазольному антимикотическому препарату флуконазолу. Медиатор экологического стресса — это понятие, которое характеризует плейотропный транскрипционный фактор как структуру, способную воспринимать влияние одного экологического фактора и трансформировать его в процесс повышения резистентности к лекарственному препарату у изучаемых микромицетов за счет стимулирования работы мембраносвязанных транспортеров. Точковые мутации в генах или изменение количества копий генов, ответственных за отток лекарств из клетки патогена, также повышают адаптивные возможности у грибов к антифугальному препарату, что в дальнейшем может давать селективное преимущество внутри популяции при определенных неблагоприятных условиях среды. Наличие генов-ортологов у представителей рода *Candida* объясняет сходные векторы развития механизмов резистентности к лекарственным препаратам. В статье приведено схематическое изображение механизма формирования адаптивного ответа у грибов рода *Candida* с помощью медиаторов экологического стресса к антимикотику флуконазолу, основанного на работе эффлюксных белков АТФ-связывающих каскадов (ATP-binding cassette) и суперсемейства основных фасилитаторов (Major-Facilitator superfamily). Изложенные положения, характеризующие работу активаторов транскрипции в качестве медиаторов экологического стресса, информируют о том, что один транскрипционный фактор может повышать экспрессию нескольких генов; один ген может активироваться несколькими факторами транскрипции; активацию описываемых в статье факторов транскрипции запускают окислительный и осмотический стресс; комбинаторный стресс может блокировать работу медиаторов экологического стресса. Зная генетический фон патогенных штаммов, можно моделировать комбинаторный стресс, который будет оказывать негативное влияние на процессы жизнедеятельности микромицетов. Например, эффективность используемых антимикотиков в терапевтической практике можно повышать благодаря применению химиосенсибилизирующих агентов.

Ключевые слова: *Candida*, медиатор экологического стресса, лекарственная резистентность, цинк-кластерные факторы транскрипции TAC1 и MRR1, эффлюксные белки ABC и MFS, комбинаторный стресс.

Адрес для переписки:

Еноктаева Ольга Викторовна
625023, Россия, г. Тюмень, ул. Одесская, 54,
ФГБОУ ВО Тюменский государственный медицинский
университет МЗ РФ.
Тел.: 8 908 878-87-46.
E-mail: pechkanova@mail.ru

Contacts:

Olga V. Enoktaeva
625023, Russian Federation, Tyumen, Odesskaya str., 54,
Tyumen State Medical University.
Phone: +7 908 878-87-46.
E-mail: pechkanova@mail.ru

Для цитирования:

Еноктаева О.В. Описание медиаторов экологического стресса у видов рода *Candida* // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 19–26. doi: 10.15789/2220-7619-DOE-17691

Citation:

Enoktaeva O.V. Description of environmental stress mediators in *Candida* species // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 19–26. doi: 10.15789/2220-7619-DOE-17691

© Еноктаева О.В., 2025

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-DOE-17691>

DESCRIPTION OF ENVIRONMENTAL STRESS MEDIATORS IN *CANDIDA* SPECIES

Enoktaeva O.V.

Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

Abstract. The successful spread of the genus *Candida* micromycetes in various host niches is accounted for by their ability to avoid stress caused by host immune system and other factors aimed at blocking fungal vital processes. The article studies the Transcriptional activator of CDR and the Multidrug resistance regulator controlling overexpression of target genes supposed to ensure resistant properties in genus *Candida* species against fluconazole. An environmental stress mediator is a term that characterizes a pleiotropic transcription factor as a structure capable of sensing an effect influence of a single environmental factor and transforming it into a process of increasing drug resistance in *Candida* micromycetes by promoting membrane-bound transporter activity. Gene point mutations or copy number alterations also increase fungal adaptive potential to fluconazole, which may further provide a selective populational advantage. The article schematically outlines a mechanism for developing adaptive response against genus *Candida* fungi involving environmental stress mediators to antimycotic fluconazole based on efflux proteins ATP-binding cassette and Major-Facilitator superfamily. Such premises describing activity of transcription activators mediating environmental stress suggest that a single transcription factor can upregulate expression of several genes; a single gene can be activated by several transcription factors; activation of the transcription factors described here is triggered by oxidative and osmotic stress; combination stress can block the functioning of environmental stress mediators. Knowing the genetic background of pathogenic strains may allow for simulating a combination stress able to negatively impact on micromycete life cycle.

Key words: *Candida*, mediator of environmental stress, drug resistance, zinc-cluster transcription factors *TAC1* and *MRR1*, efflux proteins *ABC* and *MFS*, combinatorial stress.

Введение

В литературе приведена колоссальная информация о различных факторах активации транскрипции у грибов рода *Candida* [16, 26]. Но для более подробного раскрытия сути понятия медиаторы экологического стресса (МЭС), остановимся на изучении цинк-кластерных факторов транскрипции *TAC1* (Transcriptional activator of CDR) и *MRR1* (Multidrug resistance regulator), одной из функций которых является регуляция оттока из клетки флуконазола — широко используемого триазольного антифунгального препарата в терапевтической практике при лечении кандидозов. В статье будут систематизированы полученные сведения по работе этих регуляторов транскрипционной активности генов-мишеней *CDR1*, *CDR2* (*Candida* drug resistance) и *MDR1* (Multidrug resistance) и описано их участие в регуляции метаболизма, претерпевающего изменения под воздействием на клетку одного экологического фактора. В результате трансформации процессов жизнедеятельности повышается резистентность к лекарственному препарату у изучаемых микромицетов за счет работы эффлюксных белков двух суперсемейств: АТФ-связывающих кассет (ATP-binding cassette (*ABC*) и основных фасилитаторов (Major-Facilitator superfamily (*MFS*)).

Цель исследования — описать роль цинк-кластерных факторов транскрипции *Tac1* и *Mrr1* в процессе приобретения резистентных свойств грибами рода *Candida* по отношению к флуконазолу и определить их функциональное значение в качестве медиаторов экологического стресса.

Роль цинк-кластерных факторов транскрипции *TAC1* и *MRR1* в формировании резистентных свойств у грибов рода *Candida*

Адаптация к широкому диапазону экологических ниш в организме хозяина, способность переходить от комменсального к паразитическому образу существования, приобретение резистентных свойств к антифунгальным препаратам и другие стойкие фенотипические изменения объясняются наличием у видов рода *Candida* сложных программ регуляции транскрипции генов. Благодаря РНК-секвенированию генома *Candida glabrata* было установлено, что в состоянии стресса, вызванного флуконазолом, *Mar1* контролирует работу 337 генов-мишеней [23].

Факторы транскрипции позволяют патогенным грибам должным образом реагировать на изменения окружающей среды и перестраивать свои физиологические процессы под новые условия. У вида *Candida albicans* описано более 80 факторов транскрипции цинкового кластера — это цинксодержащие белковые молекулы, характеризующиеся наличием консервативных ДНК-связывающих мотивов — цинковых пальцев, которые при воздействии с наследственным аппаратом клетки изменяют уровень экспрессии генов-мишеней. Примером продуктов экспрессии таких генов являются хорошо изученные эффлюксные белки двух суперсемейств — *ABC* и *MFS*, участвующие в транспорте веществ [2, 17].

Интегральные мембранные белки, *ABC*-транспортеры, локализованные во внешней плазматической мембране или в мембранах внутриклеточных органелл, способны транс-

портировать широкий спектр агентов, включая ионы, стероиды, сахара, аминокислоты, витамины и пептиды, используя в качестве энергии для транспорта веществ молекулы аденозин-трифосфата (АТФ).

Среди 28 предполагаемых АВС-транспортеров, описанных у *C. albicans*, белок лекарственной устойчивости *Candida* (*Candida drug resistance* (*Cdr1p*)) является основным переносчиком лекарств. Установлено, что 28 АВС-транспортеров у вида *Candida auris* участвуют в формировании клинически значимых фенотипов благодаря возникновению резистентности к многочисленным антифугальным препаратам. Следует отметить, что мембранные транспортеры семейства АВС широко распространены в природе и встречаются как в организме бактерий, так и человека.

Фасилитаторы MFS являются консервативными белками только бактерий и грибов. Данный факт позволяет рассматривать эти мембранные транспортеры в качестве мишени для разработки новых антифугальных препаратов. Эффлюксные белки MFS для выполнения своих функций используют протонный градиент плазматической мембраны [1, 6, 10, 24, 29].

Из огромного количества описанных механизмов лекарственной устойчивости [3] одним из наиболее известных является нарушение накопления лекарств внутри клетки грибов в результате усиления регуляции мембраносвязанных транспортеров. Например, мутации усиления функции (*Gain-of-function mutations* (*GOF*)) в генах, кодирующих цинк-кластерные факторы транскрипции *TAC1* и *MRR1*, приводят к конститутивной сверхэкспрессии соответствующих генов-мишеней (*CDR1*, *CDR2* и *MDR1*) и повышают устойчивость к флуконазолу у представителей рода *Candida* за счет усиления работы эффлюксных белков (АВС и MFS). Кроме того, каждый активатор транскрипции способен изменять и свою собственную экспрессию, регулируя количество белка в клетке [10]. Влияние флуконазола на уровень экспрессии эффлюкс-

ных белков внутри клеток грибов рода *Candida* схематически изображен в табл. 1.

Противогрибковая терапия может являться триггером для микроэволюции патогенных штаммов, повышая их адаптационный потенциал к используемым антимикотикам путем возникновения точечных мутаций в генах, ответственных за лекарственную резистентность грибов, вследствие чего происходит накопление этих мутаций в популяции [13, 14].

Анализ фенотипически нейтральных однонуклеотидных полиморфизмов генов *TAC1* и *MRR1*, полученных от популяций клинических изолятов *C. albicans*, показал наличие большого пула несинонимичных мутаций, которые в дальнейшем будут способствовать формированию резистентных штаммов. При этом нужно понимать, что молекулярную модификацию белка, вызванную заменой только одной аминокислоты, не всегда можно классифицировать как мутацию устойчивости к антимикотикам. Поскольку *C. albicans* является диплоидным организмом, то гомозиготное состояние генов, ответственных за резистентность к флуконазолу, будет в большей степени снижать эффективность применения данного лекарственного препарата, чем гетерозиготное [6].

Длительное воздействие антимикотиков на клетки грибов так же индуцирует образование изохромосом и анеуплоидий, благодаря чему можно зафиксировать увеличенное или уменьшенное количество копий генов, ответственных за отток лекарств из клетки, что в дальнейшем может давать селективное преимущество при определенных неблагоприятных условиях [17].

Так как филогенетически близкие виды обладают схожей генетической информацией, у них можно обнаружить наличие параллельных векторов развития механизмов резистентности к флуконазолу. Гены-ортологи у таких видов впереди своего обозначения получают две дополнительные буквы от родового и видового названия вида (табл. 2).

Таблица 1. Путь передачи информации от факторов транскрипции к мембранным транспортерам при возникновении резистентности к флуконазолу у грибов рода *Candida*

Table 1. A crosstalk between transcription factors and membrane transporters in fluconazole resistance emerging in genus *Candida*

Транскрипционные факторы Transcription factors	Гены-мишени Target genes	Целевые белки Target proteins
TAC1 → (ген TAC1 на 5 хромосоме) (<i>TAC1</i> gene is located on chromosome 5)	CDR1 и CDR2 → (3 хромосома) (<i>CDR1</i> and <i>CDR2</i> genes are located on chromosome 3)	Эффлюксные белки АВС Efflux proteins ABC
MRR1 → (ген MRR1 на 3 хромосоме) (<i>MRR1</i> gene is located on chromosome 3)	MDR1 → (6 хромосома) (<i>MDR1</i> gene is located on chromosome 6)	Эффлюксные белки MFS Efflux proteins MFS

Примечание. В таблице указано расположение генов на хромосомах в кариотипе *C. albicans* [20].

Note. Gene location on chromosomes in *C. albicans* karyotype is shown [20].

Таблица 2. Обозначение гена CDR1 у различных представителей рода *Candida*

Table 2. CDR1 gene designated in various genus *Candida* members

Название вида Name of species	Обозначение гена Gene designation
<i>Candida albicans</i>	CaCDR1 [28]
<i>Candida auris</i>	CDR1 [28]
<i>Candida glabrata</i>	CgCDR1 [28]
<i>Candida lusitanae</i>	CiCDR1 [9]
<i>Candida parapsilosis</i>	CpCDR1 [32]

Понятие «медиатор экологического стресса»

Будучи пластичными организмами, приспособляющимися к различным условиям внешней среды, представители рода *Candida* приобрели множество защитных стратегий, позволяющих им выживать в организме хозяина и демонстрировать высокий уровень устойчивости к многим стрессам. Адаптивный ответ у клеток эукариот формируется за счет передачи сигналов через пути митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК) в ядро, где запускаются такие процессы как активация факторов транскрипции, регуляция клеточного цикла и активация киназы [11, 27].

Каждый регулятор транскрипционной активности гена специфически реагирует на уникальные факторы окружающей среды, такие как доступность питательных веществ и кислорода, температура, pH среды и другие.

Зачастую факторы транскрипции выступают в роли медиаторов экологического стресса. Медиатор экологического стресса — это понятие, характеризующее плейотропный транскрипционный фактор как структуру, способную воспринимать влияние одного экологического фактора и трансформировать его в процесс повышения резистентности к лекарственному препарату у микромицетов за счет стимулирования работы мембраносвязанных транспортеров (рис.).

Примеры функционирования МЭС внутри клеток грибов рода *Candida*

У здоровых хозяев первой линией защиты от *C. albicans* является фагоцитоз. Набор антифунгальных механизмов фагоцитарных иммунных клеток включает в себя образование токсичных активных форм кислорода (синтез супероксида (O₂^{•-}) и перекиси водорода), работу катионных потоков, пищевую депривацию, поддержание экстремальных значений pH и высвобождение антимикробных пептидов. Следовательно, су-

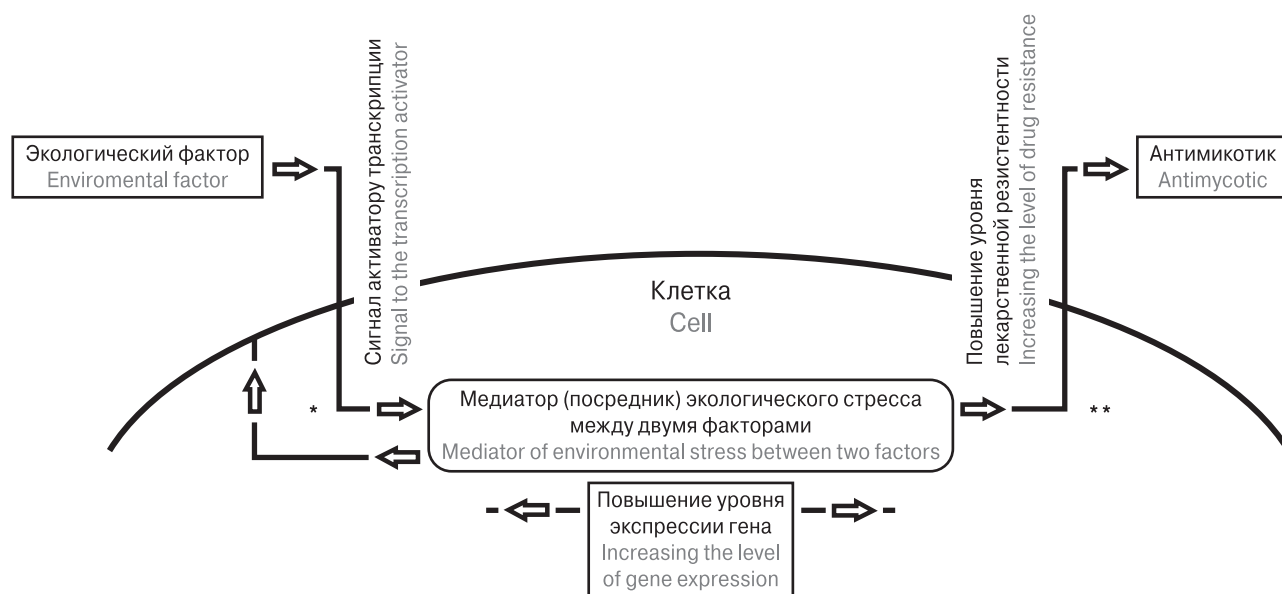


Рисунок. Схематическое изображение механизма формирования адаптивного ответа грибов рода *Candida* с помощью МЭС к антимикотику флуконазолу

Figure. A schematic mechanism for developing adaptive anti-*Candida* response genus involving environmental stress mediator against antimycotic fluconazole

Примечание. * — Формирование адаптивного ответа на действие экологического фактора с использованием МАРК и дальнейшей активации фактора транскрипции; ** — активация фактора транскрипции, приводящая к нарушению накопления лекарств внутри клетки грибов в результате усиления экспрессии мембраносвязанных транспортеров, действующих как насосы для оттока антимикотика.

Note. * — Developing adaptive response against environmental factor involves MAPK pathway followed by transcription factor activation; ** — transcription factor activation affecting subsequent drug accumulation inside fungal cell due to higher expression of membrane-bound transporters acting as pumps for antimycotic efflux.

шествует большой интерес к стратегиям, используемым *C. albicans* для уклонения от уничтожения макрофагами и нейтрофилами.

Следует отметить, что комбинированное воздействие катионного и окислительного стрессов снижает степень адаптивных возможностей вида *C. albicans* к условиям внешней среды и повышает его чувствительность к лекарственным препаратам в результате уменьшения биосинтеза каталазы, что приводит к гипераккумуляции внутриклеточных активных форм кислорода и разрушению клеток патогена. Эффективность уничтожения *C. albicans* нейтрофилами в результате фагоцитоза обусловлена главным образом синергическим эффектом окислительного взрыва и катионного потока, а не воздействием каждого стресса по отдельности [12, 19].

Повышенную резистентность к флуконазолу можно наблюдать у *Candida lusitaniae* при наличии в окружающей среде метилглиоксала, вызывающего окислительный стресс. Данное вещество запускает MRR1-зависимую экспрессию не только MDR1, но и MGD1, MGD2, в которых зашифрована информация о метилглиоксальредуктазах (Mgd1 и Mgd2). В качестве медиаторов экологического стресса в этом случае выступают гены MRR1 и CAP1 (Cyclase-Associated Protein 1). Было задокументировано, что метилглиоксаль вызывает окислительный стресс, как и другие известные индукторы транскрипционной активности MRR1, а именно: беномил, метотрексат, 4-нитрохинолин-N-оксид, о-фенантролин, диэтилмалеат, диамид и комплекс ремоделирования хроматина Swi/Snf. Паралогичные MGRедуктазы стимулируют транскрипционный ответ у видов *C. albicans*, *C. auris*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* и *C. glabrata*.

Можно смело утверждать, что диабет, уремия и сепсис являются факторами риска развития кандидоза, вызванного *C. lusitaniae*, так как при таких состояниях в организме хозяина наблюдается низкое содержание углерода и/или фосфатов. Благодаря данному факту токсичный метаболит метилглиоксаль способен необратимо модифицировать белки, липиды и нуклеиновые кислоты в клетках хозяина. Одним из способов повышения эффективности лечения кандидозной инфекции у пациентов, предрасположенных к повышению уровня метилглиоксала в сыворотке крови, является модулирование процессов жизнедеятельности микромицетов за счет потребления пищевой добавки карнозина, известного поглотителя метилглиоксала [7, 8].

Несмотря на то что транскрипционный фактор MRR1 является центральным регулятором экспрессии MDR1, мутации усиления функции в факторе транскрипции Cap1 могут также опосредовать сверхэкспрессию эффлюксной помпы и лекарственную резистентность к флу-

коназолу. Стоит отметить, что одна из основных ролей Cap1 — это регуляция устойчивости к окислительному стрессу у *C. albicans*. Cap1, активируя биосинтез каталазы, ингибирует негативное воздействие перекиси водорода на клетку. От наличия данного фермента в клетке зависит скорость детоксикации данной молекулы. Поэтому именно Cap1 является медиатором экологического стресса, так как запускает экспрессию MDR1 в ответ на окислительный стресс, вызванный перекисью водорода [19].

Для предотвращения развития кандидоза в ротовой полости организм хозяина вместе со слюной выделяет антимикробный пептид гистатин 5 (Hst 5). Данное белковое соединение обладает фунгицидным действием, так как может влиять на функции митохондрий и вызывать окислительный стресс у микромицетов, а также ингибировать рост клеток *C. albicans* и защищать эпителий полости рта от инвазии; однако конечной причиной гибели клеток грибов является нарушение ионного баланса и осмотический стресс. Выведение данного пептида из цитоплазмы клеток *C. albicans* происходит благодаря работе мембранного транспортера Flu1 (Fluconazole resistance). Гиперактивный цинк-кластерный фактор транскрипции MRR1 приводит к конститутивной активации гены FLU1 и MDR1. Поэтому патогенные штаммы *C. albicans* могут одновременно демонстрировать невосприимчивость к антимикробному пептиду и обладать повышенной устойчивостью к флуконазолу. Изучение MRR1 в качестве медиатора экологического стресса в данном случае осложняется тем, что гистатин 5 вырабатывается только у приматов. Описанный пример подтверждает то, что работу факторов транскрипции могут индуцировать окислительный и осмотический стресс [17, 25, 31].

Анализ литературных данных показал, что у представителей рода *Candida* отсутствуют медиаторы экологического стресса, трансформирующие пищевую депривацию в резистентность к лекарственным препаратам. Поэтому при недостатке железа и/или кальция флуконазол оказывает фунгицидное, а не фунгистатическое действие [18].

Но при этом следует учитывать, что эффективность медикаментозного лечения флуконазолом зависит и от степени поражения организма хозяина возбудителями кандидоза. Это объясняется тем, что потребность в железе у патогенных микромицетов обычно наблюдается на начальной стадии развития инфекции, поэтому экспрессия генов повышена из-за ограниченной доступности данного микроэлемента. Но при обширном повреждении тканей хозяина происходит ингибирование транскрипции из-за легкой усвояемости металла [15].

Остановимся более подробно на роли комбинаторного стресса в регулировании резистентных свойств у представителей рода *Candida*.

Если изолировано оценивать влияние внешних факторов на процессы жизнедеятельности изучаемых микроорганизмов, то их можно классифицировать как позитивные, нейтральные или негативные. Но, как и все живые организмы, микромицеты в своей естественной среде обитания одновременно испытывают на себе различные воздействия, по отношению к которым в ходе эволюции у них могут формироваться адаптивные реакции. Применяя термин «комбинаторный стресс», нужно понимать, что вероятны перекрестные помехи между сигнальными стрессовыми путями, в результате которых одни факторы могут усиливать или ослаблять действие на клетку других факторов. Поэтому одной из долгосрочных целей в терапевтической практике является определение и прогнозирование потенциальных адаптивных реакций, демонстрируемых представителями рода *Candida* при клинически значимом комбинаторном стрессе, вызванном динамическими колебаниями факторов окружающей среды.

Перспективным направлением в борьбе с возбудителями микозов во врачебной практике является применение химиосенсибилизирующих агентов, которые участвуют в формировании комбинированного стресса, оказываемого на представителей рода *Candida*. При этом подавляется функциональная значимость МЭС и повышается химическая чувствительность к азолам у грибов. Применение питавастатина, способного вступать с флуконазолом и вориконазолом в синергические взаимодействия, приводит не только к повышению чувствительности к лекарственным препаратам у *C. albicans*, но и препятствует образованию биопленок у этого вида.

Применение азолов вместе с цис-2-додеценной кислотой также снижает адаптивные возможности грибов и позволяет преодолеть устойчивость к противогрибковым препаратам за счет подавления экспрессии генов *MRR1* и *TAC1* [14, 30].

Учитывая клиническую важность азолов при борьбе с кандидозными инфекциями, поиск и внедрение во врачебную практику химиосенсибилизирующих агентов является одним из перспективных направлений в современной медицине.

Положения, характеризующие работу МЭС

Анализ литературных данных позволил сформулировать следующие положения, характеризующие работу транскрипционных факторов в качестве МЭС:

1. Один транскрипционный фактор может повышать экспрессию нескольких генов.

2. Один ген может активироваться несколькими факторами транскрипции.

3. Доказано, что активацию факторов транскрипции запускают следующие экологические факторы: окислительный и осмотический стресс. Другие экологические факторы или не запускают МЭС или их функциональное значение еще предстоит уточнить.

4. Комбинаторный стресс может блокировать работу МЭС.

Заключение

В настоящее время во многих источниках литературы в качестве одной из основных причин повышения устойчивости к азолам у грибов рода *Candida* рассматривается высокая предрасположенность к мутациям у рассматриваемых в этой работе цинк-кластерных факторов транскрипции. Например, в 2020 г. изучали генотипическое разнообразие *TAC1*, *MRR1* и белков эффлюксной помпы у штаммов *C. tropicalis*. У изолятов *C. auris* клады IV были зарегистрированы две ранее неизвестные мутации в гене *TAC1* [5, 21].

Такой «поверхностный» подход не позволяет взглянуть на проблему устойчивости микроорганизмов к лекарственным препаратам со всех ракурсов и представить активаторы транскрипции в роли посредников (медиаторов экологического стресса) между двумя и более экологическими факторами, оказывающих влияние на патогенный организм. При назначении антифугальной терапии, учитывающей только генетическую информацию, хранящуюся в микромицетах, не формируется полная картина о последствиях лечения человека, пораженного кандидозной инфекцией. В результате эффективность применения зарекомендовавших себя антимикотиков снижается.

Для полного осмысления понятия «медиаторы экологического стресса» нужно понимать, что любая клетка представляет собой открытую систему, в которой происходят различные химические и физические процессы, переплетающиеся между собой. Поэтому когда у определенного штамма формируется резистентность к конкретному медикаментозному препарату нужно учитывать не только его генетически обусловленные антифугальные свойства, но и различные экологические факторы, оказывающие влияние на его жизнедеятельность. Именно эти факторы могут изменять работу генов, контролирующих биосинтез белковых молекул, ответственных за резистентные свойства и развитие кандидозной инфекции внутри организма хозяина.

Было экспериментально доказано, что негативное влияние на рост клеток штаммов *C. albicans* в ротовой полости оказывает синтезированный пептид 0WHistatin 5 (аналог Hst 5),

который содержит в своей последовательности аминокислоту триптофан. Применение данного липосомального препарата в терапевтической практике демонстрирует, как изменение экологического фактора сдерживает развитие кандидозной инфекции [31].

У вида *C. albicans* и некоторых штаммов *Candida dubliniensis*, работу Tac1 также активирует фарнезол — молекула-автоиндуктор, эндогенное накопление которой в матриксе клеточного конгломерата инициирует запуск фазы дисперсии [22]. Поэтому можно предположить, что собственные метаболиты грибов или метаболиты микроорганизмов, с которыми они образуют гетеротипические ассоциации, микробиом и состояние здоровья хозяина будут выступать в качестве триггеров МЭС или, наоборот, угнетать их работу. Следует так же учитывать морфологические особенности клеток грибов, стадии жизненного цикла и/или стадии формирования биопленки, влияющие на процессы жизнедея-

тельности у представителей рода *Candida* и синтезируемые ими вещества в результате многообразных химических реакций [2, 4].

Дальнейшее изучение молекулярных механизмов повышения лекарственной устойчивости у патогенных микроорганизмов с упором на генетический и экологический аспекты позволит осознать эволюционное предназначение МЭС в процессе жизнедеятельности грибов *Candida* species и выявить видоспецифические адаптивные реакции, характерные для представителей этого рода. Можно предположить, что МЭС будут описаны и у других патогенных микроорганизмов, что даст возможность обнаружить параллельные векторы развития инфекционного процесса. Благодаря этим знаниям возникнут предпосылки для модифицирования современных терапевтических схем борьбы с кандидозом, основанные на модуляции метаболических путей в патогенном микроорганизме при введении антимикотиков.

Список литературы/References

1. Воропаев А.Д., Екатеринчев Д.А., Урбан Ю.Н., Зверев В.В., Несвижский Ю.В., Воропаева Е.А., Лиханская Е.И., Афанасьев М.С., Афанасьев, С. С. Экспрессия CDR1, CDR2, MDR1 и ERG11 у устойчивых к азолам штаммов *Candida albicans*, выделенных от ВИЧ-инфицированных пациентов в городе Москве // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 5. С. 929–937. [Voropaev A.D., Ekaterinchev D.A., Urban Yu. N., Zverev V.V., Nesvizhsky Yu. V., Voropaeva E.A., Likhanskaya E.I., Afanasyev M.S., Afanasyev S. S. Expression of CDR1, CDR2, MDR1 and ERG11 in azole-resistant *Candida albicans* strains isolated from HIV-infected patients in Moscow. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 5, pp. 929–937. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-CCM-1931
2. Еноктаева О.В., Николенко М.В., Трушников Д.Ю., Барышникова Н.В., Соловьева С. В. Механизм формирования биопленок грибов рода *Candida* при кандидозной инфекции // Проблемы медицинской микологии. 2021. Т. 23, № 4. С. 3–8. [Enoktaeva O.V., Nikolenko M.V., Trushnikov D.Yu., Baryshnikova N.V., Solovieva S.V. Formation's fungi's biofilms mechanism of the genus *Candida* in candidous infection. *Problemy meditsinskoj mikologii = Problems of Medical Mycology*, 2021, vol. 23, no. 4, pp. 3–8. (In Russ.)] doi: 10.24412/1999-6780-2021-4-3-8
3. Еноктаева О.В., Николенко М.В., Казакова А.В., Показаньева Л.Е., Давыдкина Н. С. Классификация механизмов резистентности грибов рода *Candida* по отношению к флуконазолу (обзор литературы) // Проблемы медицинской микологии. 2022. Т. 24, № 4. С. 4–9. [Enoktaeva O.V., Nikolenko M.V., Kazakova A.V., Pokazan'eva L.E., Davidkina N.C. Classification of resistance mechanisms of *Candida* fungi to fluconazole (literature review). *Problemy meditsinskoj mikologii = Problems of Medical Mycology*, 2022, vol. 24, no. 4, pp. 4–9. (In Russ.)] doi: 10.24412/1999-6780-2022-4-4-9
4. Лисовская С.А., Исаева Г.Ш., Николаева И.В., Гусева С.Е., Гайнатуллина Л.Р., Чумарев Н. С. Частота колонизации ротоглотки и резистентность к азолам грибов *Candida* spp., выделенных у реанимационных пациентов с COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 2. С. 351–358. [Lisovskaya S.A., Isaeva G. Sh., Nikolaeva I.V., Guseva S.E., Gainatullina L.R., Chumarev N. S. Frequency of colonization of the oropharynx and resistance to azoles of *Candida* spp. fungi isolated from intensive care patients patients with COVID-19. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2023, vol. 13, no. 2, pp. 351–358. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-CAA-2059
5. Arastehfar A., Daneshnia F., Hafez A., Khodavaisy S., Najafzadeh M.J., Charsizadeh A., Zarrinfar H., Salehi M., Shahrabadi Z.Z., Sasani E., Zomorodian K., Pan W., Hagen F., Ilkit M., Kostrzewa M., Boekhout T. Antifungal susceptibility, genotyping, resistance mechanism, and clinical profile of *Candida tropicalis* blood isolates. *Medical Mycology*, 2020, vol. 58, no. 6, pp. 766–773. doi: 10.1093/mmy/myz124
6. Bhattacharya S., Sae-Tia S., Fries B. C. Candidiasis and mechanisms of antifungal resistance. *Antibiotics*, 2020, vol. 9, no. 6: 312. doi: 10.3390/antibiotics9060312
7. Biermann A.R., Demers E.G., Hogan D. A. Mrr1 regulation of methylglyoxal catabolism and methylglyoxal-induced fluconazole resistance in *Candida lusitanae*. *Mol. Microbiol.*, 2021, vol. 115, no. 1, pp. 116–130. doi: 10.1111/mmi.14604
8. Biermann A.R., Hogan, D. A. Transcriptional response of *Candida auris* to the Mrr1 inducers methylglyoxal and benomyl. *mSphere*, 2022, vol. 7, no. 3: e00124-22. doi: 10.1128/msphere.00124-22
9. Borgeat V., Brandalise D., Grenouillet F., Sanglard D. Participation of the ABC Transporter CDR1 in Azole Resistance of *Candida lusitanae*. *J. Fungi*, 2021, vol. 7, no. 9: 760. doi: 10.3390/jof7090760
10. Cavalheiro M., Pais P., Galocha M., Teixeira M. C. Host-pathogen interactions mediated by MDR transporters in fungi: as pleiotropic as it gets! *Genes*, 2018, vol. 9, no. 7: 332. doi: 10.3390/genes9070332
11. Correia I., Prieto D., Román E., Wilson D., Hube B., Alonso-Monge R., Pla J. Cooperative Role of MAPK Pathways in the Interaction of *Candida albicans* with the Host Epithelium. *Microorganisms*, 2019, vol. 8, no. 1: 48. doi: 10.3390/microorganisms8010048

12. Da Silva Dantas A., Day A., Ikeh M., Kos I., Achan B., Quinn J. Oxidative stress responses in the human fungal pathogen, *Candida albicans*. *Biomolecules*, 2015, vol. 5, no. 1, pp. 142–165. doi: 10.3390/biom5010142
13. Doorley L.A., Rybak J.M., Berkow E.L., Zhang Q., Morschhäuser J., Rogers P.D. *Candida parapsilosis* Mdr1B and Cdr1B are drivers of Mrr1-mediated clinical fluconazole resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2022, vol. 66, no. 7: e00289-22. doi: 10.1128/aac.00289-22
14. Eldesouky H.E., Salama E.A., Li X., Hazbun T.R., Mayhoub A.S., Seleem M.N. Repurposing approach identifies pitavastatin as a potent azole chemosensitizing agent effective against azole-resistant *Candida* species. *Sci. Rep.*, 2020, vol. 10, no. 1: 7525. doi: 10.1038/s41598-020-64571-7
15. Fourie R., Kuloyo O.O., Mochochoko B.M., Albertyn J., Pohl C.H. Iron at the centre of *Candida albicans* interactions. *Front. Cell Infect. Microbiol.*, 2018, no. 8: 185. doi: 10.3389/fcimb.2018.00185
16. Franconi I., Rizzato C., Poma N., Tavanti A., Lupetti A. *Candida parapsilosis* sensu stricto antifungal resistance mechanisms and associated epidemiology. *J. Fungi (Basel)*, 2023, vol. 9, no. 8: 798. doi: 10.3390/jof9080798
17. Hampe I.A.I., Friedman J., Edgerton M., Morschhäuser J. An acquired mechanism of antifungal drug resistance simultaneously enables *Candida albicans* to escape from intrinsic host defenses. *PLoS Pathog.*, 2017, vol. 13, no. 9: e1006655. doi: 10.1371/journal.ppat.1006655
18. Jia C., Zhang K., Yu Q., Zhang B., Xiao C., Dong Y., Chen Y., Zhang B., Xing L., Li M. Tfp1 is required for ion homeostasis, fluconazole resistance and N-acetylglucosamine utilization in *Candida albicans*. *Biochim. Biophys. Acta*, 2015, vol. 1853, no. 10, Pt A, pp. 2731–2744. doi: 10.1016/j.bbamcr.2015.08.005
19. Kaloriti D., Jacobsen M., Yin Z., Patterson M., Tillmann A., Smith D.A., Cook E., Brown A.J. Mechanisms underlying the exquisite sensitivity of *Candida albicans* to combinatorial cationic and oxidative stress that enhances the potent fungicidal activity of phagocytes. *mBio*, 2014, vol. 5, no. 4: e01334-14. doi: 10.1128/mBio.01334-14
20. Lee Y., Puumala E., Robbins N., Cowen L.E. Antifungal drug resistance: molecular mechanisms in *Candida albicans* and beyond. *Chem. Rev.*, 2020, vol. 121, no. 6, pp. 3390–3411. doi: 10.1021/acs.chemrev.0c00199
21. Li J., Coste A.T., Liechti M., Bachmann D., Sanglard D., Lamoth F. Novel ERG11 and TAC1b mutations associated with azole resistance in *Candida auris*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2023, vol. 65, no. 5: e02663-20. doi: 10.1128/AAC.02663-20
22. Liu Z., Rossi J.M., Myers L.C. *Candida albicans* Zn cluster transcription factors Tacl and Znc1 are activated by farnesol to up-regulate a transcriptional program including the multidrug efflux pump CDR1. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2018, vol. 62, no. 11: e00968-18. doi: 10.1128/AAC.00968-18
23. Pais P., Galocha M., Califórnia R., Viana R., Ola M., Okamoto M., Chibana H., Butler G., Teixeira M.C. Characterization of the *Candida glabrata* transcription factor CgMar1: role in azole susceptibility. *J. Fungi (Basel)*, 2022, vol. 8, no. 1: 61. doi: 10.3390/jof8010061
24. Prasad R., Rawal M.K., Shah A.H. *Candida* efflux ATPases and antiporters in clinical drug resistance. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2016, vol. 892, pp. 351–376. doi: 10.1007/978-3-319-25304-6_15
25. Puri S., Edgerton M. How does it kill?: understanding the candidacidal mechanism of salivary histatin 5. *Eukaryot Cell*, 2014, vol. 13, no. 8, pp. 958–964. doi: 10.1128/EC.00095-14
26. Rodriguez D.L., Quail M.M., Hernday A.D., Nobile C.J. Transcriptional Circuits Regulating Developmental Processes in *Candida albicans*. *Front. Cell Infect. Microbiol.*, 2020, no. 10: 605711. doi: 10.3389/fcimb.2020.605711
27. Román E., Correia I., Prieto D., Alonso R., Pla J. The HOG MAPK pathway in *Candida albicans*: more than an osmosensing pathway. *Int. Microbiol.*, 2020, vol. 23, no. 1, pp. 23–29. doi: 10.1007/s10123-019-00069-1
28. Rybak J.M., Muñoz J.F., Barker K.S., Parker J.E., Esquivel B.D., Berkow E.L., Lockhart S.R., Gade L., Palmer G.E., White T.C., Kelly S.L., Cuomo C.A., Rogers P.D. Mutations in TAC1B: a novel genetic determinant of clinical fluconazole resistance in *Candida auris*. *mBio*, 2020, vol. 11, no. 3: e00365-20. doi: 10.1128/mBio.00365-20
29. Wasi M., Khandelwal N.K., Moorhouse A.J., Nair R., Vishwakarma P., Bravo Ruiz G., Ross Z.K., Lorenz A., Rudramurthy S.M., Chakrabarti A., Lynn A.M., Mondal A.K., Gow N.A.R., Prasad R. ABC transporter genes show upregulated expression in drug-resistant clinical isolates of *Candida auris*: a genome-wide characterization of ATP-binding cassette (ABC) transporter genes. *Front. Microbiol.*, 2019, no. 10: 1445. doi: 10.3389/fmicb.2019.01445
30. Yang D.L., Hu Y.L., Yin Z.X., Zeng G.S., Li D., Zhang Y.Q., Xu Z.H., Guan X.M., Weng L.X., Wang L.H. Cis-2-dodecenoic Acid mediates its synergistic effect with triazoles by interfering with efflux pumps in fluconazole-resistant *Candida albicans*. *Biomed. Environ. Sci.*, 2019, vol. 32, no. 3, pp. 199–209. doi: 10.3967/bes2019.027
31. Zambom C.R., da Fonseca F.H., Crusca E Jr, da Silva P.B., Pavan F.R., Chorilli M., Garrido S.S. A novel antifungal system with potential for prolonged delivery of histatin 5 to limit growth of *Candida albicans*. *Front. Microbiol.*, 2019, no. 10: 1667. doi: 10.3389/fmicb.2019.01667
32. Zoppo M., Poma N., Di Luca M., Bottai D., Tavanti A. Genetic manipulation as a tool to unravel *Candida parapsilosis* species complex virulence and drug resistance: state of the art. *J. Fungi (Basel)*, 2021, vol. 7, no. 6: 459. doi: 10.3390/jof7060459

Автор:

Еноктаева О.В., старший преподаватель кафедры биологии, ассистент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО Тюменский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Тюмень, Россия.

Author:

Enoktaeva O.V., Senior Lecturer, Department of Biology, Assistant Professor, Department of Microbiology, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation.

Поступила в редакцию 13.06.2024
Принята к печати 13.08.2024

Received 13.06.2024
Accepted 13.08.2024

ИММУНОТЕРАПИЯ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ *CANDIDA* spp.: МИФ ИЛИ РЕАЛЬНОСТЬ?

С.Н. Хостелиди¹, Н.Б. Серебряная^{1,2,3}

¹ ФБГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

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

Резюме. Кандидоз — микоз, вызываемый условно-патогенными микромицетами *Candida* spp. Инфекционный процесс может протекать по типу поверхностных форм с поражением кожи и слизистых оболочек, а также инвазивных вариантов. Поскольку *Candida* spp. являются комменсалами, развитие заболевания предполагает дисбаланс между факторами патогенности микромицетов и иммунной системой человека. Исследования в области иммунотерапии микотических инфекций особенно актуальны в свете все возрастающей резистентности микромицетов к антифунгальным препаратам. На основании анализа публикаций, посвященных проблеме иммунотерапии кандидоза с использованием поисковых баз PubMed, ClinicalKey и e-library нами проведен анализ основных направлений и достижений иммунотерапии инфекций, вызванных *Candida* spp., описаны возникающие проблемы и дальнейшие перспективы. Создание живой вакцины на основе аттенуированных, генно-модифицированных и мутантных штаммов *Candida* было начато в 80-е гг. XX века и продолжается до настоящего времени. Однако создание вакцин на основе рекомбинантных белков, адгезинов и ферментов *Candida*, является более безопасной альтернативой живым вакцинам. Многообещающим направлением является и разработка конъюгированных вакцин, в которых слияние более слабых антигенов (гликанов клеточной стенки) с иммуногенными белками в качестве носителей приводит к формированию иммуногенов, способных вызывать стойкий иммунный ответ. В эксперименте изучены также вакцины на основе инактивированных *C. albicans* в сочетании с термолабильным генетически модифицированным токсином, полученным из *Escherichia coli* в качестве адьюванта. Интересен опыт создания комбинированных препаратов, направленные на совместную борьбу с рецидивирующими бактериальными и грибковыми инфекциями мочеполовых путей, например сочетание сублингвальной инактивированной поливалентной бактериальной вакцины MV140 и сублингвального препарата инактивированной *Candida albicans* V132. Интересным представляется подход и с использованием инактивированных дрожжей *S. cerevisiae*, их введение обеспечивает перекрестную защиту от инфекций, вызываемых *C. albicans*, *Aspergillus fumigatus* и *Coccidioides posadasii*. Поиски мишеней для иммунотерапии продолжаются, для чего проводятся многочисленные исследования, направленные на более глубокое понимание механизмов взаимодействия *C. albicans* с макроорганизмом человека. В настоящее время 2 рекомбинантные вакцины (PEV7 и NDV-3) успешно прошли I/II фазы клинических испытаний, что позволяет надеяться на их клиническое использование в недалеком будущем.

Ключевые слова: *Candida* spp., вакцина, инвазивный микоз, иммунотерапия, кандидоз, поверхностный кандидоз, противогрибковая вакцина.

Адрес для переписки:

Хостелиди Софья Николаевна
194291, Россия, Санкт-Петербург, ул. Сантьяго-де-Куба, 1/28,
ФБГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский
университет им. И.И. Мечникова.
Тел.: 8 (812) 303-50-00; 8 951 674-67-91 (моб.).
E-mail: Sofya.Khostelidi@szgmu.ru; sofianic@mail.ru

Contacts:

Sofia N. Khostelidi
194291, Russian Federation, St. Petersburg,
Santiago-de-Cuba str., 1/28, I.I. Mechnikov North-Western
State Medical University.
Phone: +7 (812) 303-50-00; +7 951 674-67-91 (mobile).
E-mail: Sofya.Khostelidi@szgmu.ru; sofianic@mail.ru

Для цитирования:

Хостелиди С.Н., Серебряная Н.Б. Иммунотерапия инфекций, вызванных *Candida* spp.: миф или реальность? // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 27–36. doi: 10.15789/2220-7619-IOC-17696

Citation:

Khostelidi S.N., Serebryanaya N.B. Immunotherapy of *Candida* spp.-caused infections: myth or reality? // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 27–36. doi: 10.15789/2220-7619-IOC-17696

IMMUNOTHERAPY OF CANDIDA spp. - CAUSED INFECTIONS: MYTH OR REALITY?Khostelidi S.N.^a, Serebryanaya N.B.^{a,b,c}^a North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation^b Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation^c St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Candidiasis is a mycosis caused by opportunistic pathogenic *Candida* spp. fungi. The infectious process can manifest as superficial forms affecting the skin and mucous membranes, as well as invasive variants. Since *Candida* spp. are commensals, a related disease development implies an imbalance between the pathogenic fungal factors and human immune system. Research in the field of immunotherapy of fungal infections is particularly relevant due to the increasing resistance to antifungal drugs. Based on the analyzed publications investigating candidiasis immunotherapy retrieved from the databases PubMed, ClinicalKey, and e-library, we have assessed the main directions and achievements in immunotherapy of infections caused by *Candida* spp., described emerging issues, and outlined future prospects. The development of live vaccines based on attenuated, genetically modified, and mutant *Candida* strains began in the 1980s and continues to the present day. However, creating vaccines based on *Candida* recombinant proteins, adhesins, and enzymes represents a safer alternative to live vaccines. A promising direction is the development of conjugate vaccines, in which the fusion of weaker antigens (cell wall glycans) with carrier immunogenic proteins leads to the formation of immunogens capable of eliciting a robust immune response. In experiments, vaccines based on inactivated *C. albicans* along with a genetically *Escherichia coli*-derived modified heat-labile toxin as an adjuvant have also been studied. The experience of creating combination therapies aimed at combating recurrent bacterial and fungal urogenital tract infections is promising, e.g., the combination of sublingual inactivated polyvalent bacterial vaccine MV140 and sublingual preparation of inactivated *Candida albicans* V132. An interesting approach involves the use of inactivated *S. cerevisiae* yeasts, providing cross-protection against infections caused by *C. albicans*, *Aspergillus fumigatus*, and *Coccidioides posadasii*. A search for immunotherapy targets continues, with numerous studies aimed at a deeper understanding of crosstalk between *C. albicans* and human host. Currently, two recombinant vaccines (PEV7 and NDV-3) have successfully completed Phase I/II clinical trials, raising hopes for their clinical use in the near future.

Key words: *Candida* spp., vaccine, invasive mycosis, immunotherapy, candidiasis, superficial candidiasis, antifungal vaccine.

Введение

Микромицеты в последние годы становятся все более актуальными и опасными патогенами, которые могут быть причиной как «истинных», так и оппортунистических инфекций. По оценкам экспертов существует от 2,2 до 3,8 млн видов микромицетов из них около 600 видов были идентифицированы как патогены человека, вызывающие заболевания [1,2]. При этом ежегодно примерно у 6,55 млн пациентов развиваются опасные для жизни грибковые инфекции, которые становятся причиной смерти у 57% из них [3]. По данным международной организации GAFFI (Global Action For Fungal Infection), во всем мире, где ежегодно регистрируется около 55 млн смертей от различных причин, до 6,7% из них приходится на грибковые инфекции, что превосходит смертность от туберкулеза, малярии, гепатита или пневмонии [4].

Согласно ВОЗ, грибы рода *Candida* являются наиболее распространенной причиной микотических инфекций и входят в группу патогенов критического и высокого приоритета [5]. Наиболее частой причиной кандидоза являются штаммы *Candida albicans*. *Candida* spp. являются представителями нормальной микрофлоры организма человека: их можно обнаружить на поверхности кожи и слизистых (дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта и уро-

генитального тракта) у здорового человека. Однако при нарушении целостности барьерных тканей, а также при нарушении работы механизмов иммунной защиты дрожжеподобные грибы *Candida* spp. могут проникать в ткани или формировать псевдомицелий на поверхности слизистых, вызывая заболевание. Клинические варианты инфекций, вызываемые *Candida* spp., варьируют от поверхностного кандидоза кожи и слизистых оболочек (например, кандидозный вульвовагинит и орофарингеальный кандидоз), до опасных для жизни инфекций, таких как кандидемия, кандидозный перитонит, эндокардит или менингит. Летальность при инвазивном кандидозе достигает 63,6% [3].

Основным возбудителем поверхностного и инвазивного кандидоза до настоящего времени является *Candida albicans*, однако в структуре этиологического спектра заболевания в последние годы увеличивается число не-*albicans* видов, таких как *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* и др. [6]. Более того, появление нового вида *Candida auris*, обладающего резистентностью ко многим антимикотикам, стало значимой проблемой в системе здравоохранения [7, 8]. Инвазивные и поверхностные микозы в целом поддаются лечению антифунгальными препаратами. Однако развитие инвазивного кандидоза на фоне сохранения и прогрессирования фоновых иммуно-

супрессивных состояний, утяжеляющих состояния пациентов, невозможность замены инвазивных устройств, связаны с необходимостью использования комбинации дорогостоящих препаратов и повышением токсичности антимикотической терапии. Такие ситуации наглядно демонстрируют необходимость поиска новых подходов к лечению, в частности иммунотерапии. При поверхностных микозах подключение иммунотерапии также целесообразно, поскольку эти формы инфекции связаны с нарушением работы факторов местной защиты.

Цель исследования: проведение анализа опубликованных данных для определения возможности применения иммунотерапии, ее эффективности и безопасности при инфекциях, вызванных *Candida spp.*

Материалы и методы

Проведен анализ публикаций, посвященных проблеме иммунотерапии кандидоза с использованием поисковых баз PubMed (на май 2024 г.), ClinicalKey (на май 2024 г.) и e-library (на май 2024 г.). При поиске информации использовали следующие ключевые слова: *Candida spp.*, вакцина, инвазивный микоз, иммунотерапия, кандидоз, поверхностный кандидоз, противогрибковая вакцина, vaccine, invasive mycosis, immunotherapy, candidiasis.

Candida spp. и механизмы иммунного ответа

На протяжении всей истории человечества грибы рода *Candida* эволюционировали вместе с человеком. Они приобрели способность колонизировать кожу и слизистые оболочки, не вызывая заболевания. Однако для здоровья людей с ослабленным иммунитетом эта колонизация представляет серьезный риск [9].

Иммунная система человека реагирует на *Candida spp.* посредством механизмов врожденного и адаптивного иммунного ответа [10]. Механизмы врожденного иммунного ответа подразумевают физические и химические барьеры эпителия кожи и слизистых оболочек полости рта, верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта и урогенитального тракта [11]. При грибковой инфекции патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMP) *C. albicans* распознаются паттерн-распознающими рецепторами (PRR), такими как лектиновые и Toll-подобные рецепторы (TLR), которые запускают продукцию медиаторов воспаления, привлекая и активируя фагоцитирующие клетки. Элементы грибов *Candida spp.* захватываются и подвергаются фагоцитозу ре-

зидентными макрофагами, дендритными клетками (ДК) и полиморфноядерными нейтрофилами. При контакте с *Candida spp.* макрофаги и нейтрофилы высвобождают антимикробные пептиды, воспалительные цитокины и хемокины. Сразу после возникновения инфекции макрофаги могут фагоцитировать и разрушать дрожжевые клетки, снижая грибковую нагрузку, а далее, на ранних стадиях инфекции, моноциты более эффективны, чем макрофаги или дендритные клетки [12]. Основную роль в уничтожении микромицетов играют нейтрофилы: они могут образовывать нейтрофильные внеклеточные ловушки (NET), которые захватывают *C. albicans* [13]. Кроме того, нейтрофилы предотвращают переход бластоспор *C. albicans* в гифы [14, 15]. Показано, что нейтропения является значимым фактором риска инвазивных грибковых инфекций. Другими клетками врожденного иммунитета, участвующими в иммунном ответе, являются натуральные киллеры, которые разрушают клеточную стенку грибов и вызывают их гибель, секретируя цитотоксические молекулы (перфорины и гранзимы) [16]. Также эффективным механизмом иммунной защиты является система комплемента. При активации комплемента создаются опсонины, стимулирующие фагоцитоз, и анафилатоксины (C3a, C4a и C5a), ответственные за хемотракцию и активацию иммунных клеток [17]. Таким образом, механизмы врожденного иммунного ответа играют основную роль в иницировании защиты от грибковых инфекций [18]. Контроль над нейтрофилами и моноцитами осуществляют лимфоциты адаптивного иммунитета, тут важная роль принадлежит их субпопуляциям Th17, Th1 и Treg [19]. Th1 активируют цитотоксическую активность моноцитов/макрофагов и CD8⁺ лимфоцитов, секретируя цитокины (в основном, IFN γ и TNF α). Также они способствуют синтезу высокоаффинных IgG-антител В-лимфоцитами. Такие антитела нейтрализуют белки микромицетов, блокируют закрепление грибов на клетках макроорганизма, препятствуют образованию биопленок, ингибируют образование ростовых трубок, тем самым ограничивая грибковую нагрузку (рис., II обложка) [20].

Когда равновесие между иммунным ответом хозяина и микромицетами нарушается (например, в условиях химиотерапии и иммунотерапии онкологических заболеваний, трансплантации органов, при использовании глюкокортикостероидов и других иммуносупрессоров) создаются условия для активации механизмов агрессии микромицетов, что, в зависимости от механизмов иммуносупрессии, ее степени и продолжительности, приводит к развитию поверхностного или инвазивного кандидоза [21, 22].

При нарушении механизмов, сдерживающих инфекцию, активируются факторы патогенности микромицетов, усиливается их способность к адгезии и инвазии в ткани. Адгезия дрожжевых клеток к поверхности эпителия происходит с помощью белков Als1–7, Als9, hwp1 [23], Eap1 [24] и Pga1 [25]. Семейство генов Als кодирует восемь белков клеточной стенки (Als1–7 и Als9). Als3 представляет собой поверхностный белок, обнаруженный в гифах *C. albicans*, который опосредует прикрепление дрожжевых клеток к эндотелиальным и эпителиальным клеткам, а также к белкам внеклеточного матрикса [27]. Als3 играет ключевую роль не только при эндоцитозе, но и в активном проникновении в ткани [28], и считается многообещающей мишенью для иммунотерапии [27]. Распространенные условно-патогенные штаммы дрожжей также экспрессируют гены, кодирующие транспортеры, липазы и олигопептиды [26]. В отличие от них, высокопатогенные штаммы активнее экспрессируют гены, связанные с ростом грибов, образованием мицелия и биопленки. Продукты этих генов также рассматриваются как потенциальные мишени для иммунотерапии кандидоза.

Экспериментальные препараты для иммунотерапии

Основная цель иммунотерапии — повышение способности сопротивляться инфекциям [29]. Стратегией иммунотерапии может быть введение колониестимулирующих факторов с целью увеличения популяции нейтрофилов или лимфоцитов. Также ведется поиск путей стимуляции антигенспецифического иммунного ответа с помощью вакцин. Однако разработка вакцин к микроорганизмам-комменсалам является нетрадиционной задачей, и успех на этом пути не гарантирован. Поэтому значительный интерес вызывает возможность антигеннеспецифической активации клеток врожденного иммунитета (нейтрофилов, моноцитов) механизмами тренирующего иммунитета (trained immunity), поскольку снижение функциональной активности этих клеток является решающим фактором при развитии микозов. Значительные ожидания связывают и с применением моноклональных антител, способных блокировать антигенные детерминанты молекул, которые входят в состав клеточной стенки грибов, что приводит к нарушению функции клеток.

Первые попытки создать иммунопрепараты против кандидоза, были связаны с разработкой вакцин. Исторически живые аттенуированные вакцины были ориентированы на вирусы, первые попытки создания такой вакцины в отношении дрожжеподобных микромицетов были

предприняты в 1986 г. [30, 31, 32]. Живая аттенуированная вакцина формируется на основе ослабленного патогена, который не вызывает заболевания у здорового человека, но достаточно иммуногенен для того, чтобы вызвать стойкий иммунный ответ. Впервые Bistoni F. и соавт. заявили о создании такой вакцины на основе модифицированного штамма *C. albicans* PCA-2, устойчивого к каспофунгину. При введении этой вакцины мышам наблюдали увеличение числа полиморфноядерных лейкоцитов с высокой противогрибковой активностью в периферической крови. Из этого был сделан вывод, что вакцинация на основе PCA-2 должна обеспечить защиту при контакте с патогеном [33]. Однако дальнейшие исследования этого не подтвердили.

К созданию живой аттенуированной вакцины вновь обратились специалисты уже в XXI веке. Для этого Фернандес-Аренас Е. и соавт. вводили мышам низковирулентные штаммы *C. albicans* CM1613 и CNC13, а также морфологически дефектный мутант 92' [34]. В цитируемом эксперименте примерно в 60–70% случаев выживали вакцинированные мыши, которым вводили препарат, содержащий штамм *C. albicans* CNC13 в летальной дозе (модель кандидемии), что сопоставимо с выживаемостью при использовании антимикотических препаратов. Это исследование показало, что при иммунизации CNC13 индуцировались как клеточный, так и гуморальный ответ на инфекцию, и была определена четкая разница в структуре антител в сыворотках животных, вакцинированных мутантом CNC13, и невакцинированных.

Другой экспериментальный подход к созданию живой аттенуированной вакцины был основан на использовании генетически модифицированных вакцинных штаммов *C. albicans*. Saville S. и соавт. в 2009 г. создали штамм tet-NRG1 *C. albicans*, в котором репрессор филаментации гриба NRG1 может сверхэкспрессироваться в присутствии доксициклина, а при отсутствии доксициклина в питательной среде в процессе культивирования экспрессия NRG1 снижалась. Было показано, что введение препаратов на основе данного штамма повышает выживаемость мышей при инфицировании летальной дозой *C. albicans* [35]. Аналогичным образом, были созданы различные аттенуированные штаммы *C. albicans* (например, RML2U) способные активировать иммунный ответ в модели инвазивного кандидоза [36].

Поиски в этом направлении продолжаются. Так Shen H. и соавт. (2020) обнаружили, что мутантный штамм *C. albicans* GPI7, является авирулентным и содержит в своей структуре «обнаженный» β -(1,3)-глюкан клеточной стенки, что

способствует активации синтеза антител. В эксперименте аттенуированный штамм *C. albicans* GPI7 эффективно защищал мышей от диссеминированного инвазивного кандидоза [37].

Для повышения безопасности биопрепаратов у людей с ослабленным иммунитетом была исследована возможность переноса разрозненных антигенов *Candida* на непатогенных грибах *Saccharomyces cerevisiae* в качестве вектора. Безопасность и активность *Saccharomyces cerevisiae*, подтверждается тем, что их используют в качестве адъюванта при изготовлении вакцин против таких патогенов, как вирус лихорадки Денге, SARS-CoV-2, H5N1, *Helicobacter pylori*, *Toxoplasma gondii* и т. д. Доклинические данные показали, что в ответ на вакцины на основе *S. cerevisiae* активируются ДК и CD4⁺ Т-клетки, а также происходит перекрестное праймирование CD8⁺ Т-клеток. Однако сохраняются проблемы с клиническим применением этих разработок, так как пока вакцины недостаточно стабильны и специфичны, а также не изучена безопасность их применения у лиц с ослабленным иммунитетом [38]. Ключевые факторы, препятствующие клиническому успеху перечисленных экспериментальных препаратов, связаны с тем, что в некоторых исследованиях не наблюдали значимых преимуществ по сравнению с плацебо. Кроме того, показаны случаи реверсии авирулентных аттенуированных штаммов в вирулентные, а также имеется опасение, что активированный иммунный ответ может бесконтрольно развиваться и приводить к чрезмерным реакциям у иммунокомпрометированных больных [39].

Сложности создания традиционных «живых» вакцин против *Candida* spp. привели к активному внедрению генно-инженерных методов, включая перенос генов, кодирующих иммуногенные антигены, которые теперь рассматриваются как приоритетное направление возможной иммунотерапии.

Создание вакцин на основе рекомбинантных белков является гораздо более безопасной альтернативой живым вакцинам из-за отсутствия инфекционных агентов в их составе [40]. Учитывая обширное антигенное и генетическое разнообразие *C. albicans*, наиболее эффективный подход к разработке иммунотерапии может включать одновременное воздействие на несколько несвязанных антигенов. Действительно, в эксперименте вакцины, содержащие рекомбинантные белки Als1p и Als3p, отдельно или в сочетании с различными адъювантами, продемонстрировали значительный иммуногенный потенциал. Так Ibrahim A.S и соавт. показали, что введение мышам рекомбинантных N-Als1 (rAls1p-N) предотвращало развитие тяжелого инвазивного кандидоза с ле-

тальным исходом у 50–57% животных [41]. В другом эксперименте в ходе доклинических испытаний препарата NDV-3A на основе rAls3p-N также был показан положительный эффект. NDV-3 состоит из рекомбинантного белка Als3p с алюминиевыми квасцами в качестве адъюванта. Применения препарата приводило к ингибированию адгезии микромицетов к эпителиальным/эндотелиальным клеткам. Препарат NDV-3 продемонстрировал значительную иммуногенность, вызывая эффективный ответ В- и Т-клеток на мышинной модели, тем самым успешно предотвращая как поверхностный, так и инвазивный кандидоз у мышей [42]. Кроме того, были проведены клинические исследования фазы I, включавшие контрольную группу и 40 здоровых взрослых людей, получивших одну дозу NDV-3, содержащую 30 или 300 мкг белка Als3p. В ходе I фазы клинических испытаний было обнаружено, что вакцина NDV-3 безопасна и эффективна. Основной эффект связали с активацией пролиферации специфических Т-клеток, которые продуцируют цитокины IFN γ и IL-17A, а также повышают уровни общего IgG и IgA1 против Als3p [43]. В ходе дальнейших исследований было показано, что препарат работает и в биопленках, препятствуя адгезии дрожжеподобных грибов [42].

Другой важной группой белков-иммуногенов *C. albicans*, являются секретируемые аспартилпротеазы (SAP). Введение рекомбинантного Sap2 интравагинально или интраназально, самостоятельно или с холерным анатоксином в качестве адъюванта, приводило к устранению кандидозного вульвовагинита у экспериментальных животных [44, 45, 46]. De Bernardis и соавт. (2002) разработали модифицированную версию аспартилпротеиназы-2 *Candida albicans*, заключенную в виросомы на основе вируса гриппа (PEV-7). Препарат вызывал образование антител у мышей и крыс после внутримышечного введения. Также были обнаружены антитела во влагалищной жидкости, как при интравагинальном, так и при внутримышечном введении препарата мышам и крысам. На крысиной модели кандидозного вагинита при интравагинальном введении PEV7 продемонстрировали существенную и длительную защиту, вероятно опосредованную в основном антителами. Введение повторных доз крысам подтвердило безопасность PEV7 [45].

Как потенциальные мишени для иммунотерапии также были исследованы малатдегидрогеназа *C. albicans* (Mdh1p) [46], белок теплового шока Hsp90p и белок клеточной стенки Hsp90p [47]. На основе рекомбинантного антитела человека к белку теплового шока 90 (rP-HSP90C) был разработан препарат Микограб. В эксперименте обнаружено, что Микограб в сочета-

нии с амфотерицином В обеспечивает защиту от инфекций, обусловленных *C. albicans*, *C. krusei* и *C. glabrata* [47, 48]. Однако не было доказано преимуществ его использования по сравнению с антимикотиками в качестве монотерапии.

Аналогично, белок клеточной стенки гHyr1-N при подкожном введении с адьювантом Фрейнда, либо с гидроксидом алюминия продемонстрировал клинически значимую эффективность против *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* и *C. tropicalis* у иммунокомпетентных мышей в экспериментальной модели кандидемии [49]. В настоящее время эта группа препаратов представляет значительный клинический интерес.

Конъюгированные иммунопрепараты

Многообещающим направлением является разработка конъюгированных вакцин, в которых слияние более слабых антигенов (обычно полисахаридов клеточной стенки) с иммуногенными белками в качестве носителей приводит к формированию иммуногенов, способных вызывать стойкий иммунный ответ. Конъюгация маннозосодержащих углеводов клеточной стенки микромицетов (в том числе *C. albicans*) с антигенными пептидами усиливает презентацию антигена, создавая эффективные синтетические гликопептидные молекулы. Такие конъюгаты позволяют полисахаридам стимулировать В-клетки, способствуя Т-независимым иммунным реакциям, а также создают условия для представления Т-клеткам полисахаридных антигенов, связанных с пептидами [50]. Несколько видов *Candida* экспрессируют гликановую структуру β -(Man)₃, которая может использоваться в сочетании с различными носителями и адьювантами [50]. В эксперименте Xin H. и соавт. (2019) использовали вакцину на основе пептидных молекул, обладающих структурной гомологией с эпитопом гликана β -(Man)₃. Чтобы усилить иммунный ответ и повысить эффективность препарата, антиген соединили со столбнячным анатоксином (ТТ) с образованием конъюгата (Man)₃-Fba-ТТ. В результате вакцинации вовлекались иммунологические механизмы, аналогичные защитному действию при внедрении микромицетов в ткани, — активация нейтрофилов, активация системы комплемента и синтез антител изотипа IgG3, что указывает на формирование механизмов иммунологической памяти [51].

В целом, конъюгированные вакцины могут быть средствами борьбы с грибковыми инфекциями. Стратегия нацеливания на общие эпитопы дает надежду на создание пангрибковых вакцин, которые принесут пользу различным группам пациентов.

Иммунопрепараты на основе инактивированных *C. albicans*

Иммунопрепараты на основе инактивированных *C. albicans* также были изучены в эксперименте. Введение инактивированных нагреванием штаммов *C. albicans* в сочетании с термолабильным генетически модифицированным токсином, полученным из *Escherichia coli* (R192G) в качестве адьюванта, показала стимуляцию иммунного ответа на животных моделях, но не обеспечила достаточную защиту [52]. Аналогичные исследования были проведены с использованием *S. cerevisiae* [53].

Продолжаются попытки создать комбинированные препараты, направленные на борьбу с рецидивирующими как бактериальными, так и грибковыми инфекциями мочеполовых путей. Так, было опробовано сочетание сублингвальной инактивированной поливалентной бактериальной вакцины MV140 (Uromune, созданной на основе бактерий, вызывающих большинство инфекций мочеполовых путей у европейских пациентов: 75% грамотрицательных бактерий (25% *Escherichia coli*, 25% *Proteus vulgaris* и 25% *Klebsiella pneumoniae*) и 25% грамположительных бактерий (*Enterococcus faecalis*) и сублингвального препарата инактивированной *Candida albicans* V132 в равной пропорции [54]. Пилотное исследование показало, что сублингвальное введение V132 в значительной степени предотвращает рецидивы кандидоза, обеспечивая дополнительную защиту от инфекций мочеполовых путей при 50% концентрации в сочетании с MV140 в составе комплексной вакцины. Также результаты показали, что мыши, иммунизированные данным комплексом, продемонстрировали усиленную продукцию IgG и IgA против *C. albicans*, по сравнению с мышами, иммунизированные только V132, что позволило предположить, что MV140 может усилить способность V132 вызывать гуморальные реакции. Исследование иммуногенных свойств комбинации вакцин MV140/V132 показало эффективную стимуляцию ДК, индукцию Т-клеток, продуцирующих IFN γ и IL-17A, а также регуляторных FOXP3⁺ Treg-клеток. Показано также, что комбинация вакцин MV140/V132 запускает эпигенетическое перепрограммирование ДК человека, способствуя индукции тренированного иммунитета. Однако то, как комбинация V132 и MV140 может регулировать функцию мукосальных ДК и стимулировать их способность инициировать адаптивные иммунные реакции на молекулярном уровне, все еще недостаточно изучено. Сложность достижения комплексной защиты связана с трудностью определения оптимальных концентраций вакцинных антигенов, а также баланса между их иммуногенно-

стью и токсичностью. Для внедрения в клиническую практику такого вакцинного комплекса необходимы дальнейшие доклинические и клинические исследования, направленные на изучение задействованных механизмов.

Интересным представляется и подход с использованием дрожжей *S. cerevisiae* в инактивированной форме, так как было показано, что их подкожное введение обеспечивает перекрестную защиту от инфекций, вызываемых *C. albicans*, *A. fumigatus* и *Coccidioides posadasii*. В частности, вакцинация убитыми нагреванием дрожжевыми клетками по 3-, 4- или 6-дневному графику обеспечивала защиту от заражения *Candida* посредством образования антител, направленных против гликанов, общих для клеточной стенки *Saccharomyces* и *Candida*, в дополнение к активации клеточных ответов через Th1 и Th17. Эффективность введения *S. cerevisiae* в данном случае основана на наличии сходных полисахаридов (бета-1, 3-D-глюкан и маннан) [53].

Другие возможности иммунотерапии кандидоза

Продолжающийся поиск антигенов для стимуляции иммунного ответа посредством протеомного анализа открывает перспективы дальнейшего поиска препаратов для лечения кандидоза [55]. Значительные успехи были достигнуты при изучении антигена Eno1p *C. albicans*. Введение белка Eno1p мышам приводило к повышению уровня антител против Eno1p, которые защищали от инфекции *C. albicans* до 60% мышей [56]. В качестве адъювантов при иммунизации использовали наночастицы серебра и золота. Заметным результатом вакцинации было повышение системных уровней IFN γ , что указывает на полезную активацию фагоцитов для элиминации клеток дрожжей при отсутствии каких-либо аллергических реакций [55]. Таким образом, использование антигенов *C. albicans* с наночастицами серебра и золота является возможным методом повышения противогрибкового иммунитета.

Грибы обладают уникальной способностью проявлять морфологическую и фенотипическую пластичность [57]. *C. albicans* способны обратимо преобразовываться из дрожжевой в псевдомицелиальную и мицелиальную формы. Одноклеточные дрожжи *C. albicans* обычно считаются безвредными колонизаторами. Однако их трансформация в мицелиальную форму связана с усилением адгезии и появлением инвазивности, усиливающих их патогенность. Другие белки, специфичные для гифа, или ассоциированные с ними, такие как Hwp1, Hwp2, Plb5 и Sod5, также были предложены

в качестве потенциальных мишеней для иммунотерапии [58], поскольку при этом минимизируется воздействие на нормальные формы комменсальных дрожжей и нормальную микробиоту [59, 60]. Представляется, что мультивалентные препараты, способные формировать иммунные реакции против различных штаммов или серотипов одного и того же патогена, могут обеспечить более комплексную и адаптируемую стратегию распознавания и блокирования антигенов и факторов вирулентности, распространенных в разных органах и в разное время [59].

Заключение

Клинические исследования в области иммунотерапии микотических инфекций необходимы в свете все возрастающей резистентности микромицетов к антифунгальным препаратам. Понимание патогенетических механизмов кандидоза, устойчивости микромицетов к противогрибковым лекарственным средствам помогает обнаружить дополнительные мишени для иммунотерапии грибковых заболеваний. Хотя исследования в этой области ведутся уже около 50 лет, тем не менее на сегодняшний день их результаты не внедрены в клиническую практику.

Разработка вакцин, способных бороться с широким спектром заболеваний, вызванных *Candida* spp., является сложной задачей из-за множества локализаций инфекции, фоновых иммунодефицитных состояний у пациентов в группах высокого риска. В настоящее время только 2 рекомбинантных препарата — PEV7 и NDV-3 — достигли I/II фазы клинических испытаний.

NDV-3A — первый препарат, доказавший эффективность в доклинических испытаниях. Во время исследования фазы I NDV-3A у вакцинированных выявили повышенные титры специфических антител и усиление продукции цитокинов, в клиническом исследовании в фазе Ib/2a NDV-3A при рецидивирующем кандидозном вульвовагините. У пролеченных пациенток (женщин в возрасте до 40 лет) наблюдали снижение числа эпизодов кандидозного вульвовагинита в течение 12 месяцев после вакцинации [43]. Однако в некоторых случаях терапевтические дозы усугубляли заболевание из-за чрезмерно выраженной воспалительной реакции.

Поиски мишеней для иммунотерапии продолжаются, для чего проводятся многочисленные исследования, направленные на более глубокое понимание механизмов взаимодействия *C. albicans* с макроорганизмом «хозяина». На этапе доклинических исследований необходимо тщательное изучение препаратов

на различных животных моделях, обладающих различными особенностями иммунного статуса. На следующих этапах клинических испытаний требуется отработать режимы дозирования с учетом профиля безопасности, фармакокинетики и терапевтического эффекта.

Необходимость соответствия всем этим критериям в совокупности определяет сложность создания иммунологических препаратов для лечения инфекций, вызванных *Candida spp.*, однако принципиальная возможность их создания представляется весьма вероятной.

Список литературы/References

1. Данилова Е.Ю., Шабашова Н.В., Фролова Е.В., Учеваткина А.Е., Филиппова Л.В. Иммунопатогенез орофарингеального кандидоза у больных гемобластомами // Проблемы медицинской микологии. 2021. Т. 23, № 3. С. 38–45. [Danilova E.Yu., Shabashova N.V., Frolova E.V., Uchevatkina A.E., Filippova L.V. Immunopathogenesis of oropharyngeal candidiasis in patients with hemoblastosis. *Problemy meditsinskoj mikologii = Problems of Medical Mycology*, 2021, vol. 23, no. 3, pp. 38–45. (In Russ.)]
2. Козлова О.П., Шаталова М.В., Сандгартен Л.М., Шадривова О.В., Шагдилеева Е.В., Хостелиди С.Н., Гусев Д.А., Завражнов А.А., Сатурнов А.В., Рысев А.В., Вашукова М.А., Пичугина Г.А., Митичкин М.С., Богомолова Т.С., Гордеева С.А., Оганесян Э.Г., Борзова Ю.В., Васильева Н.В., Клишко Н.Н. *Candida auris*-ассоциированные инфекции у больных COVID-19 // Проблемы медицинской микологии. 2023. Т. 25, № 2. С. 32–38. [Kozlova O.P., Shatalova M.V., Sandgarten L.M., Shadrivova O.V., Shagdileeva E.V., Khostelidi S.N., Gusev D.A., Zavrzhnov A.A., Saturnov A.V., Rysev A.V., Vashukova M.A., Pichugina G.A.A., Mitichkin M.S., Bogomolova T.S., Gordeeva S.A., Oganesyana E.G., Borzova Yu.V., Vasilyeva N.V., Klimko N.N. *Candida auris*-associated infections in patients with COVID-19. *Problemy meditsinskoj mikologii = Problems of Medical Mycology*, 2023, vol. 25, no. 2, pp. 32–38. (In Russ.)] doi: 10.24412/1999-6780-2023-2-32-38
3. Abdelnaby M.A., Shoueir K.R., Ghazy A.A., Abdelhamid S.M., El Kemary M.A., Mahmoud H.E., Baraka K., Abozahra R.R. Synthesis and evaluation of metallic nanoparticles-based vaccines against *Candida albicans* infections. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, 2022, vol. 68: 102862.
4. Akhtar N., Magdaleno J.S.L., Ranjan S., Wani A.K., Grewal R.K., Oliva R., Shaikh A.R., Cavallo L., Chawla M. Secreted aspartyl proteinases targeted multi-epitope vaccine design for *Candida dubliniensis* using immunoinformatics. *Vaccines*, 2023, vol. 11: 364.
5. Allert S., Schulz D., Kämmer P., Großmann P., Wolf T., Schäuble S., Panagiotou G., Brunke S., Hube B. From environmental adaptation to host survival: attributes that mediate pathogenicity of *Candida auris*. *Virulence*, 2022, vol. 13, no. 1, pp. 191–214. doi:10.1080/21505594.2022.2026037
6. Alqarihi A., Singh S., Edwards J.E. Jr., Ibrahim A.S., Uppuluri P. NDV-3A vaccination prevents *C. albicans* colonization of jugular vein catheters in mice. *Sci. Rep.*, 2019, vol. 9: 6194.
7. Bistoni F., Vecchiarelli A., Cenci E., Puccetti P., Marconi P., Cassone A. Evidence for macrophage-mediated protection against lethal *Candida albicans* infection. *Infect. Immun.*, 1986, vol. 51, pp. 668–674.
8. Butler G., Rasmussen M.D., Lin M.F., Santos M.A., Sakthikumar S., Munro C.A., Rheinbay E., Grabherr M., Forche A., Reedy J.L., Agrafioti I., Arnaud M.B., Bates S., Brown A.J., Brunke S., Costanzo M.C., Fitzpatrick D.A., de Groot P.W., Harris D., Hoyer L.L., Hube B., Klis F.M., Kodira C., Lennard N., Logue M.E., Martin R., Neiman A.M., Nikolaou E., Quail M.A., Quinn J., Santos M.C., Schmitzberger F.F., Sherlock G., Shah P., Silverstein K.A., Skrzypek M.S., Soll D., Staggs R., Stansfield I., Stumpf M.P., Sudbery P.E., Srikantha T., Zeng Q., Berman J., Berriman M., Heitman J., Gow N.A., Lorenz M.C., Birren B.W., Kellis M., Cuomo C.A. Evolution of pathogenicity and sexual reproduction in eight *Candida* genomes. *Nature*, 2009, vol. 459, no. 7247, pp. 657–662. doi: 10.1038/nature08064
9. Cardenas-Freytag L., Cheng E., Mayeux P., Domer J.E., Clements J.D. Effectiveness of a vaccine composed of heat-killed *Candida albicans* and a novel mucosal adjuvant, LT(R192G), against systemic candidiasis. *Infect. Immun.*, 1999, vol. 67, pp. 826–833.
10. Cassone A., Cauda R. *Candida* and candidiasis in HIV-infected patients: where commensalism, opportunistic behavior and frank pathogenicity lose their borders. *AIDS*, 2011, vol. 26, no. 12, pp. 1457–1472. doi: 10.1097/QAD.0b013e3283536ba8
11. Cutler J.E., Deepe G.S. Jr., Klein B.S. Advances in combating fungal diseases: vaccines on the threshold. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2007, vol. 5, pp. 13–28.
12. De Bernardis F., Boccanera M., Adriani D., Girolamo A., Cassone A. Intravaginal and intranasal immunizations are equally effective in inducing vaginal antibodies and conferring protection against vaginal candidiasis. *Infect. Immun.*, 2002, vol. 70, pp. 2725–2729.
13. Denning D.W. Global incidence and mortality of severe fungal disease — author’s reply. *Lancet Infect. Dis.*, 2024, vol. 24, no. 5: e269. doi: 10.1016/S1473-3099(24)00103-8
14. Feng Z., Lu H., Jiang Y. Promising immunotherapeutic targets for treating candidiasis. *Front. Cell Infect. Microbiol.*, 2024, vol. 14: 1339501. doi: 10.3389/fcimb.2024.1339501
15. Fernández-Arenas E., Molero G., Nombela C., Diez-Orejas R., Gil C. Low virulent strains of *Candida albicans*: unravelling the antigens for a future vaccine. *Proteomics*, 2004, vol. 4, pp. 3007–3020.
16. Fungal Disease Frequency. Gaffi — Global Action For Fungal Infections. URL: <https://gaffi.org/why/fungal-disease-frequency>
17. Harpf V., Rambach G., Würzner R., Lass-Flörl C., Speth C. *Candida* and complement: new aspects in an old battle. *Front. Immunol.*, 2014, vol. 11: 1471. doi: 10.3389/fimmu.2020.01471
18. Hashash R., Younes S., Bahnan W., El Koussa J., Maalouf K., Dimassi H.I., Khalaf R.A. Characterisation of Pga1, a putative *Candida albicans* cell wall protein necessary for proper adhesion and biofilm formation. *Mycoses*, 2011, vol. 54, no. 6, pp. 491–500. doi: 10.1111/j.1439-0507.2010.01883.x
19. Hawksworth D.L., Lücking R. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiol Spectr.*, 2017, vol. 5, no. 4. doi: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016

20. Hoyer L.L., Cota E. Candida albicans agglutinin-like sequence (Als) family vignettes: a review of als protein structure and function. *Front. Microbiol.*, 2016, vol. 7: 280. doi: 10.3389/fmicb.2016.00280
21. Ibrahim A.S., Spellberg B.J., Avanesian V., Fu Y., Edwards J.E. Jr. The anti-candida vaccine based on the recombinant n-terminal domain of Als1p is broadly active against disseminated candidiasis. *Infect. Immun.*, 2006, vol. 74, pp. 3039–3304.
22. Kozlova O., Burygina E., Khostelidi S., Shadrivova O., Saturnov A., Gusev D., Rysev A., Zavrazhnov A., Vashukova M., Pichugina G., Mitichkin M., Kovyrshin S., Bogomolova T., Borzova Y., Oganessian E., Vasilyeva N., Klimko N. Working group. Invasive candidiasis in adult patients with COVID-19: results of a multicenter study in St. Petersburg, Russia. *J. Fungi (Basel)*, 2023, vol. 9, no. 9: 927. doi: 10.3390/jof9090927
23. Lancaster K.Z., Pfeiffer J.K. Mechanisms controlling virulence thresholds of mixed viral populations. *J. Virol.*, 2011, vol. 85, pp. 9778–9788.
24. Leibovitch E.C., Jacobson S. Vaccinations for neuroinfectious disease: a global health priority. *Neurotherapeutics*, 2016, vol. 13, pp. 562–570.
25. Li F., Svarovsky M.J., Karlsson A.J., Wagner J.P., Marchillo K., Oshel P., Andes D., Palecek S.P. Eap1p, an adhesin that mediates Candida albicans biofilm formation in vitro and in vivo. *Eukaryot. Cell*, 2017, vol. 6, pp. 931–939. doi: 10.1128/EC.00049-07
26. Lionakis M.S. New insights into innate immune control of systemic candidiasis. *Med. Mycol.*, 2014, vol. 52, no. 6, pp. 555–564. doi: 10.1093/mmy/myu029
27. Lionakis M.S., Netea M.G. Candida and host determinants of susceptibility to invasive candidiasis. *PLoS Pathog.*, 2013, vol. 9, no. 1: e1003079. doi: 10.1371/journal.ppat.1003079
28. Lu H., Hong T., Jiang Y., Whiteway M., Zhang S. Candidiasis: from cutaneous to systemic, new perspectives of potential targets and therapeutic strategies. *Adv. Drug Delivery Rev.*, 2023, vol. 199, pp. 1149–1160. doi: 10.1016/j.addr.2023.114960
29. Luo G., Ibrahim A.S., French S.W., Edwards J.E. Jr., Fu Y. Active and passive immunization with rHy1p-N protects mice against hematogenously disseminated candidiasis. *PLoS One*, 2011, vol. 6: e25909.
30. Martin-Cruz L., Sevilla-Ortega C., Benito-Villalvilla C., Diez-Rivero C.M., Sanchez-Ramón S., Subiza J.L., Palomares O. A combination of polybacterial MV140 and Candida albicans V132 as a potential novel trained immunity-based vaccine for genitourinary tract infections. *Front. Immunol.*, 2020, vol. 11, pp. 6122–6129.
31. Martinez M., Clemons K.V., Stevens D.A. Heat-killed yeast as a pan-fungal vaccine. *Methods Mol. Biol.*, 2017, vol. 1625, pp. 23–30.
32. Matthews R.C., Rigg G., Hodgetts S., Carter T., Chapman C., Gregory C., Illidge C., Burnie J. Preclinical assessment of the efficacy of mycograb, a human recombinant antibody against fungal HSP90. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2003, vol. 47, pp. 2208–2216.
33. Mayer F.L., Wilson D., Hube B. Candida albicans pathogenicity mechanisms. *Virulence*, 2013, vol. 4, no. 2, pp. 119–128. doi: 10.4161/viru.22913
34. Medici N.P., Del Poeta M. New insights on the development of fungal vaccines: from immunity to recent challenges. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2015, vol. 110, no. 8, pp. 966–973. doi: 10.1590/0074-02760150335
35. Mora C., Tittensor D.P., Adl S., Simpson A.G., Worm B. How many species are there on Earth and in the ocean? *PLoS Biol.*, 2011, vol. 9, no. 8: e1001127. doi: 10.1371/journal.pbio.1001127
36. Nami S., Mohammadi R., Vakili M., Khezripour K., Mirzaei H., Morovati H. Fungal vaccines, mechanism of actions and immunology: a comprehensive review. *BioMed. Pharmacother.*, 2019, vol. 109, pp. 333–344. doi: 10.1016/j.biopha.2018.10.075
37. Nami S., Aghebati-Maleki A., Morovati H., Aghebati-Maleki L. Current antifungal drugs and immunotherapeutic approaches as promising strategies to treatment of fungal diseases. *BioMed. Pharmacother.*, 2019, vol. 110, pp. 857–868. doi: 10.1016/j.biopha.2018.12.009
38. Ngo L.Y., Kasahara S., Kumasaka D.K., Knoblauch S.E., Jhingran A., Hohl T.M. Inflammatory monocytes mediate early and organ-specific innate defense during systemic candidiasis. *J. Infect. Dis.*, 2014, vol. 209, no. 1, pp. 109–119. doi: 10.1093/infdis/jit413
39. Pappas P.G., Lionakis M.S., Arendrup M.C., Ostrosky-Zeichner L., Kullberg B.J. Invasive candidiasis. *Nature Rev. Dis. Primers*, 2018, vol. 4, pp. 1–20.
40. Peroumal D., Sahu S.R., Kumari P., Utkalaja B., Acharya N. Commensal fungi candida albicans modulates dietary high-fat induced alterations in metabolism, immunity, and gut microbiota. *bioRxiv*, 2022, vol. 22, pp. 1–47.
41. Phan Q.T., Myers C.L., Fu Y., Sheppard D.C., Yeaman M.R., Welch W.H., Ibrahim A.S., Edwards J.E. Jr., Filler S.G. Als3 is a Candida albicans invasin that binds to cadherins and induces endocytosis by host cells. *PLoS Biol.*, 2007, vol. 5, no. 3: e64. doi: 10.1371/journal.pbio.0050064
42. Piccione D., Mirabelli S., Minto N., Bouklas T. Difficult but not impossible: in search of an anti-Candida vaccine. *Curr. Trop. Med. Rep.*, 2019, vol. 15, pp. 42–49.
43. Qadri H., Shah A.H., Alkhanani M., Almilaibary A., Mir M.A. Immunotherapies against human bacterial and fungal infectious diseases: a review. *Front. Med. (Lausanne)*, 2023, vol. 10: 10.1135541. doi: 10.3389/fmed.2023.1135541
44. Richardson J.P., Moyes D.L. Adaptive immune responses to Candida albicans infection. *Virulence*, 2015, vol. 6, no. 4, pp. 327–337. doi: 10.1080/21505594.2015.1004977
45. Sahu S.R., Bose S., Singh M., Kumari P., Dutta A., Utkalaja B.G., Patel S.K., Acharya N. Vaccines against candidiasis: status, challenges and emerging opportunity. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2022, vol. 12, pp. 1002–1006.
46. Saville S.P., Lazzell A.L., Chaturvedi A.K., Monteagudo C., Lopez-Ribot J.L. Efficacy of a genetically engineered Candida albicans tet-NRG1 strain as an experimental live attenuated vaccine against hematogenously disseminated candidiasis. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2009, vol. 16, pp. 430–432.
47. Schmidt C.S., White C.J., Ibrahim A.S., Filler S.G., Fu Y., Yeaman M.R., Edwards J.E. Jr., Hennessey J.P. NDV-3, a recombinant alum-adsorbed vaccine for Candida and Staphylococcus aureus, is safe and immunogenic in healthy adults. *Vaccine*, 2012, vol. 30, pp. 7594–7600.
48. Shen H., Yu Y., Chen S.M., Sun J.J., Fang W., Guo S.Y., Hou W.T., Qiu X.R., Zhang Y., Chen Y.L., Wang Y.D., Hu X.Y., Lu L., Jiang Y.Y., Zou Z., An M.M. Dectin-1 facilitates IL-18 production for the generation of protective antibodies against Candida albicans. *Front. Microbiol.*, 2020, vol. 11: 1648.

49. Shibasaki S., Karasaki M., Tafuku S., Aoki W., Sewaki T., Ueda M. Oral immunization against candidiasis using *Lactobacillus casei* displaying enolase 1 from *Candida albicans*. *Sci. Pharm.*, 2014, vol. 82, pp. 697–708.
50. Tso G.H.W., Reales-Calderon J.A., Pavelka N. The elusive anti-*Candida* vaccine: lessons from the past and opportunities for the future. *Front. Immunol.*, 2018, vol. 9: 897.
51. Vilanova M., Teixeira L., Caramalho I., Torrado E., Marques A., Madureira P., Ribeiro A., Ferreira P., Gama M., Demengeot J. Protection against systemic candidiasis in mice immunized with secreted aspartic proteinase 2. *Immunology*, 2004, vol. 111, pp. 334–342.
52. Voigt J., Hünninger K., Bouzani M., Jacobsen I.D., Barz D., Hube B., Löffler J., Kurzai O. Human natural killer cells acting as phagocytes against *Candida albicans* and mounting an inflammatory response that modulates neutrophil antifungal activity. *J. Infect. Dis.*, 2014, vol. 209, no. 4, pp. 616–626. doi: 10.1093/infdis/jit574
53. Wang X.J., Sui X., Yan L., Wang Y., Cao Y.B., Jiang Y.Y. Vaccines in the treatment of invasive candidiasis. *Virulence*, 2015, vol. 6, pp. 309–315.
54. World Health Organization (WHO) Report. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. Oct 25, 2022. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>
55. Wüthrich M., Wang H., Li M., Lerksuthirat T., Hardison S.E., Brown G.D., Klein B. *Fonsecaea pedrosoi*-induced Th17-cell differentiation in mice is fostered by dectin-2 and suppressed by mincle recognition. *Eur. J. Immunol.*, 2015, vol. 45, pp. 2542–2552. doi: 10.1002/eji.201545591
56. Xin H. Active immunizations with peptide-DC vaccines and passive transfer with antibodies protect neutropenic mice against disseminated candidiasis. *Vaccine*, 2016, vol. 34, no. 2, pp. 245–251. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.11.035
57. Xin H., Glee P., Adams A., Mohiuddin F., Eberle K. Design of a mimotope-peptide based double epitope vaccine against disseminated candidiasis. *Vaccine*, 2019, vol. 37, pp. 2430–2438.

Авторы:

Хостелиди С.Н., д.м.н., доцент, доцент кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;

Серебряная Н.Б., д.м.н., профессор, профессор кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия; зав. лабораторией общей иммунологии отдела общей патологии и патофизиологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия; профессор кафедры цитологии и гистологии ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Khostelidi S.N., DSc (Medicine), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Clinical Mycology, Allergology and Immunology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

Serebryanaya N.B., DSc (Medicine), Professor, Professor of the Department of Clinical Mycology, Allergology and Immunology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation; Head of the Laboratory of General Immunology, Department of General Pathology and Pathophysiology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation; Professor of the Department of Cytology and Histology, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 24.06.2024
Принята к печати 13.08.2024

Received 24.06.2024
Accepted 13.08.2024

ОЦЕНКА МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У БЕРЕМЕННЫХ МЫШЕЙ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ПРИЕМЕ КОММЕРЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НАНОСЕРЕБРА

М.Н. Гапон¹, Е.А. Иванова¹, Т.И. Твердохлебова^{1,2}, А.В. Кантария³, З.Т. Тагиров², И.А. Логинов², Э.А. Гапон^{1,2}

¹ ФБУН Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

² ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия

³ ГБУ РО «Патологоанатомическое бюро», г. Ростов-на-Дону, Россия

Резюме. Целью работы являлось определение безопасности перорального использования коммерческих препаратов коллоидного наносеребра в период беременности путем изучения некоторых медико-биологических параметров: состояния микробиоты и местной неспецифической резистентности толстой кишки; течения и исхода беременности; морфологии жизненно важных органов — почек, печени, мозга у мышей, принимавших эти препараты, и у их потомства. В работе использованы микробиологические, биохимические, гистологические методы исследования. Эмпирически выбранные коммерческие препараты коллоидного наносеребра («Аджента», «Витаргол») и рекомендованные для внутреннего применения людям были использованы в эксперименте *in vivo* путем 30-дневного выпаивания беременных мышей в терапевтической дозе. В результате отмечено восстановление баланса в микробиоме толстой кишки животных за счет снижения численности возбудителей: энтеробактерий, стафилококков и кандид. В копрофильтратах обеих групп мышей, принимавших как «Адженту», так и «Витаргол», состояние местной неспецифической резистентности свидетельствовало о несостоятельности местной антирадикальной защиты. Если после терапии «Аджентой» отмечался дисбаланс в работе антиоксидантных ферментов, когда активность супероксиддисмутазы в 1,5 раза превышала контрольный уровень, а активность каталазы в 2 раза была ниже его, способствуя увеличению содержания продукта пероксидации — малонового диальдегида в 2,6 раза, то после терапии «Витарголом» активности супероксиддисмутазы и каталазы составляли всего лишь 43% и 25%, а количество малонового диальдегида достигало максимально высокого уровня — 431%. Микроскопическое исследование всех биоптатов органов экспериментальных мышей из групп, принимавших коммерческие препараты коллоидного наносеребра «Аджента» и «Витаргол», каких-либо принципиальных различий не обнаружило. При этом у всех животных присутствуют морфологические изменения в тканях: зернистая дистрофия гепатоцитов, нефроцитов проксимальных и дистальных канальцев, в препаратах печени перинуклеарно имеется просветление цитоплазмы в отдельных группах печеночных клеток. Во всех препаратах мозга — умеренно выраженный периваскулярно-перипеллюлярный отек, полнокровие сосудов, дистрофия нейронов. Однако при гистологическом исследовании печени молодых, выросшей на грудном молоке самок, также принимавших в терапевтических дозах «Витаргол», каких-либо отрицатель-

Адрес для переписки:

Гапон Марина Николаевна
344010, Россия, г. Ростов-на-Дону, Газетный пер., 119,
Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии.
Тел.: 8 909 436-41-17.
E-mail: marina.gapon@mail.ru

Contacts:

Marina N. Gapon
344010, Russian Federation, Rostov-on-Don, Gazetny per., 119,
Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology.
Phone: +7 909 436-41-17.
E-mail: marina.gapon@mail.ru

Для цитирования:

Гапон М.Н., Иванова Е.А., Твердохлебова Т.И., Кантария А.В., Тагиров З.Т., Логинов И.А., Гапон Э.А. Оценка медико-биологических параметров у беременных мышей при пероральном приеме коммерческих препаратов наносеребра // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 37–45. doi: 10.15789/2220-7619-BPA-17676

Citation:

Gapon M.N., Ivanova E.A., Tverdokhlebova T.I., Kantaria A.V., Tagirov Z.T., Loginov I.A., Gapon E.A. Biomedical parameters assessed in pregnant mice receiving oral commercial nanosilver preparations // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 37–45. doi: 10.15789/2220-7619-BPA-17676

ных изменений обнаружено не было. Несмотря на то что процессы вынашивания беременности и деторождения у мышей протекали нормально, результаты исследования свидетельствуют о недостаточной безопасности выбранных препаратов для перорального использования при беременности.

Ключевые слова: коллоидное наносеребро, микробиота толстой кишки мышей, копрофильтраты, местная неспецифическая резистентность, беременность, морфологические изменения тканей.

BIOMEDICAL PARAMETERS ASSESSED IN PREGNANT MICE RECEIVING ORAL COMMERCIAL NANOSILVER PREPARATIONS

Gapon M.N.^a, Ivanova E.A.^a, Tverdokhlebova T.I.^{a,b}, Kantaria A.V.^c, Tagirov Z.T.^b, Loginov I.A.^b, Gapon E.A.^{a,b}

^a Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russian Federation

^b Rostov State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation

^c Pathoanatomical Bureau, Rostov-on-Don, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to determine the safety of oral commercial colloidal nanosilver preparations during mouse pregnancy by assessing microbiota and local colonic nonspecific resistance; pregnancy course and outcome; morphology of vital organs — kidneys, liver, brain in pregnant mice and paired offspring. Microbiological, biochemical, and histological research methods were used in the work. Empirically selected commercial colloidal nanosilver preparations (“Ajenta”, “Vitargol”) recommended for internal use in humans at a therapeutic dose were used in an *in vivo* experiment by 30-day watering of pregnant mice. As a result, the large intestine microbiome balance was restored due to decreased in number of pathogens: enterobacteria, *Staphylococcus* and *Candida*. In the coprofiltrates of both groups of mice receiving both “Ajenta” and “Vitargol”, the state of local nonspecific resistance showed impaired local antiradical protection. If after “Ajenta” therapy there was an imbalance in antioxidant enzyme system, when the activity of superoxide dismutase was 1.5 times higher than control level, and catalase activity was 2 times lower contributing to higher level of peroxidation product — malondialdehyde by 2.6 times, then after “Vitargol” therapy activity of superoxide dismutase and catalase was only 43% and 25%, and the amount of malondialdehyde peaked reaching 431%. Microscopic examination of all organ biopsies from mice receiving commercial colloidal nanosilver preparations “Ajenta” and “Vitargol” revealed no fundamental differences. At the same time, morphological changes in tissues were found in all animals: granular dystrophy of hepatocytes, nephrocytes of the proximal and distal tubules, perinuclearly in liver preparations there is a cytoplasm enlightenment in some liver cell types. In all brain samples, there is moderate perivascular-pericellular edema, vascular fullness, neuron dystrophy. However, breast-fed mouse pup liver histological examination from paired female mice after oral Vitargol intake revealed no negative changes. Despite the fact that the processes of gestation and childbirth in mice proceeded normally, the results of the study indicate insufficient safety of the selected drugs for oral use during pregnancy.

Key words: colloidal nanosilver, mouse colon microbiota, coprofiltrates, local nonspecific resistance, pregnancy, morphological changes in tissues.

Введение

Проблема борьбы с антибиотикоустойчивыми штаммами возбудителей инфекционных заболеваний продолжает оставаться актуальной для медицины [1, 5]. Среди новейших разработок современных ученых на первое место выходит направление нанотехнологии, занимающееся синтезом наночастиц, имеющих размер менее 100 нм, что позволяет им проникать через микроскопические поры и уничтожать бактерии [9, 12, 16, 17]. В настоящее время использование препаратов наносеребра считается очень перспективным в связи с отсутствием устойчивых к нему форм микробов, грибов и вирусов [22]. Поэтому широко рассматривается возможность терапевтического применения наночастиц серебра [7]. Большинство препаратов коллоидного наносеребра используют в медицине и в косметологии путем наружного применения [19]. Значительно реже нанокolloид серебра используется перорально для лечения инфекций желудочно-ки-

шечного тракта [11]. При создании таких препаратов прежде всего учитывается их безопасность, однако исследования, проведенные в последнее десятилетие, показывают различные результаты [2]. Так в работе Shahare B. (2013) установлено, что при пероральном воздействии наносеребра на слизистую тонкой кишки мышей уничтожаются микроворсинки энтероцитов, что способствует уменьшению площади всасывания питательных веществ и приводит к потере массы животных [25]. При вдыхании наносеребра крысами отмечено его распределение по всему организму и отложение в низких концентрациях в сердце, почках, селезенке, печени, мозге [26]. В исследованиях Gromadszka-Ostrowska J. с соавт. выявлено, что накопление наносеребра влияет на функционирование репродуктивной системы, проявляя цитотоксический эффект, повреждая клетки свободными радикалами [22, 24]. Однако при контакте клеток с наночастицами более 500 нм инициируется иммунный ответ в виде фагоцитоза/пиноцитоза, поэтому для

антибактериальных целей обычно используют наносеребро диаметром 50 нм [27]. Установлено, что антибактериальные свойства серебра обусловлены контактом ионов с органическими жидкостями, а наибольшая их реактогенность наступает при взаимодействии с соединениями серы с образованием ионов серебра, которые проникают в бактериальные клетки и приводят к их гибели [18, 23]. Наносеребро имеет доказанную эффективность, тем не менее основные проблемы его использования связаны с токсичностью, представляющей высокий риск для здоровья человека и зависящей от формы, количества и размера применяемых частиц [19].

Особый интерес представляет использование наносеребра для санации воспалительных очагов различной локализации и этиологии у беременных, что обусловлено ограниченным спектром препаратов, используемых в этом состоянии. Однако среди множества исследований, проводимых по нанотоксикологии, лишь немногие касаются оценки влияния наносеребра на репродуктивную функцию, используя в качестве экспериментальных животных самок, что делает данное исследование актуальным [21, 24].

В связи с этим целью работы стало определение безопасности использования коммерческих препаратов коллоидного наносеребра при беременности путем оценки состояния микробиоты и местной неспецифической резистентности толстой кишки мышей, изучения морфологии жизненно важных органов мышей, выпаиваемых препаратами наносеребра на течение и исход беременности. Были поставлены следующие задачи:

1. Провести бактериологические, биохимические исследования фекалий экспериментальных животных до и после использования препаратов коллоидного наносеребра.
2. Оценить достижение эффективности проводимых мероприятий по нормализации численности УМП и уровня МДА.
3. Оценить нормальность течения и исход беременности у мышей.
4. Провести после родов гистологическое исследование органов для оценки возможного влияния наносеребра на мозг, печень, почки самок и печень приплода после вскармливания молоком матери, принимавшей препарат серебра во время беременности.

Материалы и методы

Для исследования из аптечной сети эмпирически были выбраны коммерческие препараты коллоидного наносеребра «Аджента» и «Витаргол», рекомендованные к внутреннему применению людям, но противопоказанные

при беременности в связи с отсутствием экспериментальных данных.

Эксперимент был проведен дважды, в апреле 2023 и 2024 гг. Материалом для исследования служило содержимое толстой кишки 36 белых беспородных беременных мышей весом 20–24 г. Самки были взяты в эксперимент на 4–5 день беременности.

Мышей распределяли на группы по 6 особей в каждой: группа К — животные, не принимавшие препараты серебра, группа 1 — мыши, принимавшие водный раствор коммерческого препарата коллоидного серебра «Аджента» AgA (30 ppm — 300 мг/л), группа 2 — мыши, принимавшие водный раствор коммерческого препарата коллоидного серебра «Витаргол» AgB (30 ppm — 300 мг/л). В скобках указана исходная концентрация серебра до его разведения.

Разведение препаратов серебра осуществляли питьевой бутилированной водой, которой поили контрольных и экспериментальных животных. Приготовление растворов серебра проводили в соответствии с инструкцией по применению препаратов, добавляя к 1000 мл воды 50 мл раствора «Адженты», а к 900 мл воды 1,5 мл раствора «Витаргола». На протяжении 30 суток мышей выпаивали в дозе, пересчитанной на вес животного, по 0,1 мл (2 капли) 2 раза в сутки.

Работа с животными проводилась в соответствии с Директивой 2010/63/ЕС международной Конвенции об охране животных, используемых в научных целях, а также согласно ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур», на основании Протокола Локального этического комитета при Ростовском научно-исследовательском институте микробиологии и паразитологии от 2023 г.

В ходе эксперимента животным боль не причинялась. Изъятие органов для гистологического исследования проводилось у минимального количества особей (по 3 из каждой исследуемой группы) после их усыпления эфиром. Органы были фиксированы в 15% растворе формалина.

В работе использованы бактериологические и биохимические методы исследования содержимого толстой кишки.

Исследования микрофлоры содержимого толстой кишки осуществляли микробиологическими методами [4, 15] в соответствии с Приказом Минздрава СССР № 535 от 22.04.1985 «Об унификации микробиологических методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», ОСТ 91500.11.0004-2003, утв. Приказом Минздрава РФ от 09.06.2003 г. № 231 и методическими рекомендациями 2007 г.

Определение активностей антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы и количества продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) — малонового диальдегида (МДА) — определяли в копрофильтратах спектрометрически по стандартным биохимическим методикам [3, 8, 13, 14].

Гистологическое исследование органов родивших самок и их детей осуществляли путем микроскопии срезов биоптатов (почек, печени, мозга), окрашенных гематоксилин-эозином.

Статистическая обработка данных проводилась с применением программного обеспечения «Statistica 10.0 for Windows XP».

Результаты

Результаты бактериологического исследования микробиоты толстой кишки экспериментальных животных свидетельствуют об одинаковом микробном пейзаже, присутствующем как у интактных животных, так и у мышей до использования препаратов серебра. В связи с этим, их данные были объединены и представлены в колонке «до санации» в табл. 1. Среди представителей нормальной микрофлоры присутствовали *Lactobacillus* в количестве $\lg 7,3 \pm 0,3$ КОЕ/г, *Bifidobacterium* — $\lg 8,4 \pm 0,4$ КОЕ/г, *E. coli* с нормальной ферментативной активностью — $\lg 8,2 \pm 0,4$ КОЕ/г и *Enterococcus faecalis* — $\lg 7,0 \pm 0,3$ КОЕ/г. Среди условно-патогенной микрофлоры присутствовали: *Proteus mirabilis* $\lg 2,0 \pm 0,1$ КОЕ/г, условно-патогенные энтеробактерии (*Citrobacter freundii*, *Hafnia alvei*) $\lg 5,3 \pm 0,2$ КОЕ/г, коагулазоотрицательные стафилококки $\lg 6,1 \pm 0,3$ КОЕ/г, дрожжеподобные грибы р. *Candida* $6,0 \pm 0,2$ КОЕ/г, клостридии отсутствовали (табл. 1).

Изменение количества типичных эшерихий во второй группе произошло через 7 дней употребления коллоидного серебра, при этом в первой группе их количество снизилось на один порядок относительно контроля, достигая своего минимального уровня $\lg 5,6 \pm 0,2$ КОЕ/г к 30 суткам, тогда как во второй группе численность эшерихий достоверно уменьшилась относительно контроля в 2 раза — до $\lg 4,0 \pm 0,2$ КОЕ/г с последующим увеличением количества на один порядок к последним суткам исследования.

На протяжении 7 дней приема обоих препаратов коллоидного серебра содержание бифидобактерий оставалось стабильным и соответствовало контрольным значениям, на 23 сутки уровень бифидобактерий увеличился до $\lg 10,0 \pm 0,5$ КОЕ/г и оставался таковым до окончания исследования.

Уровень лактобактерий в обеих экспериментальных группах в течение 7 суток сохранялся

стабильным, соответствуя контрольным значениям. С 14 суток приема препаратов содержание лактобактерий увеличивалось на один порядок, оставаясь на том же уровне до конца наблюдения.

Характерным для всех животных явилось одинаковое действие наносеребра на численность протей. Так на 22 сутки приема препаратов уровень протей сравнялся с контрольным — $\lg 2,0 \pm 0,1$ КОЕ/г. На 23 сутки протей не определялся, а затем, к 30 суткам, появлялся вновь, несмотря на непрерывный прием препаратов.

Численность коагулазоотрицательных стафилококков во всех исследуемых группах на протяжении всего срока исследования оставалась неизменной, соответствующей контрольному уровню.

На 23 сутки использования наносеребра в составе микробиоты мышей 1 и 2 групп не выявлялись условно-патогенные энтеробактерии — гафнии и цитробактеры, присутствующие в группе контроля.

В результате месячного приема разными группами животных коллоидного серебра (AgA и AgB) в рекомендованной дозе численность кандид в содержимом кишечника снизилась на 1 порядок — с $\lg 6,0$ до $\lg 5,0$ КОЕ/г фекалий, при этом не достигнув нормального уровня ($\leq \lg 4,0$).

Действие препаратов наносеребра на беременность и на развитие приплода у мышей. На протяжении всей беременности по внешнему виду и поведению экспериментальные животные не отличались от особей контрольной группы.

Периодическое взвешивание беременных самок свидетельствовало о регулярной прибавке веса во всех группах, принимавших разные препараты наносеребра (табл. 2).

На 21–23 день у каждой самки родилось по 8 детенышей.

Внешний вид и поведение приплода в экспериментальных группах не отличались от приплода в контрольной группе. Все детеныши самостоятельно питались материнским молоком, набирали вес (с 1,4 г до 16 г) и были активны. На 7 сутки после рождения у мышат отлипли уши, на 11 сутки появилась шерсть, на 13 сутки открылись глаза. В трехнедельном возрасте потомство перешло к самостоятельному питанию.

Действие препаратов наносеребра на местную антиоксидантную защиту и на процессы пероксидации. Исследование состояния местной неспецифической резистентности в толстой кишке у беременных мышей, принимавших перорально препараты наносеребра, выявило различие в активности сопряженных антиоксидантных ферментов (СОД и каталазы) в сравниваемых группах мышей.

Средние показатели активности антиоксидантных ферментов СОД и каталазы, а также среднее содержание МДА в копрофильтратах беременных мышей, принимавших препараты наносеребра, представлены на рис. 1.

Определение активности антиоксидантных ферментов СОД и каталазы в копрофильтратах самок мышей, принимавших перорально терапевтические дозы коллоидного наносеребра — AgA, AgB на протяжении 30 дней, выявило снижение уровня всех показателей относительно контроля за исключением активности ферментов в группе животных, получавших коллоидное серебро AgA, у которых активность СОД достоверно превышала контрольные значения в 1,4 раза ($p < 0,05$). При использовании AgB отмечались максимально низкая активность антиоксидантных ферментов и высокий уровень продукта перекисного окисления липидов — МДА (рис. 1).

Оценка состояния местной неспецифической резистентности в копрофильтратах после терапии «Аджентой» с достоверностью ($p < 0,05$) выявила дисбаланс в работе антиоксидантных ферментов, когда активность супероксиддисмутазы на 46% превышала контрольный уровень, а активность каталазы была ниже контрольной на 50%, что способствовало увеличению содержания продукта перекисаации — малонового диальдегида на 164%. После терапии «Витарголом» количество МДА достигало большего уровня, как относительно контроля, так и относительно сравниваемой группы, составляя 431%. При этом активность СОД и каталазы составляла всего лишь 43% и 25% соответственно, что свидетельствует о несостоятельности местной антирадикальной защиты.

Гистологическое исследование органов экспериментальных животных. Морфологические изменения в органах экспериментальных животных после приема препаратов коллоидного серебра визуализированы на рисунках (Б) и (В) 2–5, для сравнения рядом с ними представлены контрольные изображения (А) (III обложка).

Микроскопическое описание рисунка 2 (Б): в коре умеренно выраженный периваскулярный и перицеллюлярный отек, умеренно выраженное кровенаполнение сосудов, дистрофические изменения нейронов.

Микроскопическое описание рисунка 2 (В): в препарате представлен мозжечок — умеренно выраженный периваскулярный и перицеллюлярный отек, умеренное кровенаполнение сосудов, дистрофия нейронов.

Микроскопическое описание рисунка 3 (Б): полнокровие, дольковое строение, ядра округлой формы контурируются четко во всех полях зрения, цитоплазма зернистая, в печеночных дольках умеренно выраженная дисконкомплексация гепатоцитов.

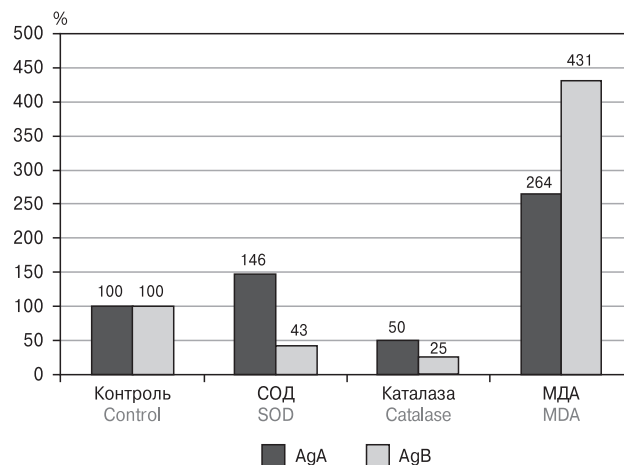


Рисунок 1. Средние показатели активности СОД, каталазы и содержания МДА в копрофильтратах мышей, получавших разные препараты наносеребра (%)

Figure 1. Coprofiltrate average activity levels for SOD, catalase and MDA level in mice treated with different nanosilver preparations (%)

Микроскопическое описание рисунка 3 (В): перинуклеарно отмечается просветление цитоплазмы в отдельных группах, ядра округлой формы контурируются четко во всех полях зрения, цитоплазма зернистая.

Микроскопическое описание рисунка 4 (Б): венозное полнокровие межканальцевых вен, капилляров почечных клубочков, цитоплазма нефроцитов дистальных и проксимальных канальцев зернистая.

Микроскопическое описание рисунка 4 (В): венозное полнокровие, в интерстиции мелкоочаговые свежие кровоизлияния, дистальные и проксимальные канальцы — без особенностей, ядра нефроцитов округлой формы контурируются четко во всех полях зрения, цитоплазма зернистая.

Микроскопическое описание рисунка 5 (Б) и (В): полнокровие центральных вен и гемокпилляров, дольковое строение сохранено, балочное расположение в дольках просматривается, умеренно выраженная их дисконкомплексация, ядра гепатоцитов округлой формы, цитоплазма зернистая.

Обсуждение

Микробиологическое исследование содержимого толстой кишки беременных самок, выпаиваемых препаратами «Аджента» и «Витаргол», выявило идентичность изменений показателей в ходе эксперимента результатам аналогичного исследования, проводимого на самцах в 2022 г. Зафиксировано достижение микробного баланса с элиминацией условно-патогенных возбудителей, исчезновение протей

и восстановление его первоначальной численности после перорального приема обоих препаратов наносеребра. Сравнение противокандидозного эффекта препаратов коллоидного серебра в модели *in vivo* выявило их незначительное действие при пероральном использовании, позволяющее лишь уменьшить численность кандид, что может быть обусловлено связыванием частиц серебра с микроэлементами макроорганизма, которое могло способствовать снижению дозы воздействия, являющейся достаточной для бактерий и недостаточной для дрожжеподобных грибов.

Результаты нашего биохимического исследования копрофильтратов свидетельствуют об угнетении антиоксидантной защиты при

активации процессов пероксидации, что непосредственно связано с присутствием свободнорадикальных процессов. Полученные нами данные согласуются с результатами исследований, выявивших активацию процессов, приводящих к окислительному стрессу в эукариотических клетках в присутствии наносеребра [10]. Сведение о том, что наносеребро при высоких дозах (0,1 мг/см³ Ag) является индуктором окислительного стресса в клеточных культурах и в организмах гидробионтов присутствует в опубликованных работах [20]. В работе по токсикологической оценке коллоидного наносеребра Гмошинский И.В. с соавт. в 2015 г. определяли содержание малонового диальдегида в плазме крови, а активность ферментов

Таблица 1. Состояние микробиоты толстой кишки беременных мышей до (К) и после 30-дневного перорального использования препаратов коллоидного наносеребра

Table 1. Colon microbiota in pregnant mice before (K) and 30 days after oral colloidal nanosilver preparation intake

Микроорганизмы Microorganisms	Среднее количество микроорганизмов Ig КОЕ/г в разных группах мышей Average number of microorganisms Ig KOE/g		
	До санации Before therapy	После санации After therapy	
	К n = 12	1 группа AgA 1 group AgA n = 12	2 группа AgB 2 group AgB n = 12
Бифидобактерии Bifidobacteria	8,4±0,4	10,0±0,5* p < 0,05 p < 0,1	10,0±0,5* p < 0,05 p < 0,1
Лактобактерии Lactobacteria	7,3±0,3	8,2±0,1* p < 0,05 p < 0,1	8,2±0,1* p < 0,05 p < 0,1
E. coli с НФА E. coli NFA	8,2±0,4	5,6±0,2*,** p < 0,05 p < 0,05	5,0±0,2*,** p < 0,05 p < 0,05
Энтерококки Enterococcus	7,0±0,3	7,0±0,1 p < 0,1 p < 0,1	7,0±0,1 p < 0,1 p < 0,1
Proteus mirabilis	2,0±0,1	2,0±0,1 p < 0,1 p < 0,1	2,0±0,1 p < 0,1 p < 0,1
Hafnia alvei	5,3±0,2	0* p < 0,05 p < 0,1	0* p < 0,05 p < 0,1
Citrobacter freundii	5,3±0,2	0* p < 0,05 p < 0,1	0* p < 0,05 p < 0,1
Стафилококки коагулазоотрицательные Staphylococci coagulase-negative	6,1±0,2	6,0±0,2 p < 0,1 p < 0,1	6,0±0,2 p < 0,1 p < 0,1
p. Clostridium	0	0	0
Дрожжеподобные грибы Yeast-like fungi <i>Candida</i> sp.	6,0±0,2	5,2±0,2* p < 0,05 p < 0,1	5,0±0,2* p < 0,05 p < 0,1

Примечание. НФА (нормальная ферментативная активность); * — достоверность отличий изучаемого показателя в группах 1 и 2 от группы К, p < 0,05; ** — достоверность отличий изучаемого показателя в группах сравнения (1 и 2), p < 0,05.

Note. NFA (normal enzymatic activity); * — significant differences between groups 1 and 2 from group K, p < 0.05; ** — significant difference in comparison groups (1 and 2), p < 0.05.

Таблица 2. Динамика изменения веса у беременных самок и их приплода в ходе эксперимента

Table 2. Body weight dynamics in pregnant female mice and paired offspring during the experiment

Группы мышей Groups of mice		Средний вес (г) в группе (t, недели) Average weight (g) in the group (t, weeks)			
		t ₁	t ₂	t ₃	t ₄
Беременные самки Pregnant females	К, n = 12	32,2±1,1	34,8±1,5	36,1±1,6	22,2±0,9
	«Аджента» "Adjenta" n = 12	31,8±1,2	34,2±1,4	35,9±1,5	20,5±0,8
	«Витаргол» "Vitargol" n = 12	32,3±1,1	34,3±1,4	36,0±1,6	22,3±0,9
Приплод Offspring	К, n = 96	1,5±0,2	11,5±0,4	16,3±0,7	–
	«Аджента» "Adjenta" n = 96	1,4±0,3	10,8±0,5	16,0±0,7	–
	«Витаргол» "Vitargol" n = 96	1,5±0,2	10,8±0,5	16,1±0,7	–

антиоксидантной защиты — в эритроцитах [6]. Результаты их исследования свидетельствовали об активации ключевых ферментов системы детоксикации ксенобиотиков, указывающей на ее функциональное перенапряжение, обусловленное повышенными дозами серебра [6]. В нашем случае несостоятельность местной неспецифической резистентности не может быть связана с дозой, так как количества обоих препаратов коллоидного наносеребра не превышали терапевтические значения. Возможно, такой эффект обусловлен сильной антибактериальной активностью препаратов, в результате чего увеличивалась концентрация H₂O₂ и погибших клеток бактерий, что в свою очередь могло вызвать усиление процессов пероксидации и интоксикации с возрастанием нагрузки на детоксикационные органы макроорганизма.

В результате проведенного гистологического анализа печени, почек и мозга самок, принимавших во время беременности препараты наносеребра, выявлены некоторые морфологические изменения в тканях. При микроскопическом исследовании всех биоптатов органов экспериментальных мышей из групп, принимавших коммерческие препараты коллоидного наносеребра «Аджента» и «Витаргол», каких-либо принципиальных отличий не обнаружено. У всех животных присутствует зернистая дистрофия гепатоцитов, нефроцитов проксимальных и дистальных канальцев, в препаратах печени перинуклеарно имеется просветление цитоплазмы в отдельных группах печеночных клеток. Во всех препаратах мозга — умеренно выраженный периваскулярно-перичеселлюлярный отек, полнокровие сосудов, дистрофия нейронов.

Однако при гистологическом исследовании печени молоди, выросшей на грудном молоке

самок, также принимавших в терапевтических дозах «Витаргол», каких-либо отрицательных изменений обнаружено не было.

Ни один из препаратов коллоидного наносеребра отрицательного действия на течение и исход беременности у мышей не оказал.

Заключение

Таким образом, в эксперименте зафиксировано позитивное действие обоих препаратов «Аджента» и «Витаргол» по восстановлению микробного баланса в кишечном микробиоме беременных мышей с элиминацией условно-патогенных возбудителей и негативное действие на состояние местной неспецифической резистентности в толстой кишке животных. Полученные данные о высоком количестве МДА в копрофильтрах мышей после внутреннего использования препаратов свидетельствуют о токсическом действии наночастиц серебра, в основе которого лежит интенсификация процессов перекисного окисления липидов, увеличивающая проницаемость клеточных мембран. Возможно, этот факт подтверждают результаты послеродового гистологического исследования жизненно важных органов самок (мозг, печень, почки), установившего в них патоморфологические изменения после перорального приема препаратов. Однако отрицательного воздействия наносеребра через материнское молоко на печень молоди не выявлено. Процесс беременности протекал нормально и имел благополучный исход.

Несмотря на существование положительных фактов, зафиксированных в эксперименте по пероральному использованию препаратов «Аджента» и «Витаргол» при беременности, сделать однозначный вывод невозможно.

Список литературы/References

1. Абрамов Ю.Е., Орлова О.А., Акимкин В.Г. Меры профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в родовспомогательных учреждениях в отечественной и международной практике // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2021. № 1. С. 71–76. [Abramov Yu.E., Orlova O.A., Akimkin V.G. Measures for the prevention of infections associated with the provision of medical care in maternity institutions in domestic and international practice. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni. Aktual'nye voprosy = Epidemiology and Infectious Diseases. Current Issues, 2021, no. 1, pp. 71–76. (In Russ.)*] doi: 10.18565/epidem.2021.11.1.71-6
2. Ажмулдинов Е.А., Кизаев М.А., Титов М.Г., Соболева Н.В., Бабичева И.А. Частицы серебра: характеристика и применение в животноводстве // Ветеринарный врач. 2020. № 1. С. 14–22. [Azhmuldinov E.A., Kizaev M.A., Titov M.G., Soboleva N.V., Babicheva I.A. Silver particles: characteristics and application in animal husbandry. *Veterinarnyi vrach = Veterinary Doctor, 2020, no. 1, pp. 14–22. (In Russ.)*] doi: 10.33632/1998-698X.2020-1-14-22
3. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело. 1988. № 11. С. 41–43. [Andreeva L.I., Kozhemyakin L.A., Kishkun A.A. Modification of the method for determining lipid peroxides in the test with thiobarbituric acid. *Laboratornaya delo = Laboratornoe Delo, 1988, no. 11, pp. 41–43. (In Russ.)*]
4. Бондаренко В.М., Лиходед В.Г. Бактериологическая диагностика дисбактериоза кишечника: Методические рекомендации. М.: ГУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, 2007. 72 с. [Bondarenko V.M., Likhoded V.G. Bacteriological diagnosis of intestinal dysbiosis: Guidelines. Moscow: GU NIIEM im. N.F. Gamaleyi RAMS, 2007. 72 p. (In Russ.)]
5. Благонравова А.С., Шкарин В.В., Алексеева И.Г., Ковалишена О.В., Иванова Н.Ю., Княгина О.Н., Окунь И.Н., Бахтина Л.М. Проблема обеспечения безопасности новорожденных и родильниц в учреждениях Нижнего Новгорода и Нижегородской области // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2010. Т. 15, № 5. С. 9–15. [Blagoravova A.S., Shkarin V.V., Alexeeva I.G., Kovalishena O.V., Ivanova N.Y., Knyagina O.N., Okun' I.N., Bakhtina L.M. The problem of ensuring the safety of newborns and postpartum women in institutions of Nizhny Novgorod and the Nizhny Novgorod region. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases, 2010, vol. 15, no. 5, pp. 9–15. (In Russ.)*] doi: 10.17816/EID40445
6. Гмошинский И.В., Шипелин В.А., Ворожко И.В., Сенцова Т.Б., Сото С.Х., Авреньева Л.И., Гусева Г.В., Кравченко Л.В., Хотимченко С.А., Тутельян В.А. Токсикологическая оценка наноразмерного коллоидного серебра, стабилизированного поливинилпирролидоном. III. Энзимологические, биохимические маркеры, состояние системы антиоксидантной защиты // Вопросы питания. 2016. Т. 85, № 2. С. 14–23. [Gmoshinsky I.V., Shipelin V.A., Vorozhko I.V., Sentsova T.B., Soto S.Kh., Avrenyeva L.I., Guseva G.V., Kravchenko L.V., Khotimchenko S. A., Tutelyan V.A. Toxicological evaluation of nano-sized colloidal silver stabilized with polyvinylpyrrolidone. III. Enzymological, biochemical markers, state of the antioxidant defense system. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition, 2016, vol. 85, no. 2, pp. 14–23. (In Russ.)*]
7. Карпищенко С.А., Шумилова Н.А. Перспективы применения препаратов на основе серебра при ринитах // Русский медицинский журнал. 2018. Т. 10, № 2. С. 92–96. [Karpishchenko S.A., Shumilova N.A. Prospects for the use of silver-based drugs for rhinitis. *Russkii meditsinskiy zhurnal = Russian Medical Journal, 2018, vol. 10, no. 2, pp. 92–96. (In Russ.)*]
8. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. 1988. № 1. С. 16–19. [Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G., Tokarev V.E. Method for determination of catalase activity. *Laboratornaya delo = Laboratornoe Delo, 1988, no. 1, pp. 16–19. (In Russ.)*]
9. Мосин О.В. Уникальные свойства серебра. Ионное и коллоидное серебро (Дата публикации: 06.07.2008). [Mosin O.V. Unique properties of silver. Ionic and colloidal silver. (Publication date: 07/06/2008). URL: <http://www.SciTecLibrary.ru> (In Russ.)]
10. Наквасина М.А., Мачнева Ю.Р., Хотина В.А., Попова Д.А., Артюхов В.Г. Структурно-функциональные модификации эритроцитов человека и их компонентов в условиях воздействия наночастиц серебра // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2018. № 4. С. 115–121. [Nakvasina M.A., Machneva Yu.R., Khotina V.A., Popova D.A., Artyukhov V.G. Structural and functional modifications of human erythrocytes and their components under exposure to silver nanoparticles. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya = Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy, 2018, no. 4, pp. 115–121. (In Russ.)*]
11. Петрицкая Е.Н., Абаева Л.Ф., Рогаткин Д.А., Литвинова К.С., Бобров М.А. К вопросу о токсичности наночастиц серебра при пероральном введении коллоидного раствора // Альманах клинической медицины. 2011. № 25. С. 9–12. [Petritskaya E.N., Abaeva L.F., Rogatkin D.A., Litvinova K.S., Bobrov M.A. On the issue of the toxicity of silver nanoparticles during oral administration of a colloidal solution. *Al'manakh klinicheskoi meditsiny = Almanac of Clinical Medicine, 2011, no. 25, pp. 9–12. (In Russ.)*]
12. Петрицкая Е.Н., Рогаткин Д.А., Русанова Е.В. Сравнительная характеристика антибактериального действия препаратов серебра и наносеребра in vitro // Альманах клинической медицины. 2016. Т. 44, № 2. С. 221–226. [Petritskaya E.N., Rogatkin D.A., Rusanova E.V. Comparative characteristics of the antibacterial action of silver and nanosilver preparations in vitro. *Al'manakh klinicheskoi meditsiny = Almanac of Clinical Medicine, 2016, vol. 44, no. 2, pp. 221–226. (In Russ.)*] doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-2-221-226
13. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использования его для измерения активности супероксиддисмутазы // Вопросы медицинской химии. 1999. Т. 45, № 3. С. 263–272. [Sirota T.V. A new approach to the study of the process of autooxidation of adrenaline and its use to measure the activity of superoxide dismutase. *Voprosy meditsinskoi khimii = Voprosy Meditsinskoi Khimii, 1999, vol. 45, no. 3, pp. 263–272. (In Russ.)*]
14. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. В кн. Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. С. 66–68. [Steel I.D., Garishvili T.G. Method for determining malondialdehyde using thiobarbituric acid. In: Modern methods in biochemistry. Moscow: Medicine, 1977, pp. 66–68. (In Russ.)]
15. Суворов А.Н., Ткаченко Е.И., Успенский Ю.П. Дисбиоз кишечника. Руководство по диагностике и лечению. СПб.: ИнформМед, 2013. 269 с. [Suvorov A.N., Tkachenko E.I., Uspensky Yu.P. Intestinal dysbiosis. Guidelines for diagnosis and treatment. St. Petersburg: InformMed, 2013. 269 p. (In Russ.)]

16. Abou El-Nour K.M., Eftaiha A., Al-Warthan A., Ammar R.A. Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arab. J. Chem.* 2010, no. 3, pp. 135–140. doi: 10.1016/j.arabjc.2020.04.008
17. Ahmad A., Mukherjee P., Senapati S., Mandal D., Khan M.I., Kumar R., Murali S. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2003, vol. 28, no. 4, pp. 313–318
18. Chernousova S., Epple M. Silver as antibacterial agent: ion, nanoparticle, and metal. *Ang. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2013, vol. 52, no. 6, pp. 1636–1653. doi: 10.1002/anie.201205923
19. Dos Santos C.A., Seckler M.M., Ingle A.P., Gupta I., Galdiero S., Galdiero M., Gade A., Rai M. Silver nanoparticles: therapeutic uses, toxicity, and safety issues. *J. Pharm. Sci.*, 2014, vol. 103, pp. 1931–1944. doi: 10.1002/jps.24001
20. El-Rafie H.M., Hamed M.A. Antioxidant and anti-inflammatory activities of silver nanoparticles biosynthesized from aqueous leaves extracts of four *Terminalia* species. *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, 2014, vol. 5, no. 3, pp. 35–37. doi: 10.1088/2043-6262/5/3/035008
21. Gromadzka-Ostrowska J., Dziendzikowska K., Lankoff A.A., Dobrzynska M., Instanes C., Brunborg G., Gajowik A., Radzikowska J., Wojewodzka M., Kruszewski M. Silver nanoparticles effects on epididymal sperm in rats. *Toxicol Lett.*, 2012, vol. 214, no. 3, pp. 251–258. doi: 10.1016/j.toxlet.2012.08.028
22. Qayyum S., Khan A.U. Nanoparticles vs biofilms: a battle against another paradigm of antibiotic resistance. *MedChemComm.*, 2016, vol. 7, no. 8, pp. 1479–1498. doi: 10.1039/C6MD00124F
23. Rai M., Yadav A., Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnol. Adv.*, 2009, vol. 27, no. 1, pp. 76–83. doi: 10.1016/j.biotechadv.2008.09.002
24. Roh J.Y., Park Y.K., Park K., Choi J. Ecotoxicological investigation of CeO₂ and TiO₂ nanoparticles on the soil nematode *Caenorhabditis elegans* using gene expression, growth, fertility, and survival as endpoints. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 2010, vol. 29, no. 2, pp. 167–172. doi: 10.1016/j.etap.2009.12.003
25. Shahare B., Yashpal M., Singh G. Toxic effects of repeated oral exposure of silver nanoparticles on small intestine mucosa of mice. *Toxicol. Mech. Methods*, 2013, vol. 23, no. 3, pp. 161–167. doi: 10.3109/15376516.2013.764950
26. Takenaka S., Kaerg E., Roth C., Schulz H., Ziesenis A., Heinzmann U., Schramel P., Heyder J. Pulmonary and systemic distribution of inhaled ultrafine silver particles in rats. *Environ. Health Perspect.*, 2001, vol. 109, suppl. 4, pp. 547–551. doi: 10.1289/ehp.01109s4547
27. Zhao F., Zhao Y., Liu Y., Chang X., Chen C., Zhao Y. Cellular uptake, intracellular trafficking, and cytotoxicity of nanomaterials. *Small*, 2011, vol. 7, no. 10, pp. 1322–1337. doi: 10.1002/smll.201100001

Авторы:

Гапон М.Н., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии водных объектов и микробной экологии человека ФБУН Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;

Иванова Е.А., младший научный сотрудник лаборатории микробиологии водных объектов и микробной экологии человека ФБУН Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;

Твердохлебова Т.И., д.м.н., директор ФБУН Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия; доцент кафедры эпидемиологии ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия;

Кантария А.В., врач-патологоанатом, зав. лабораторией ГБУ РО «Патологоанатомическое бюро», г. Ростов-на-Дону, Россия;

Тагиров З.Т., к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия;

Логинов И.А., к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии № 1 ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия;

Гапон Э.А., врач-эпидемиолог ФБУН Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия; ординатор ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия.

Authors:

Gapon M.N., PhD (Biology), Leading Researcher of Laboratory of Microbiology of Water Bodies and Human Microbial Ecology, Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology of Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russian Federation;

Ivanova E.A., Junior Researcher, Laboratory of Microbiology of Water Bodies and Human Microbial Ecology, Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology of Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russian Federation;

Tverdokhlebova T.I., DSc (Medicine), Director of the Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology of Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russian Federation; Associate Professor, Department of Epidemiology, Rostov State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation;

Kantaria A.V., Pathologist, Head of the Laboratory, Pathoanatomical Bureau, Rostov-on-Don, Russian Federation;

Tagirov Z.T., PhD (Medicine), Associate Professor of the Department of Pathological Physiology, Rostov State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation;

Loginov I.A., PhD (Medicine), Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology No. 1, Rostov State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation;

Gapon E.A., Epidemiologist, Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology of Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russian Federation; Resident, Rostov State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МИКРОБИОТЫ ЭНДОМЕТРИЯ С АНТИМИКРОБНЫМИ ПЕПТИДАМИ У ЖЕНЩИН С РАЗНЫМИ ФОРМАМИ БЕСПЛОДИЯ

К.В. Шалепо, К.В. Сторожева, А.А. Крысанова, О.В. Будиловская, Т.А. Хуснутдинова, А.А. Копылова, Н.И. Тапильская, А.М. Савичева, О.Н. Беспалова

ФГБНУ НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. *Введение.* Антимикробные пептиды, которые могут приводить к иммунным нарушениям и развитию воспаления в полости матки, находятся в тесном взаимодействии с микробным составом верхних и нижних репродуктивных путей. Взаимосвязь микробиоты полости матки и врожденной и адаптивной иммунной системы играет важную роль в поддержании сбалансированной среды для процессов имплантации эмбриона. Цель — оценка взаимодействия микробиоты эндометрия с антимикробными пептидами у женщин с разными формами бесплодия. *Материалы и методы.* Обследована 181 женщина репродуктивного возраста. I группу составили 165 женщин с бесплодием разного генеза, II группу 16 доноров ооцитов. В I группе выделены три подгруппы (IA — синехии в полости матки, IB — полипы эндометрия, IC — прочие формы бесплодия). Микробиоту эндометрия исследовали методом количественной ПЦР в реальном времени (Фемофлор 16, ДНК-технология, Москва). Дефензин (DEFa1), фактор роста фибробластов 2 (FGF2), трансформирующий фактор роста бета 1 (TGF- β 1) в эндометрии определяли методом ИФА (Cloud-Clone Corporation, Ухань, КНР). *Результаты.* В эндометрии наиболее часто выявлялись лактобациллы. В основной группе выявлены также *Atopobium vaginae*, *Enterobacteriaceae*, *Lachnobacterium* spp., *Mobiluncus* spp., *Peptostreptococcus*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* spp., а в группе сравнения эти микроорганизмы не выявлялись. У всех пациенток I группы, независимо от формы бесплодия, по сравнению со II группой были статистически значимо повышены DEFa1 ($p < 0,01$). Высокие концентрации DEFa1 также были обнаружены при выявлении *Atopobium vaginae* в полости матки у женщин с любыми формами бесплодия ($p < 0,001$). *Заключение.* Микробиота эндометрия и происходящие в нем иммунные изменения тесно взаимосвязаны. При бесплодии в полости матки повышается концентрация дефензинов (DEFa1), приводящая к нарушениям процессов имплантации эмбриона, а наличие микроорганизмов, особенно *Atopobium vaginae*, усугубляет эти нарушения.

Ключевые слова: дефензины, эндометрий, цитокины, трансформирующий фактор роста, бесплодие, микробиота.

Адрес для переписки:

Шалепо Кира Валентиновна
199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3,
ФГБНУ НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии
им. Д.О. Отта.
Тел.: 8 911 247-41-51.
E-mail: 2474151@mail.ru

Contacts:

Kira V. Shalepo
199034, Russian Federation, St. Petersburg, Mendeleevskaya
line, 3, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and
Reproductiveology named after D.O. Ott.
Phone: +7 911 247-41-51.
E-mail: 2474151@mail.ru

Для цитирования:

Шалепо К.В., Сторожева К.В., Крысанова А.А., Будиловская О.В., Хуснутдинова Т.А., Копылова А.А., Тапильская Н.И., Савичева А.М., Беспалова О.Н. Взаимодействие микробиоты эндометрия с антимикробными пептидами у женщин с разными формами бесплодия // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 46–56. doi: 10.15789/2220-7619-IBE-17808

Citation:

Shalepo K.V., Storozheva K.V., Krysanova A.A., Budilovskaya O.V., Khusnutdinova T.A., Kopylova A.A., Tapilskaya N.I., Savicheva A.M., Bespalova O.N. Interplay between endometrial microbiota and antimicrobial peptides in women with different infertility forms // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 46–56. doi: 10.15789/2220-7619-IBE-17808

Исследование выполнено в рамках научной темы ФНИ «Разработка диагностических критериев прогнозирования и преодоления репродуктивных потерь» (ФНИ № 1021062512052-5-3.2.2).

The study was carried out within the framework of the scientific topic of the Federal Research Institute "Development of diagnostic criteria for predicting and overcoming reproductive losses" (Federal Research Institute No. 1021062512052-5-3.2.2).

INTERPLAY BETWEEN ENDOMETRIAL MICROBIOTA AND ANTIMICROBIAL PEPTIDES IN WOMEN WITH DIFFERENT INFERTILITY FORMS

Shalepo K.V., Storozheva K.V., Krysanova A.A., Budilovskaya O.V., Khusnutdinova T.A., Kopylova A.A., Tapilskaya N.I., Savicheva A.M., Bepalova O.N.

The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Introduction. Antimicrobial peptides able to induce immune disorders and inflammation in the uterine cavity are tightly bound to microbial composition of the upper and lower reproductive tract. An interplay between uterine microbiota and innate and adaptive immune system is crucial for maintaining a balanced environment for embryo implantation processes. **Objective:** to evaluate an interplay between endometrial microbiota and antimicrobial peptides in women with different infertility forms. **Materials and methods.** A total of 181 reproductive age women were examined. Group I included 165 women with infertility of various origins, Group II included 16 oocyte donors. Group I was divided into three subgroups (IA — adhesions in the uterine cavity, IB — endometrial polyps, IB — other infertility forms). The endometrial microbiota was studied using quantitative real-time PCR (Femoflor 16, DNA-technology, Moscow). Defensin (DEFa1), fibroblast growth factor 2 (FGF2), transforming growth factor Beta1 (TGF- β 1) in the endometrium were determined using ELISA (Cloud-Clone Corporation, Wuhan, China). **Results.** Lactobacilli were most frequently detected in the endometrium. *Atopobium vaginae*, *Enterobacteriaceae*, *Lachnobacterium* spp., *Mobiluncus* spp., *Peptostreptococcus*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* spp. were also found in main group, but not in comparison group. All patients in group I, regardless of the infertility form, had significantly increased DEFa1 ($p < 0.01$) level compared to group II. High concentrations of DEFa1 were also found when *Atopobium vaginae* was detected in the uterine cavity of women with any infertility form ($p < 0.001$). **Conclusion.** The endometrial microbiota and related immune changes are closely interconnected. Infertility increases the concentration of defensins (DEFa1) in the uterine cavity, leading to disturbed processes of embryo implantation, whereas the presence of microorganisms primarily *Atopobium vaginae*, aggravates such alterations.

Key words: defensins, endometrium, cytokines, transforming growth factor, infertility, microbiota.

Введение

Проект «Микробиом человека» стал крупнейшим исследованием по описанию всех микроорганизмов, населяющих различные биотопы (дыхательные пути, полость рта, кожу, желудочно-кишечный и урогенитальный тракты) у 250 здоровых добровольцев США. Группа была разнообразной по этническому составу и другим демографическим характеристикам [18]. В исследовании была тщательно изучена микробиота влагалища, а полость матки традиционно считалась стерильной. Однако с развитием молекулярных технологий появляется все больше данных о существовании микробиоты эндометрия и ее возможном влиянии на репродуктивную функцию. Недавние исследования показали, что в полости матки сохраняется чрезвычайно низкая микробная популяция и содержится в 10 000 раз меньше бактерий, чем во влагалище. Из-за такой низкой биомассы не существует единого мнения о составе микробиоты эндометрия [7]. Предполагается, что микробиота женских репродуктивных путей играет ключевую роль в местных иммунных реакциях в полости матки, действующих во время беременности [9]. Это может означать, что последствия влияния дисбиотической микробиоты на репродуктивные исходы, возникающие в результате бактериальной инвазии из влагалища в полость матки, могут зависеть от реакции местной иммунной системы. Если иммунная система чрезмерно активна во время бактериальной инвазии, воз-

никает провоспалительное состояние, которое потенциально приводит либо к неудаче имплантации, либо к потере беременности [7]. Однако единого мнения о составе микробиоты эндометрия нет, поэтому ее роль в нормоценозе полости матки все еще остается актуальной темой.

В исследовании Mogeno и соавт. (2016) [13] было отмечено, что в составе микробиоты эндометрия в основном преобладают *Lactobacillus* spp. (> 90%). При доминировании таких бактерий как *Atopobium*, *Bifidobacterium*, *Gardnerella*, *Megasphaera*, *Prevotella*, *Sneathia* и *Streptococcus* у женщин имеют место более низкие показатели имплантации, наступления и пролонгирования беременности, рождения живого ребенка, а также высокая частота выкидышей [7].

Известно, что инфицирование полости матки стрептококками, стафилококками, энтерококками, а также *Escherichia coli* или *Klebsiella pneumoniae*, является фактором риска развития бесплодия и невынашивания беременности [14]. По данным Schoenmakers и Laven 2020 [22], относительное содержание *Lactobacillus crispatus* (> 60%) и *Lactobacillus iners* (> 60%) во влагалище может быть использовано для определения группы женщин с более высоким шансом наступления беременности при использовании вспомогательных репродуктивных технологий. Опубликованные обзоры исследований [15, 19] подтвердили, что доминирование лактобацилл в женских половых путях связано с лучшими репродуктивными исходами и результатами вспомогательных репродуктивных технологий.

Таким образом, успешная имплантация эмбриона и благоприятное течение беременности связаны с микробиомом, в котором преобладают *Lactobacillus* в женских репродуктивных путях. Напротив, нелактобациллярный тип микробиоценоза влагалища может способствовать развитию воспалительной реакции, влияющей на имплантацию эмбриона [10]. Более того, недостаток гликогена как в эндометрии, так и во влагалище может уменьшить количество видов *Lactobacillus* и тем самым помешать успешной имплантации [7].

Недавнее исследование показало, что у 141 женщины с повторными неудачами имплантации в 21 образце эндометрия были обнаружены *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, но при этом отсутствовали лактобациллы [26]. Кроме того, распространенность видов *Bacteroides* в эндометрии небеременных женщин была связана с повторными неудачами имплантации [24]. Другое исследование показало, что представители рода *Lactobacillus* при хроническом эндометрите выявляются реже, чем такие микроорганизмы как *Bifidobacterium*, *Prevotella*, *Gardnerella*, *Anaerococcus* и *Dialister* [12]. Известно, что эти микроорганизмы нарушают целостность эндометрия, что может привести к неудачной имплантации [6]. Дисбиоз влагалища и связанные с ним провоспалительные реакции могут повредить эпителиальный барьер шейки матки, что приводит к транслокации бактерий в эндометрий, а это может привести к локальному воспалению, препятствующему развитию беременности [4]. При микробном дисбалансе в эндометрии происходят изменения иммунного ответа и восприимчивость эндометрия снижается и нарушается имплантация эмбриона [5].

Дисбактериоз влагалища и/или эндометрия связан с повторными неудачами имплантации и выкидышами и в обоих случаях задействованы схожие механизмы. Более того, воспаление и нерегулируемая активация иммунной системы, по-видимому, влияют на целостность слизистой оболочки эндометрия, что приводит к неудачам имплантации, и впоследствии мешают восприимчивости эндометрия и процессам имплантации и плацентации, что приводит к невынашиванию беременности [7].

Эндометрий является важным барьером, основная функция которого заключается в обеспечении защиты и симбиоза между комменсальными микроорганизмами и иммунными факторами. Иммунная система слизистой оболочки полости матки уникальна, поскольку она циклически изменяется в течение менструального цикла в ответ на гормональные стимулы [2]. Иммунная система эндометрия играет решающую роль в репродукции, поскольку она

обеспечивает местную иммунную толерантность к фетальным/отцовским антигенам, инвазии трофобласта и ремоделированию сосудов, таким образом играя фундаментальную роль в имплантации и наступлении беременности [2]. Динамическое взаимодействие между микробиомом и иммунными факторами репродуктивной системы это сложная и быстро развивающаяся область исследований, открывающая огромные возможности для развития репродуктивной медицины. Эти взаимоотношения факторов иммунитета и микробиома влияют на врожденные и адаптивные иммунные реакции, тем самым способствуя возникновению и прогрессированию репродуктивных нарушений. Однако механизмы, управляющие этими взаимодействиями, остаются неуловимыми и требуют инновационных подходов для лучшего понимания процесса имплантации. Строение и правильная функция эндометрия необходимы для имплантации эмбриона, развития беременности и родов. Это результат действия многих факторов — анатомического и гистологического строения, гормональных эффектов и сигнальных путей на молекулярно-генетическом уровне. Имплантация эмбриона, вероятно, является одним из самых сложных процессов из-за сложной регуляции комбинированных медиаторов, таких как цитокины, липиды, молекулы адгезии и факторы роста. Чтобы обеспечить имплантацию, ткань эндометрия претерпевает морфологические изменения во время среднесекреторной фазы менструального цикла, также известной как имплантационное окно. Рецептивность эндометрия является ключом к имплантации эмбриона, и в этом конкретном контексте фундаментальную роль играют иммунологическая толерантность к антигенам плода и строго регулируемая экспрессия медиаторов воспаления.

Антимикробные молекулы, вырабатываемые в слизистой оболочке женских репродуктивных путей, находятся под значительным влиянием эстрогенов, которые по-разному действуют в верхних и нижних репродуктивных путях. Высокие уровни эстрогена, характерные для предовуляторного периода, увеличивают выработку некоторых антимикробных пептидов, таких как ингибитор секреторной лейкоцитарной пептидазы (SLPI), дефензин 1–2 (HBD 1–2) и элафин из эндометрия, но подавляет секрецию провоспалительных цитокинов, включая TNF α , макрофагальный воспалительный белок 3 α (MIP3 α , CCL20), IL-1 β , IL-6 и IL-8 из эпителиальных клеток матки [2]. Дефензины представляют собой катионные антибактериальные и противовирусные пептиды. Помимо прямых антимикробных функций, дефензины обладают иммуномодулирующей активностью и участвуют во многих физиологии-

ческих процессах. Исследования показали, что дефензины широко распространены в женских репродуктивных путях, играя двойную роль: защиты хозяина и защиты фертильности [25].

Во влагалище качественный и количественный состав микроорганизмов обуславливает высокий уровень экспрессии α -дефензина, с понижением численности микроорганизмов уровень экспрессии дефензинов снижается. Экспрессия дефензинов в эндометрии варьируется в зависимости от стадии менструального цикла и микробной инвазии. Дефензины также участвуют в местном иммунном ответе, регулируя риск спонтанных преждевременных родов.

Сигнальные молекулы факторов роста участвуют в ангиогенезе и эмбриональном развитии. Помимо прямого влияния на эндометрий факторы роста выступают в роли «эстромединов», то есть опосредуют эффекты стероидных гормонов. TGF — это мультифункциональный фактор роста, который регулирует клеточный рост, дифференцировку и апоптоз. TGF- β действует посредством усиления или подавления различных сигнальных путей, тем самым поддерживая имплантацию эмбриона; кроме того, TGF- β может усиливать адгезию трофобласта. У фертильных женщин в эндометрии продукция TGF- β выше, чем у женщин с повторными неудачами имплантации в программах ВРТ. Обсуждается роль TGF- β 1 в патогенезе невынашивания беременности. У женщин с неразвивающейся беременностью раннего срока отмечена пониженная экспрессия TGF- β 1 и его рецептора в ворсинах хориона и децидуальной ткани. Кроме того, TGF- β является одним из ключевых регуляторов иммунного ответа. В частности, TGF- β ингибирует натуральные киллеры, индуцирует периферические T-регуляторные клетки и контролирует развитие нескольких линий T-хелперов, что играет роль в обеспечении толерантности иммунной системы матери по отношению к полуаллогенному (в донорских программах ВРТ — аллогенному) эмбриону [1].

Факторы роста фибробластов (FGF) участвуют в ангиогенезе путем влияния на пролиферацию, миграцию и созревание эндотелиальных клеток при эмбриональном развитии, стимуляцию роста эндотелиальных клеток и организацию их в трубчатую структуру [1]. Взаимодействие с расположенными на поверхности клеток протеогликанами необходимо для передачи сигнала факторов роста фибробластов. Факторы роста фибробластов играют ключевую роль в процессах пролиферации и дифференцировки широкого спектра клеток и тканей с большим набором эффектов; чаще всего они являются митогенами, но также оказывают регуляторное, структурное и эндокрин-

ное воздействие. Успех имплантации эмбриона зависит от скоординированного развития сосудов и последующего поддержания границы между маткой и эмбрионом, чтобы обеспечить его адекватное питание.

Симбиотические отношения между микробиотой полости матки и врожденной и адаптивной иммунной системой играют фундаментальную роль в поддержании сбалансированной среды, поскольку эта мягкая бактериальная стимуляция может создавать потенциально благоприятную микросреду для имплантации эмбриона. С другой стороны, регулируемая стимуляция иммунной системы микробиотой может способствовать индукции толерантности к нестерильной сперме, проходящей через полость матки. Несмотря на имеющиеся достижения, мы подчеркиваем необходимость дальнейших исследований в этой области, поскольку более глубокое понимание взаимодействия иммунома и микробиома обещает создание инновационных диагностических и терапевтических стратегий репродуктивного здоровья, таких как лечение бесплодия и ведение беременности [11].

Целью нашего исследования была оценка взаимодействия микробиоты эндометрия с антимикробными пептидами у женщин с разными формами бесплодия.

Материалы и методы

В исследовании приняла участие 181 женщина репродуктивного возраста, из них было 165 женщин с бесплодием различного генеза (эти женщины составили I основную группу) и 16 условно здоровых женщин, являющихся донорами ооцитов (составили II группу сравнения). На основании анамнестических данных I группа была разделена на три подгруппы: IA — женщины с внутриматочными синехиями в анамнезе ($n = 12$), IB — женщины с полипэктомией в анамнезе ($n = 17$), IC — женщины с прочими формами бесплодия ($n = 136$). Все пациентки дали информированное письменное согласие на участие в исследовании.

Средний возраст пациенток с бесплодием составил 36,5 [33; 38,25] лет, в группе сравнения — 34 [29; 35] года. В подгруппах IA, IB и IC возраст, соответственно, был 35,5 [32,75; 37] лет, 37 [34; 39] лет и 35 [33; 38,75] лет.

Эндометрий получали при помощи эндобраш (Endobrush Standard For Endometrial Cytology; Laboratoire C.C.D., Франция) с соблюдением правил асептики и антисептики и помещали в пробирку с физиологическим раствором.

Микробиоту эндометрия исследовали с использованием метода амплификации нуклеи-

новых кислот, сигнальные молекулы иммунного ответа определяли с помощью иммуноферментного анализа.

Молекулярно-генетическое исследование микробиоты эндометрия. Для выделения ДНК использовали комплект реагентов «ДНК-сорб-АМ» (ООО «НекстБио», Москва, Россия), для постановки реакции использовали детектирующие амплификаторы «DT-96» и «DTprime» (ООО «ДНК-Технология», Россия).

Микробиоту эндометрия исследовали с использованием теста «Фемофлор-16» (ООО «ДНК-Технология», Москва). Тест основан на методе количественной ПЦР в режиме реального времени и позволяет определить количество ДНК искомого микроорганизма в образце, которое выражают в геномных эквивалентах (ГЭ) на пробу. Количество ГЭ пропорционально количеству клеток микроорганизма. С помощью теста определяли тотальную концентрацию бактериальной ДНК (ОБМ) и концентрацию (абсолютную и относительную) следующих видов/родов микроорганизмов: *Lactobacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/ Porphyromonas*, *Eubacterium*, *Sneathia/Leptotrichia/Fusobacterium*, *Megasphaera/Veillonella/Dialister*, *Lachnobacterium* spp./*Clostridium*, *Mobiluncus* spp./*Corynebacterium*, *Peptostreptococcus*, *Atopobium vaginae*. Кроме того, оценивали абсолютную концентрацию *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* spp. и *Candida*. ПЦР-анализ осуществляли согласно инструкции производителя.

Иммуноферментный анализ определения сигнальных молекул иммунного ответа. Сигнальные молекулы иммунного ответа — дефензин (DEFa1), фактор роста фибробластов 2 (FGF2), трансформирующий фактор роста бета 1 (TGF-β1) в эндометрии определяли с использованием метода иммуноферментного анализа (ELISA, ИФА) согласно инструкции к реактивам фирмы «Cloud-Clone Corporation» (Техас, США; производство Ухань, КНР). Ткань эндометрия отмывали охлажденным фосфатно-солевым буфером от крови, далее измельчали с помощью стеклянного гомогенизатора на льду. Полученную суспензию обрабатывали ультразвуком до осветления. Образцы центрифугировали в течение 15 мин при скорости 1000g, после чего их аликвотировали и хранили при температуре -80°C. Перед проведением ИФА образцы размораживали. Дополнительно для определения TGF-β1 к 100 мкл супернатанта добавляли активирующий реагент, и концентрацию образцов умножали на коэффициент разведения 1,4. Оптическую плотность измеряли при длине волны 450 нм. На основании полученных значений стандартов строили стандартную кривую. Стандарты титровали. Концентрацию стандар-

тов отмечали по оси Y, а значения оптической плотности — по оси X. Минимальная определяемая концентрация DEFa1 была 0,125 нг/мл, для FGF2 — 5,5 пг/мл, для TGF-β1 — 5,7 пг/мл (согласно инструкции к тесту).

Статистический анализ. Настоящее исследование являлось описательным, а не сравнительным (за исключением внутригруппового анализа полученных данных), поэтому никакие статистические гипотезы предварительно не определялись. Статистический учет собранного материала проводили с помощью электронной таблицы Microsoft Office Excel. Обработку результатов осуществляли с применением статистической программы для персонального компьютера SPSS. Анализ сочетания микроорганизмов выполняли с применением критерия согласия хи-квадрат (χ^2) Пирсона и определением коэффициента корреляции (ϕ). Во всех случаях критический уровень значимости принимался при $p < 0,05$.

Результаты

При анализе микробиоты эндометрия установлено, что чаще всего выявлялись микроорганизмы рода *Lactobacillus*, что характерно для физиологического микробиоценоза. У пациенток I группы лактобациллы встречались с частотой 64,2%, а во II группе в 19% случаев, различие статистически значимо ($p < 0,001$). Среди женщин с бесплодием частота выявления *Gardnerella vaginalis* была одинаковой с частотой их обнаружения в группе доноров ооцитов, *Atopobium vaginae* выявлялась с частотой 8% в основной группе и не выявлялась в группе сравнения. Та же картина наблюдалась относительно других микроорганизмов, таких как *Enterobacteriaceae*, *Lachnobacterium* spp., *Mobiluncus* spp., *Peptostreptococcus*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* spp. В основной группе эти микроорганизмы были выявлены в единичных случаях, а в группе сравнения не были обнаружены ни в одном случае. Эти данные представлены на рисунке.

При сравнении частоты обнаружения микроорганизмов в полости матки в трех подгруппах и в группе сравнения существенной разницы не было обнаружено. Хотя в подгруппе IA несколько чаще по сравнению с подгруппой IB выявлялись *Ureaplasma (urealiticum+parvum)* — частота их обнаружения составила, соответственно, 16,7% и 5,9%. *Atopobium vaginae* выявлялись в подгруппе IA с частотой 33,3%, в подгруппе IB — 5,88%. *G. vaginalis* были обнаружены в подгруппе IA в 16,67% случаев, а в подгруппе IB эти микроорганизмы не были обнаружены вообще. Подгруппа IB ничем не отличалась от основной группы.

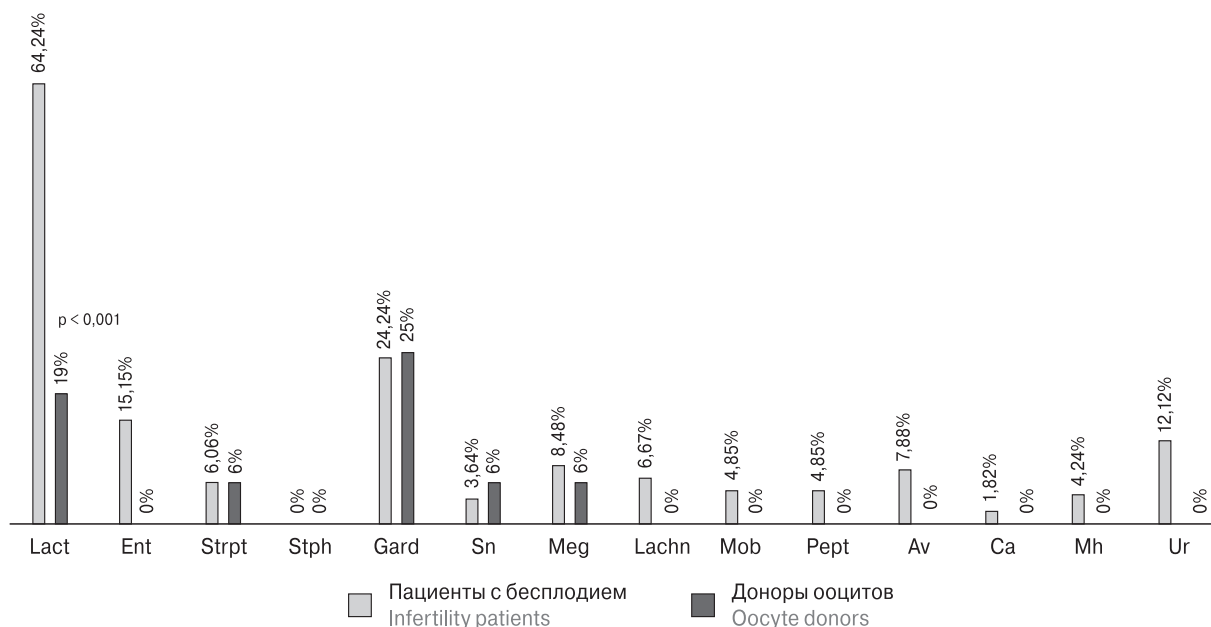


Рисунок. Частота обнаружения отдельных групп микроорганизмов в полости матки у женщин I и II групп

Figure. Frequency of detection of individual groups of microorganisms in the uterine cavity in women of groups I and II

Примечание/Note. Lact — *Lactobacillus* spp.; Ent — *Enterobacteriaceae*; Strpt — *Streptococcus* spp.; Sph — *Staphylococcus* spp.; Gard — *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas* spp.; Eub — *Eubacterium* spp.; Sn — *Snethia* spp./*Leptotrichia* spp./*Fusobacterium* spp.; Meg — *Megasphaera* spp./*Veillonella* spp./*Dialister* spp.; Lachn — *Lachnobacterium* spp./*Clostridium* spp.; Mob — *Mobilincus* spp./*Corynebacterium* spp.; Pept — *Peptostreptococcus* spp.; Av — *Atopobium vaginae*; Ca — *Candida* spp.; Mh — *Mycoplasma hominis*; Ur — *Ureaplasma* spp.

Таблица 1. Концентрация DEFa1, TGF-β1, FGF2 в эндометрии женщин сравниваемых групп

Table 1. Concentration of DEFa1, TGF-β1, FGF2 in the endometrium of women in the compared groups

Факторы локального иммунитета Local immunity factors	Основная группа Main group	Группа сравнения Control group	U	W	Z	p
	Синехии (IA) Synechiae (IA)	Доноры ооцитов Oocyte donors				
FGF2	19,83 [14,531; 22,28]	18,6145 [15,1675; 19,625]	64.000	200.000	-0.453	p > 0,05
TGF-β1	7,73 [5,556; 9,727]	7,56 [4,8725; 10,28]	65.000	201.000	-0.396	p > 0,05
DEFa1	1,073 [0,806; 1,56]	0,615 [0,49275; 0,66125]	11.500	147.500	-3.426	p < 0,001
	Полипэктомия (IB) Polypectomy (IB)	Доноры ооцитов Oocyte donors				
FGF2	33,115 [24,278; 36,962]	18,6145 [15,1675; 19,625]	57.500	193.500	-2.040	p < 0,05
TGF-β1	2,315 [1,376; 5,335]	7,56 [4,8725; 10,28]	34.000	125.000	-3.070	p < 0,001
DEFa1	1,025 [0,948; 1,235]	0,615 [0,49275; 0,66125]	22.500	158.500	-3.575	p < 0,001
	Прочие (IC) Others (IC)	Доноры ооцитов Oocyte donors				
FGF2	19,037 [14,66; 25,41]	18,6145 [15,1675; 19,625]	637.500	757.500	-0.533	p > 0,05
TGF-β1	5,42 [3,079; 8,65]	7,56 [4,8725; 10,28]	555.000	4926.000	-1.619	p > 0,05
DEFa1	0,888 [0,646; 1,179]	0,615 [0,49275; 0,66125]	343.000	479.000	-3.434	p < 0,001
	Все пациентки с бесплодием (I) All infertility patients (I)	Доноры ооцитов Oocyte donors				
FGF2	19,335 [14,8005; 31,741]	18,6145 [15,1675; 19,625]	801.500	937.500	-0.833	p > 0,05
TGF-β1	5,335 [2,93; 8,519]	7,56 [4,8725; 10,28]	668.000	7338.000	-1.771	p > 0,05
DEFa1	0,927 [0,6565; 1,1925]	0,615 [0,49275; 0,66125]	377.000	513.000	-3.817	p < 0,001

Таблица 2. Концентрация DEFa1, TGF-β1, FGF2 у всех пациенток с бесплодием в зависимости от выявления микроорганизмов в полости матки (критерий Mann–Whitney U)

Table 2. Concentration of DEFa1, TGF-β1, FGF2 in all patients with infertility depending on the detection of microorganisms in the uterine cavity (Mann–Whitney U criterion)

Факторы локального иммунитета Local immunity factors	Сравниваемые микроорганизмы Compared microorganisms	Сравниваемые микроорганизмы Compared microorganisms	U	W	Z	p
	A. vaginae обнаружены <i>A. vaginae</i> were detected (17,39%)	A. vaginae не обнаружены <i>A. vaginae</i> were not detected (82,61%)				
FGF2	18,1055 [13,7345; 22,60725]	19,492 [15,0255; 34,195]	756.500	966.500	-1.428	p > 0,05
TGF-β1	4,561 [2,7265; 9,3495]	5,42 [2,9555; 8,519]	937.000	1147.000	-0.096	p > 0,05
DEFa1	1,0915 [0,86225; 2,07925]	0,888 [0,6515; 1,1655]	494.000	5054.000	-3.365	p < 0,001
	G. vaginalis обнаружены <i>G. vaginalis</i> were detected (25,22%)	G. vaginalis не обнаружены <i>G. vaginalis</i> were not detected (74,78%)				
FGF2	19,492 [15, 516; 25,41]	19,077 [14,5635; 32,50175]	1170.500	4911.500	-0.493	p > 0,05
TGF-β1	6,01 [3,66; 9,8]	5,1495 [2,4075; 8,3785]	1053.500	4794.500	-1.246	p > 0,05
DEFa1	0,996 [0,653; 1,698]	0,916 [0,665; 1,15]	1109.500	4850.500	-0.886	p > 0,05
	Peptostreptococcus spp. обнаружены <i>Peptostreptococcus</i> spp. were detected (9,57%)	Peptostreptococcus spp. не обнаружены <i>Peptostreptococcus</i> spp. were not detected (90,43%)				
FGF2	22,28 [19,4135; 41,45]	19,0455 [14,62775; 26,22875]	403.500	5863.500	-1.602	p > 0,05
TGF-β1	5,86 [5,28; 7,925]	5,1495 [2,785; 8,6125]	449.000	5909.500	-1.165	p > 0,05
DEFa1	1,464 [0,6315; 2,1636]	0,916 [0,675; 1,1685]	487.500	5947.500	-0.804	p > 0,05
	Ureaplasma spp. обнаружены <i>Ureaplasma</i> spp. were detected (11,30%)	Ureaplasma spp. не обнаружены <i>Ureaplasma</i> spp. were not detected (88,70%)				
FGF2	18,5 [16,25; 20,3]	19,3675 [14,78025; 33,1315]	555.500	646.500	-0.950	p > 0,05
TGF-β1	6,76 [4,204; 8,79]	5,28 [2,825; 8,3785]	560.500	5813.500	-0.905	p > 0,05
DEFa1	1,023 [0,497; 1,188]	0,903 [0,665; 1,19375]	639.500	5892.500	-0.208	p > 0,05
	Lactobacillus spp. обнаружены <i>Lactobacillus</i> spp. were detected (60,00%)	Lactobacillus spp. не обнаружены <i>Lactobacillus</i> spp. were not detected (40,00%)				
FGF2	18,846 [14,166; 32,297]	19,335 [14,8005; 31,741]	1412.000	3827.000	-0.999	p > 0,05
TGF-β1	5,42 [2,77; 8,79]	5,335 [2,93; 8,519]	1449.500	2530.500	-0.785	p > 0,05
DEFa1	1,001 [0,807; 1,336]	0,888 [0,6565; 1,1925]	1051.000	2132.000	-3.060	p < 0,005
	A. vaginae обнаружены, Lactobacillus spp. обнаружены <i>A. vaginae</i> were detected, <i>Lactobacillus</i> spp. were detected (75,00%)	A. vaginae обнаружены, Lactobacillus spp. не обнаружены <i>A. vaginae</i> were detected, <i>Lactobacillus</i> spp. were not detected (25,00%)				
FGF2	17,278 [13,303; 23,2415]	19,054 [17,482; 19,931]	34.500	154.500	-0.262	p > 0,05
TGF-β1	4,872 [2,683; 14,3425]	4,25 [3,66; 6,01]	31.000	46.000	-0.567	p > 0,05
DEFa1	1,235 [1,0095; 2,478]	0,646 [0,497; 0,746]	3.000	18.000	-3.011	p < 0,001

Мы провели сравнительный анализ определения концентрации DEFa1, TGF- β 1, FGF2 в эндометрии в основной группе с учетом возможной причины бесплодия и в группе сравнения. Эти данные представлены в табл. 1.

Как показано в табл. 1, при исследовании эндометрия на экспрессию FGF2, TGF- β 1, DEFa1, было установлено, что у всех пациенток I группы и у всех пациенток подгрупп (IA, IB и IB) по сравнению с пациентками II группы были статистически значимо повышены DEFa1 ($p < 0,01$).

В отличие от других групп пациенток, в подгруппе IB (с полипэктомией в анамнезе) в эндометрии было отмечено достоверное снижение концентрации TGF- β 1 в основной группе в сочетании с повышением концентрации FGF2, DEFa1.

Кроме всего прочего, мы сравнили экспрессию сигнальных молекул иммунного ответа в эндометрии в зависимости от выявленных доминирующих микроорганизмов. Так, при выявлении *Atopobium vaginae* в полости матки у женщин с бесплодием отмечено достоверное повышение концентрации DEFa1. При исследовании отделяемого полости матки на экспрессию FGF2, TGF- β 1, DEFa1, у пациенток с бесплодием были получены следующие результаты: достоверное повышение концентрации DEFa1 при выявлении *Atopobium vaginae* в полости матки ($p < 0,001$); достоверные различия концентрации DEFa1 в зависимости от наличия *Lactobacillus* spp. в полости матки ($p < 0,005$).

При сравнении концентрации DEFa1 в случае выявления *Atopobium vaginae* в полости матки в зависимости от наличия/отсутствия *Lactobacillus* spp. выявлены достоверные различия. При выявлении *Lactobacillus* spp. определяется более высокая концентрация DEFa1 ($p < 0,001$). Эти данные приведены в табл. 2.

В группе с бесплодием лактобациллы в эндометрии обнаружены у 41,8% женщин. Среди них у 34,8% были обнаружены только лактобациллы, у 65,2% кроме лактобацилл были обнаружены и другие микроорганизмы. У 58,2% — лактобациллы не были обнаружены в эндометрии и у 12,7% в эндометрии микроорганизмы отсутствовали.

Таким образом, нами показано, что микроорганизмы в полости матки коррелируют с уровнем цитокинов и противомикробных пептидов. Состав микробиоты эндометрия с разнообразием микроорганизмов и отсутствием *Lactobacillus* может спровоцировать воспаление, затруднить восприимчивость эндометрия к имплантации эмбриона и привести к развитию различной патологии в эндометрии. Наличие лактобацилл является положительным предиктором наступления беременности. Факторы роста пока-

зали статистически значимые различия только в подгруппе у пациенток с полипэктомией в анамнезе.

Обсуждение

Механизмы взаимодействия между иммунными факторами и микробиомом в эндометрии — сложная и быстро развивающаяся область исследований. Исследования взаимоотношений между иммунитетом и микробиомом открывают огромные возможности для развития репродуктивной медицины. Врожденные и адаптивные иммунные реакции на микробиом влияют на возникновение и прогрессирование репродуктивных нарушений. Однако механизмы, управляющие этими взаимодействиями, остаются неизвестными и требуют инновационных подходов. Известно, что микробиота эндометрия имеет меньшую биомассу и разнообразие, чем влагалище. Дисбаланс микробиоты эндометрия может вызывать повторные неудачи имплантации, невынашивание беременности, эндометриоз, эндометрит, полипы эндометрия, гиперплазию и рак эндометрия [11].

Экспрессия дефензинов в эндометрии варьируется в зависимости от стадий менструального цикла и микробной инвазии. Дефензины участвуют в локальном иммунном ответе, регулируя риск спонтанных преждевременных родов [25]. Клинические исследования выявили уменьшение уровня дефензина у женщин с бактериальным вагинозом. Эффективное лечение БВ нормализует уровни дефензина, что позволяет предположить, что низкие уровни дефензина связаны с этим заболеванием. Было высказано предположение, что более низкие уровни дефензинов во влагалище у женщин репродуктивного возраста при наличии БВ могут быть обусловлены продукцией протеаз большим количеством разнообразных микроорганизмов при БВ [17]. По нашим данным, у всех пациенток с разными формами бесплодия по сравнению с группой доноров ооцитов выявление *Lactobacillus* достоверно сочеталось с увеличением концентрации DEFa1. Кроме того, наше исследование показало, что при обнаружении *G. vaginalis* и *Fannyhessea vaginae* (*Atopobium vaginae*) в полости матки у женщин с бесплодием уровень дефензинов был значительно ниже, чем в группе сравнения. Возможно, это связано с тем, что в полости матки чрезвычайно низкая микробная популяция и содержится в 10 000 раз меньше бактерий [7], чем во влагалище, поэтому количество протеаз недостаточно, чтобы уменьшить уровень дефензина в эндометрии.

Другое проспективное исследование показало относительное доминирование видов уреа-

плазм в ткани эндометрия как независимый фактор риска последующего выкидыша после переноса эмбрионов с эуплоидным кариотипом [21]. По нашим данным у пациенток с бесплодием во всех подгруппах в эндометрии обнаружены *Ureaplasma spp.*

Предполагается, что даже незначительные нарушения в деликатных отношениях между микробиотой и иммунной системой могут существенно повлиять на репродуктивное здоровье, потенциально приводя к дисбактериозу, воспалению и различным репродуктивным нарушениям. Поэтому понимание сложных взаимосвязей микробиома и факторов иммунной защиты имеет большое научное и практическое значение. Так, инфекции, ассоциированные с микроорганизмами рода *Fusobacterium*, вызывают врожденный иммунный ответ, активируют сигнальные пути TGF- β и способствуют трансформации фибробластов эндометрия в миофибробласты, что в итоге способствует развитию эндометриоза. Это исследование впервые продемонстрировало связь между микробиомом, иммунной дисфункцией и развитием эндометриоза [16]. По нашим данным, имелось достоверное повышение концентрации TGF- β 1 в эндометрии у женщин с бесплодием при обнаружении *G. vaginalis* по сравнению с группой сравнения. В нашем предыдущем исследовании было показано, что уровни TGF- β 1, bFGF2 и DEFa1 достоверно коррелировали только с наличием *Peptostreptococcus spp.* и ВПЧ в эндометрии. Кроме того, анализ концентрации эндометриальных цитокинов и α -дефензинов выявил их достоверную корреляцию с наличием в анамнезе рецидивирующей инфекции ВПГ [23].

Хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) регулирует экспрессию четырех белков в эндометрии человека, а именно: IL-11, CXCL10, GM-CSF и FGF2. Экспрессия FGF2 в эндометрии человека *in vivo* увеличивается во время секреторной фазы менструального цикла и остается высокой в течение первого триместра беременности. FGF2 обеспечивает адгезию трофэктодермы к внутренней клеточной массе (ICM) и коллагену типа IV. Полипы эндометрия представляют собой aberrантные разрастания, состоящие из желез, стромы и кровеносных сосудов с сосудистым центром, распространяющиеся в полость матки. Их размер варьируется от нескольких миллиметров до нескольких сантиметров [8]. По данным проведенного нами исследования, у пациенток с полипэктомией в анамнезе (ИБ) и у женщин группы сравнения были получены достоверное снижение концентрации TGF- β 1 в сочетании с повышением концентрации FGF2, DEFa1. Регуляторные Т-клетки оказывают мощные

противовоспалительные, иммуносупрессивные и сосудорегуляторные функции, необходимые для наступления беременности. За счет высвобождения цитокинов, включая TGF- β происходит корреляция воспаления и поддержания гомеостаза [20].

В настоящее время факторам роста в эндометрии уделяется большое внимание, но данные очень противоречивы. Обсуждается роль TGF- β 1 в патогенезе невынашивания беременности. В эндометрии у фертильных женщин продукция TGF- β 1 выше, чем у женщин с повторными неудачами имплантации в программах ВРТ [1]. В нашем исследовании также уровень TGF- β 1 был статистически значимо ниже ($p < 0,001$) при сравнении пациенток из подгруппы с полипэктомией в анамнезе по сравнению с фертильными женщинами. У женщин с неразвивающимися беременностями раннего срока после ЭКО отмечена пониженная экспрессия TGF- β 1 и его рецептора в децидуальной и интерстициальной оболочках, ворсинчатой ткани [1].

Недавние исследования показали, что уровень FGF2 в лаваже маточной жидкости фертильных и бесплодных женщин не различался [3]. Это подтверждается и нашим исследованием, однако в подгруппе с полипэктомией в анамнезе мы видим повышение содержания FGF2, что, возможно, связано с присутствием кровеносных сосудов в полипах. В группе женщин с бесплодием нами выявлено небольшое повышение FGF2 и понижение TGF- β 1, но это статистически не значимо. Статистически значимое повышение ($p < 0,001$) у женщин с идиопатическим бесплодием по сравнению с фертильными пациентками отмечено только для DEFa1.

В предыдущем исследовании было показано достоверное снижение эндометриального TGF- β 1 и bFGF2 и увеличение DEFa1 у женщин с идиопатическим бесплодием по сравнению с фертильными пациентками [23].

Уровни провоспалительных цитокинов и антимикробных пептидов повышаются во время гормональных изменений. Выработка цитокинов играет решающую роль в ответ на различную микробиоту. Однако длительная выработка цитокинов может ослабить эпителиальный барьер и повысить восприимчивость к инфекции [11].

Несмотря на многочисленные литературные данные, необходимы дальнейшие исследования с целью понимания взаимодействия иммунома и микробиома, что откроет перспективы для инновационных диагностических и терапевтических стратегий в области репродуктивного здоровья, таких как лечение бесплодия и ведение беременности.

Заключение

Наличие микроорганизмов в эндометрии приводит к модуляции иммунной системы и патологическим процессам в полости матки с развитием бесплодия. Наличие или отсутствие лактобацилл в полости матки является ключом к имплантации эмбриона.

Взаимодействие микробиома и иммунома в полости матки представляет собой сложную систему и влияет на врожденные и адаптивные иммунные реакции, тем самым способствуя возникновению и прогрессированию репродуктивных расстройств. Это многообещающая область исследований со значительным потенциалом для репродуктивной медицины.

Наше исследование показало, насколько тесно взаимосвязаны микробиота эндометрия, происходящие в нем иммунные изменения и клинические проявления бесплодия. В связи с этим необходим пересмотр клинических рекомендаций по лечению пациенток с разными формами бесплодия.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом «ФГБНУ НИИ АГиР им. Д.О. Отта», протокол № 114 от 14.12.2021.

Список литературы/References

1. Савина В.А., Исакова Э.В., Корсак В.С. Роль факторов роста в терапевтическом эффекте, вызываемом в эндометрии действием плазмы, обогащенной тромбоцитами (обзор литературы) // Проблемы репродукции. 2020. Т. 26, № 5. С. 91–98. [Savina V.A., Isakova E.V., Korsak V.S. The role of growth factors in the therapeutic effect of platelet-rich plasma on the endometrium (review) *Problemy reproduksii = Russian Journal of Human Reproduction*, 2020, vol. 26, no. 5, pp. 91–98. (In Russ.)] doi: 10.17116/repro20202605191
2. Agostinis C., Mangogna A., Bossi F., Ricci G., Kishore U., Bulla R. Uterine immunity and microbiota: a shifting paradigm. *Front. Immunol.*, 2019, no. 10: 2387. doi: 10.3389/fimmu.2019.02387
3. Alves A.R., Dias M.F., Silvestre M. Endometrial fluid biomarkers and their potential as predictors of successful embryo implantation. *Biomedicine (Taipei)*. 2023, vol. 13, no. 3, pp. 1–8. doi: 10.37796/2211-8039.1413
4. Borgdorff H., Gautam R., Armstrong S.D., Xia D., Ndayisaba G.F., van Teijlingen N.H., Geijtenbeek T.B., Wastling J.M., van de Wijgert J.H. Cervicovaginal microbiome dysbiosis is associated with proteome changes related to alterations of the cervicovaginal mucosal barrier. *Mucosal. Immunol.*, 2016, vol. 9, pp. 621–633. doi: 10.1038/mi.2015.86
5. Chen P., Chen P., Guo Y., Fang C., Li T. Interaction Between chronic endometritis caused endometrial microbiota disorder and endometrial immune environment change in recurrent implantation failure. *Front. Immunol.*, 2021, no. 12: 748447. doi: 10.3389/fimmu.2021.748447
6. Cicinelli E., Matteo M., Tinelli R., Lepera A., Alfonso R., Indraccolo U., Marrocchella S., Greco P., Resta L. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy. *Hum. Reprod.*, 2015, vol. 30, pp. 323–330. doi: 10.1093/humrep/deu292
7. Gao X., Louwers Y.V., Laven J.S.E., Schoenmakers S. Clinical relevance of vaginal and endometrial microbiome investigation in women with repeated implantation failure and recurrent pregnancy loss. *Int. J. Mol. Sci.*, 2024, vol. 25, no. 1: 622. doi: 10.3390/ijms25010622
8. Hur C., Rehmer J., Flyckt R., Falcone T. Uterine factor infertility: a clinical review. *Clin. Obstet. Gynecol.*, 2019, vol. 62, no. 2, pp. 257–270. doi: 10.1097/GRF.0000000000000448
9. Koedooder R., Mackens S., Budding A., Fares D., Blockeel C., Laven J., Schoenmakers S. Identification and evaluation of the microbiome in the female and male reproductive tracts. *Hum. Reprod. Update*. 2019, vol. 25, pp. 298–325. doi: 10.1093/humupd/dmy048
10. Lebedeva O.P., Popov V.N., Syromyatnikov M.Y., Starkova N.N., Maslov A.Y., Kozarenko O.N., Gryaznova M.V. Female reproductive tract microbiome and early miscarriages. *Apmis*. 2023, vol. 131, pp. 61–76. doi: 10.1111/apm.13288
11. Lingasamy P., Modhukur V., Māndar R., Salumets A. Exploring immunome and microbiome interplay in reproductive health: current knowledge, challenges, and novel diagnostic tools. *Semin. Reprod. Med.*, 2023, vol. 41, no. 5, pp. 172–189. doi: 10.1055/s-0043-1778017
12. Liu Y., Ko E.Y., Wong K.K., Chen X., Cheung W.C., Law T.S., Chung J.P., Tsui S.K., Li T.C., Chim S.S. Endometrial microbiota in infertile women with and without chronic endometritis as diagnosed using a quantitative and reference range-based method. *Fertil. Steril.*, 2019, vol. 112, pp. 707–717.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.05.015
13. Moreno I., Codoñer F.M., Vilella F., Valbuena D., Martinez-Blanch J.F., Jimenez-Almazán J., Alonso R., Alamá P., Remohí J., Pellicer A., Ramon D., Simon C. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2016, 215, 684–703. doi: 10.1016/j.ajog.2016.09.075
14. Moreno I., Simon C. Relevance of assessing the uterine microbiota in infertility. *Fertil. Steril.*, 2018, vol. 110, pp. 337–343. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.04.041
15. Mrozikiewicz A.E., Ożarowski M., Jędrzejczak P. Biomolecular markers of recurrent implantation failure—a review. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22, no. 18: 10082. doi: 10.3390/ijms221810082
16. Muraoka A., Suzuki M., Hamaguchi T., Watanabe S., Iijima K., Murofushi Y., Shinjo K., Osuka S., Hariyama Y., Ito M., Ohno K., Kiyono T., Kyo S., Iwase A., Kikkawa F., Kajiyama H., Kondo Y. Fusobacterium infection facilitates the development of endometriosis through the phenotypic transition of endometrial fibroblasts. *Sci. Transl. Med.*, 2023, vol. 15, no. 700: eadd1531. doi: 10.1126/scitranslmed.add1531

17. Noda-Nicolau N.M., Silva M.C., Bento G.F.C., Ferreira J.S.B., Novak J., Morales J.A.P., Tronco J.A., Bolpetti A.N., Pinto G.V.S., Poletini J., Marconi C., Silva M.G.D. Cervicovaginal levels of human beta defensins during bacterial vaginosis. *PLoS One*, 2021, vol. 16, no. 12: e0260753. doi: 10.1371/journal.pone.0260753
18. Peterson J., Garges S., Giovanni M., McInnes P., Wang L., Schloss J.A., Bonazzi V., McEwen J.E., Wetterstrand K.A., Deal C., Baker C.C., Di Francesco V., Howcroft T.K., Karp R.W., Lunsford R.D., Wellington C.R., Belachew T., Wright M., Giblin C., David H., Mills M., Salomon R., Mullins C., Akolkar B., Begg L., Davis C., Grandison L., Humble M., Khalsa J., Little A.R., Peavy H., Pontzer C., Portnoy M., Sayre M.H., Starke-Reed P., Zakhari S., Read J., Watson B., Guyer M., NIH HMP Working Group. The NIH human microbiome project. *Genome Res.*, 2009, vol. 19, no. 12, pp. 2317–2323. doi: 10.1101/gr.096651.109
19. Punzón-Jiménez P., Labarta E. The impact of the female genital tract microbiome in women health and reproduction: a review. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 2021, vol. 38, pp. 1–23. doi: 10.1007/s10815-021-02247-5
20. Robertson S.A., Moldenhauer L.M., Green E.S., Care A.S., Hull M.L. Immune determinants of endometrial receptivity: a biological perspective. *Fertil. Steril.*, 2022, vol. 117, no. 6, pp. 1107–1120. doi: 10.1016/j.fertnstert.2022.04.023
21. Shi Y., Yamada H., Sasagawa Y., Tanimura K., Deguchi M. Uterine endometrium microbiota and pregnancy outcome in women with recurrent pregnancy loss. *J. Reprod. Immunol.*, 2022, no. 152: 103653. doi: 10.1016/j.jri.2022.103653
22. Schoenmakers S., Laven J. The vaginal microbiome as a tool to predict IVF success. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*, 2020, vol. 32, no. 3, pp. 169–178. doi: 10.1097/GCO.0000000000000626
23. Tapilskaya N.I., Savicheva A.M., Shalepo K.V., Budilovskaya O.V., Gzgzyan A.M., Bepalova O.N., Khusnutdinova T.A., Krysanova A.A., Obedkova K.V., Safarian G.K. Local immune biomarker expression depending on the uterine microbiota in patients with idiopathic infertility. *Int. J. Mol. Sci.*, 2023, vol. 24, no. 8: 7572. doi: 10.3390/ijms24087572
24. Vitale S.G., Ferrari F., Ciebiera M., Zgliczyńska M., Rapisarda A.M.C., Vecchio G.M., Pino A., Angelico G., Knafel A., Riemma G., De Franciscis P., Cianci S. The role of genital tract microbiome in fertility: a systematic review. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 23, no. 1: 180. doi: 10.3390/ijms23010180
25. Zhai Y.J., Feng Y., Ma X., Ma F. Defensins: defenders of human reproductive health. *Hum. Reprod. Update*, 2023, vol. 29, no. 1, pp. 126–154. doi: 10.1093/humupd/dmac032
26. Zou Y., Liu X., Chen P., Wang Y., Li W., Huang R. The endometrial microbiota profile influenced pregnancy outcomes in patients with repeated implantation failure: a retrospective study. *J. Reprod. Immunol.*, 2023, no. 155: 103782. doi: 10.1016/j.jri.2022.103782

Авторы:

Шалепо К.В., к.б.н., старший научный сотрудник группы экспериментальной микробиологии ФГБНУ НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия;

Сторожева К.В., аспирант ФГБНУ НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия;

Крысанова А.А., к.м.н., старший научный сотрудник группы экспериментальной микробиологии ФГБНУ НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия;

Будилловская О.В., к.м.н., старший научный сотрудник группы экспериментальной микробиологии ФГБНУ НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия;

Хуснутдинова Т.А., к.м.н., старший научный сотрудник группы экспериментальной микробиологии ФГБНУ НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия;

Копылова А.А., аспирант ФГБНУ НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия;

Тапильская Н.И., д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник отдела репродукции ФГБНУ НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия;

Савичева А.М., д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, зав. отделом медицинской микробиологии ФГБНУ НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия;

Беспалова О.Н., д.м.н., зам. директора по научной работе ФГБНУ НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Shalepo K.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Experimental Microbiology Group, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russian Federation;

Storozheva K.V., PhD Student, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russian Federation;

Krysanova A.A., PhD (Medicine), Senior Researcher, Experimental Microbiology Group, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russian Federation;

Budilovskaya O.V., PhD (Medicine), Senior Researcher, Experimental Microbiology Group, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russian Federation;

Khusnutdinova T.A., PhD (Medicine), Senior Researcher, Experimental Microbiology Group, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russian Federation;

Kopylova A.A., PhD Student, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russian Federation;

Tapilskaya N.I., DSc (Medicine), Professor, Leading Researcher, Reproduction Department, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russian Federation;

Savicheva A.M., DSc (Medicine), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Head of the Department of Medical Microbiology, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russian Federation;

Bepalova O.N., DSc (Medicine), Deputy Director for Scientific Work, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, St. Petersburg, Russian Federation.

ГЕНОМНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ТОКСИГЕННЫХ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAЕ* O1 БИОВАРА ЭЛЬ ТОР, ВЫДЕЛЕННЫХ В ПЕРИОД ТРЕХ ВОЛН СЕДЬМОЙ ПАНДЕМИИ ХОЛЕРЫ

Н.И. Смирнова, Д.А. Рыбальченко, Ю.В. Лозовский, Я.М. Краснов, Е.Ю. Щелканова, А.В. Федоров, В.В. Кутырев

ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия

Резюме. Введение. Высокая вариабельность генома возбудителя седьмой пандемии холеры *V. cholerae* Эль Тор привела к возникновению различных генетических вариантов, имеющих разный набор измененных генов, кодирующих факторы патогенности и резистентность к антибиотикам. Цель работы — анализ динамики изменения генов патогенности, эпидемичности и лекарственной устойчивости токсигенных штаммов *V. cholerae* Эль Тор из России и эндемичных по холере регионов, выделенных в период трех волн текущей пандемии, и их филогенетический анализ. **Материалы и методы.** Использовали нуклеотидные последовательности полных геномов 155 токсигенных штаммов *V. cholerae* Эль Тор, полученных нами (42 штаммов) и взятых из NCBI GenBank (113 изолятов). Секвенирование ДНК проводили на платформе «Ion PGM» Филогенетические связи штаммов определяли на основе байесовского анализа коровых SNP, полученных с помощью программного пакета Snippy 4.6. Резистентность к антибиотикам оценивали диско-диффузионным методом. **Результаты.** На основании SNP-анализа установлено деление исследуемых штаммов (1970–2023 гг.) на 3 кластера. Показана четкая корреляция между генотипом штаммов каждого кластера и временным периодом их выделения. Обособление генетически измененных штаммов из кластеров II и III, выделенных в период второй и третьей волн пандемии, от типичных штаммов из кластера I, было связано с приобретением ими новых участков ДНК (гена *ctxVI* и разных типов ICE), а также мутациями в генах патогенности и лекарственной устойчивости. Вследствие разного сочетания мутаций штаммы кластера III были генетически неоднородны. Сравнение геномов изучаемых штаммов показало, что их разнообразие значительно возросло в период третьей волны пандемии, что привело к появлению новых геновариантов с повышенным патогенным и эпидемическим потенциалом. Показано, что резистентность к антибиотикам штаммов как из эндемичных регионов, так и из России за последние 30 лет (1993–2023 гг.) претерпела существенные изменения за счет различных мутаций. При этом меняющаяся лекарственная устойчивость вариантов четко коррелировала с возникновением в их геноме мутаций в различных генах патогенности. **Заключение.** Показано, что на протяжении двух последних десятилетий происходило довольно быстрое изменение генома возбудителя, следствием которого явилось возникновение различных геновариантов. Установлена смена вариантов возбудителя в России. Особую обеспокоенность вызывают штаммы, сочетающие генетические маркеры гипер-

Адрес для переписки:

Смирнова Нина Ивановна
410005, Россия, г. Саратов, ул. Университетская, 46,
ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный
институт «Микроб» Роспотребнадзора.
Тел.: 8 905 321-33-77.
E-mail: rusrapi@microbe.ru

Contacts:

Nina I. Smirnova
410005, Russian Federation, Saratov, Universitetskaya str., 46,
Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rosпотребнадzor.
Phone: +7 905 321-33-77.
E-mail: rusrapi@microbe.ru

Для цитирования:

Смирнова Н.И., Рыбальченко Д.А., Лозовский Ю.В., Краснов Я.М., Щелканова Е.Ю., Федоров А.В., Кутырев В.В. Геномное разнообразие токсигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор, выделенных в период трех волн седьмой пандемии холеры // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 57–70. doi: 10.15789/2220-7619-GDO-17701

Citation:

Smirnova N.I., Rybal'chenko D.A., Lozovsky Yu.V., Krasnov Ya.M., Shchelkanova E.Yu., Fedorov A.V., Kutuyrev V.V. Genomic diversity of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 biovar El Tor strains isolated during three waves of the 7th cholera pandemic // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 57–70. doi: 10.15789/2220-7619-GDO-17701

вирулентности и множественной лекарственной устойчивости. Вариабельность генома штаммов из России указывает на необходимость проведения постоянного геномного надзора за ними с целью получения данных об изменении их эпидемически важных свойств для своевременного создания новых средств диагностики и профилактики.

Ключевые слова: *V. cholerae*, вариабельность генома, патогенность, лекарственная устойчивость, филогения, геномный надзор.

GENOMIC DIVERSITY OF TOXIGENIC *VIBRIO CHOLERAE* O1 BIOVAR EL TOR STRAINS ISOLATED DURING THREE WAVES OF THE 7TH CHOLERA PANDEMIC

Smirnova N.I., Rybal'chenko D.A., Lozovsky Yu.V., Krasnov Ya.M., Shchelkanova E.Yu., Fedorov A.V., Kutyrev V.V.

Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation

Abstract. Introduction. High genome variability of the 7th cholera pandemic agent, *V. cholerae* El Tor, led to emergence of genovariants with distinct set of altered genes. The aim of the work was to analyze the dynamics of changes in pathogenicity, epidemicity as well as drug resistance and phylogeny in toxigenic strains of *V. cholerae* El Tor isolated in Russia and endemic regions during three waves of ongoing pandemic. **Materials and methods.** We used whole-genome nucleotide sequences of 155 strains, obtained by us (42) and taken from the NCBI Genbank (113). DNA sequencing was performed on Ion PGM platform. Phylogenetic relations were determined based on the Bayesian analysis of core SNPs obtained using Snippy 4.6 software package. Antibiotic resistance was assessed applying disk diffusion test. **Results.** SNP data revealed that the studied strains (1970–2023) might be divided into three clusters. A clear correlation between each-cluster strain genotype and relevant isolation timing was observed. Separation of genetically altered cluster II and III strains isolated during the 2nd and 3rd waves of the pandemic from typical cluster I strains is associated with acquisition of new DNA regions and mutations in pathogenicity and drug resistance genes. Due to different combination of mutations, cluster III strains are genetically heterogeneous. Genome comparison showed that this diversity increased dramatically during the 3rd wave, which led to emergence of new genovariants with higher pathogenic and epidemic potential. It is demonstrated that antibiotic resistance in strains both from endemic regions and Russia over the past 30 years (1993–2023) has undergone significant changes. Thereat, the changing drug resistance clearly correlated with the occurrence of mutations in various pathogenicity genes. **Conclusion.** It is shown that over the past two decades the agent genome underwent a rather rapid change resulting in emergence of various genovariants. A change in the pathogen variants in Russia has been established. Strains combining genetic markers of hyper-virulence and multiple drug resistance are of particular concern. Genome variability of the strains identified in points at a need for constant genomic surveillance to obtain data on altering epidemically important properties for timely generation of new diagnostic and preventive means.

Key words: *V. cholerae*, genome variability, pathogenicity, drug resistance, phylogeny, genomic surveillance.

Введение

На протяжении более 60 лет мы являемся свидетелями развития седьмой пандемии холеры, начавшейся в 1961 г. на Индийском субконтиненте, откуда происходило ее распространение по всему миру тремя независимыми, но перекрывающимися волнами [1, 19]. Продолжающиеся в настоящее время эпидемии и вспышки холеры в эндемичных странах Юго-Восточной Азии, Африки, Южной Америки создают реальные риски ее завоза в другие регионы, включая Россию, территория которой является неэндемичной. Все зарегистрированные эпидемические вспышки или спорадические случаи холеры в России всегда имели заносной характер [4, 6]. Возбудителем текущей пандемии являются токсигенные штаммы *Vibrio cholerae* серогруппы O1 биовара Эль Тор, относящиеся к типичным и генетически измененным или геновариантам.

Патогенность типичных штаммов, вызвавших первую волну пандемии (1961–1990 гг.), обусловлена присутствием в геноме профага CTX ϕ ^{ElTor} с опероном *ctxAB3*, кодирующим холерный токсин (или СТ), и острова патогенности VP1-1 с генами *tcpA*^{ElTor}-*F*, определяющими продукцию токсин-корегулируемых пилей (или ТСП) — основного фактора колонизации кишечника человека [21, 23]. Пандемический (эпидемический) потенциал связан с островом пандемичности VSP-II, продукты генов которого обеспечивают высокий уровень адаптации возбудителя к меняющимся условиям окружающей среды [15].

Однако в дальнейшем геном возбудителя в процессе эволюции претерпел большие изменения, что привело к появлению различных геновариантов, отличающихся от типичных штаммов генетическими и фенотипическими свойствами. Впервые возникшие генетические варианты (1991–1994 гг.) вызвали вторую вол-

ну пандемии, вытеснив типичные штаммы [19, 20]. Ключевым событием в их формировании стало приобретение возбудителем холеры Эль Тор горизонтально перенесенных генов *ctxAB1* из профага СТХф^{Class} холерных вибрионов классического биовара — возбудителя предыдущих шести пандемий азиатской холеры [20]. Второе важное событие — появление в геноме патогена интегративного конъюгативного элемента (или ICE) SXT с генами резистентности к различным антибиотикам [10, 25]. Из 30 известных его типов наиболее распространены были ICEVchInd5(*floR*, *strAB*, *sul2*, *dfrA1*) и ICEVchBan9(*floR*, *strAB*, *sul2*, *tetAR*, *dfrA1*). Основное различие между ними — разный набор генов резистентности к антибиотикам [2, 7, 16, 25]. Приобретение новой генетической информации привело к повышению вирулентности и антимикробной устойчивости патогена, а также получению вариантами селективного преимущества относительно типичных штаммов, что обусловило вытеснение последних практически во всех эндемичных регионах [12, 28]. Тем не менее примерно через 10 лет в период третьей волны пандемии произошла замена этих вариантов новыми [19].

Характерной особенностью генома штаммов из третьей волны пандемии стали точечные мутации в ключевых и дополнительных генах патогенности и лекарственной устойчивости, а также внутригеномная перестройка острова пандемичности VSP-II. Однонуклеотидные замены в генах *ctxB1* и *tcpA* из профага СТХф и острова патогенности VPI-1 привели к появлению их новых аллелей *ctxB7* и *tcpA^{CIRS101}* соответственно и продукции измененных факторов патогенности [22, 26]. Результатом мутации в гене *rtxA*, кодирующем многофункциональный цитотоксин MARTX, стало появление его аллеля *rtxA4* с потерей функции этого гена [14]. К тому же за счет протяженной делеции около 30 генов в VSP-II произошла утрата генетического материала и образование VSP-IIΔ(*vc0495* — *vc0512*) [27]. Кроме того, возникли мутации, которые повлекли изменение резистентности к антибиотикам — возникновение устойчивости к налидиксовой кислоте за счет мутаций в генах *gyrA* (G248T) и *parC* (C254T) [17] и чувствительности к полимиксину В в результате однонуклеотидной замены в гене *carR* (G265A) [24]. Следствием указанных событий стало формирование высокопатогенных новых геновариантов с уникальным набором факторов вирулентности, антимикробной резистентности и высоким уровнем адаптации к стрессовым воздействиям окружающей среды, что привело к их глобальному распространению [11, 19, 22] и росту заболеваемости холерой в мире с увеличенным числом случаев тяжелого течения [13].

Первые эпидемические проявления холеры в Российской Федерации (РФ) начались в 1970 г. в период первой волны пандемии и были связаны с завозом возбудителя в Астраханскую область из Ирана и дальнейшим распространением инфекции в других населенных пунктах Поволжья [3]. Кроме того, небольшие вспышки и единичные случаи холеры регистрировались и в других регионах РФ (Украина, Азербайджан, Грузия, Башкирия, Ставрополь) [1, 5]. Исследование ряда клинических изолятов показало, что они относились к типичным штаммам, содержащим в составе оперона *ctxAB* аллель *ctxB3*. Однако в дальнейшем во время двух других волн пандемии все известные случаи холеры в РФ были связаны с другими вариантами [4, 6, 18].

Впервые генетически измененные штаммы с *ctxB1* были завезены в различные регионы РФ в 1993–2001 гг., став причиной эпидемических вспышек, либо спорадических случаев холеры в разных регионах страны [9, 10, 18]. Однако вскоре, начиная с 2004 г., на территорию России были завезены другие варианты возбудителя с дополнительными мутациями в эпидемически важных генах. Мутациями были затронуты гены патогенности (*ctxB1*, *tcpA^{ElTor}*, *rtxA1*) и лекарственной устойчивости [4, 11, 18]. При этом различные штаммы вариантов имели разный набор мутантных генов, что определяло их неодинаковый патогенный и эпидемический потенциалы.

Высокая скорость эволюции и адаптации возбудителя холеры к внешней среде будет и в дальнейшем приводить к формированию новых вариантов и их заносу в РФ. Это обстоятельство указывает на необходимость проведения геномного надзора за патогеном с целью мониторинга генетических изменений штаммов, как занесенных в Россию, так и циркулирующих в эндемичных регионах, для своевременного создания адекватных средств диагностики и профилактики холеры. Несмотря на большой интерес многих исследователей к генетическому анализу различных вариантов возбудителя [2, 4, 8, 9, 11, 18], получение системных данных об изменении эпидемически важных свойств штаммов *V. cholerae* Эль Тор за последние 50 лет (1970–2023 гг.) остается актуальной задачей, решение которой позволит повысить оперативность и качество общей системы эпидемиологического надзора.

Цель работы — анализ динамики изменения генов патогенности, эпидемичности и лекарственной устойчивости токсигенных штаммов *V. cholerae* Эль Тор из Российской Федерации и эндемичных регионов, выделенных в период трех волн текущей пандемии, и их филогенетический анализ.

Материалы и методы

Использовали нуклеотидные последовательности полных геномов 155 токсигенных штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, выделенных в разные периоды текущей пандемии в России и эндемичных регионах (табл. 1). Нуклеотидные последовательности штаммов были получены нами (42 штамма) или взяты из NCBI GenBank (113 штаммов).

Бактерии культивировали в бульоне и агаре LB при 37°C. Чувствительность к антибактериальным препаратам определяли диско-диффузионным методом с использованием препаратов полимиксина В (300 мкг) и налидиксовой кислоты (30 мкг) фирмы «HiMedia Laboratories Pvt. Limited» (Индия).

Секвенирование проводили на платформе «Ion PGM» (Ion Torrent, США). Подготовку геномной ДНК выполняли согласно протоколу производителя из обработанной мертиолятом натрия бактериальной суспензии с использованием коммерческого набора «Axy Prep Bacterial Genomic DNA Miniprep Kit». Подготовку ДНК библиотек проводили по стандартному протоколу в соответствии с рекомендациями производителя. Для сборки геномов применяли программное обеспечение Ion Torrent Suite Software v. 5.4 и Newbler GS Assembler v. 2.6. Средняя глубина прочтений секвенированных штаммов составила 50.

Анализ полногеномных последовательностей исследуемых штаммов проводили относительно последовательности генома референсного штамма *V. cholerae* N16961 с помощью программы UGEN v.45.1.

Для обнаружения SNP и построения филогенетического дерева использовали Байесовский филогенетический анализ с применением программы MrBayes v.3.2.7a. на основе SNP-матрицы, полученной с помощью программы Snippy 4.6.0. Визуализацию полученных результатов осуществляли в программе iTOL v.6.

Результаты

Филогенетический анализ токсигенных штаммов V. cholerae Эль Тор из России и эндемичных регионов, выделенных в разные временные периоды седьмой пандемии. Для выяснения генетических связей различных штаммов из России с другими штаммами возбудителя, изолированными в разные годы на различных эндемичных территориях (табл.), мы провели их филогенетический анализ. На рис. 1 изображено филогенетическое дерево, построенное на основании анализа 1950 коровых SNPs полногеномных последовательностей 119 штаммов, из которых 47 было занесено на территорию Российской

Федерации. Установлено четкое деление взятых штаммов на три основных кластера. Типичные штаммы, выделенные в период первой волны пандемии (1970–1991 гг.), образовали отдельный кластер I, включающий 23 штамма из России (12 изолятов) и эндемичных регионов Азии (Индия, Бангладеш) и Африки (Мозамбик, Гвинея). Все штаммы, независимо от места и времени выделения, имели одинаковый генотип — *ctxB3tcpA^{Eltor}rtxAIVSP-II*, идентичный таковому референсного штамма N16961, были чувствительны к налидиксовой кислоте (NaI^S), резистентны к полимиксину В (Pol^R) и не содержали в геноме ICE. Кластер II (22 изолята) включал штаммы из России (19 изолятов), изолированных во вторую волну пандемии (1993–2001 гг.), а также три штамма из эндемичных стран, на территории которых в это время были зарегистрированы вспышки холеры (рис. 1). Обособление этих штаммов от изолятов из кластера I четко коррелировало с приобретением ими новых участков ДНК — гена *ctxB1* (в составе профага CTXφ) от холерных классических вибрионов и разных типов мобильного элемента ICE от неизвестных доноров. В результате эти первые варианты возбудителя имели генотип *ctxB1tcpA^{Eltor}rtxAIVSP-II ICE*, отличный от такового референсного штамма N16961. Различия между штаммами из кластеров I, II и референсным N16961 составляли в среднем 83 и 114 SNPs соответственно. Что касается 74 других исследуемых штаммов, выделенных как в России (16 изолятов), так и в эндемичных регионах Азии и Африки (58 изолятов), то все они относились к разным геновариантам, возникшим в период третьей волны пандемии (2022–2023 гг.), которые образовали кластер III, различаясь от референсного штамма по 137 SNPs (рис. 1). Эти варианты возбудителя отличались от измененных штаммов из второй волны разного типа дополнительными мутациями — одонуклеотидными заменами в ключевых (*ctxA*, *tcpA*) и дополнительных (*rtxA*) генах патогенности и лекарственной устойчивости (*gyrA*, *parC*, *carA*), делецией генов в VSP-II и разными типами ICE, включая ICEVchInd5Δ, утративший 4 гена (*floRstrABsul2*). Вследствие разного сочетания мутаций штаммы кластера III были генетически неоднородны, образовав шесть отдельных ветвей с разными генотипами:

- “a” *ctxB1tcpA^{CIRS101}rtxA1gyrA(G248T)parC(C254T)carRVSP-IIΔSXT^{TET}(tetARstrABsul2dfrA1)* или ICEVchInd5(*floRstrABsul2dfrA1*);
- “b” *ctxB1tcpA^{CIRS101}rtxA4 gyrA(G248T)parC(C254T)carRVSP-IIΔICEVchInd5*;
- “c” *ctxB7tcpA^{CIRS101}rtxA4gyrA(G248T)parC(C254T)carRVSP-IIΔICEVchInd5*;
- “d” *ctxB7tcpA^{CIRS101}rtxA4gyrA(G248T)parC(C254T)carR(G265A)VSP-IIΔICEVchInd5*;

Таблица. Генетические свойства штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор из России и эндемичных по холере странTable. Genetic features of *V. cholerae* O1 El Tor strains isolated in Russia and cholera-endemic countries

Штаммы, годы выделения Strains, years of isolation	Аллель гена <i>ctxB</i> <i>ctxB</i> gene allele	Аллель гена <i>tcpA</i> <i>tcpA</i> gene allele	Аллель гена <i>rtxA</i> <i>rtxA</i> gene allele	VSP-II	<i>gyrA</i>	<i>parC</i>	<i>carR</i>
Штаммы из РФ Strains isolated in Russian Federation							
1970–1990 гг. M888, M893, M1062, M818, M1011, M1067, M1020, P8194, M671, M642, M1261, C402	<i>ctxB3</i>	<i>tcpA</i> ^{EITor}	<i>rtxA1</i>	VSP-II	<i>gyrA</i>	<i>parC</i>	<i>carR</i>
1993–2001 гг. 1275, M1270, M1293, I1181*, 28, 155, M1327, I1344*, I1300*, I1298*, I1187*, M1266, M1268, P17644, M1344	<i>ctxB1</i>	<i>tcpA</i> ^{EITor}	<i>rtxA1</i>	VSP-II	<i>gyrA</i>	<i>parC</i>	<i>carR</i>
2001–2014 гг. M1429, M1430, P18899, 81	<i>ctxB1</i>	<i>tcpA</i> ^{CIRS101}	<i>rtxA4</i>	VSP-II ^Δ	<i>gyrA</i> (G248T)	<i>parC</i> (C254T)	<i>carR</i>
L3226, RND19187, L4150, RND13188, 76, 153, 39, 186	<i>ctxB7</i>	<i>tcpA</i> ^{CIRS101}	<i>rtxA4</i>	VSP-II ^Δ	<i>gyrA</i> (G248T)	<i>parC</i> (C254T)	<i>carR</i>
1509, 3265/80	<i>ctxB7</i>	<i>tcpA</i> ^{CIRS101}	<i>rtxA4</i>	VSP-II ^Δ	<i>gyrA</i> (G248T)	<i>parC</i> (C254T)	<i>carR</i> (G265A)
89, 147	<i>ctxB1</i>	<i>tcpA</i> ^{EITor}	<i>rtxA1</i>	VSP-II	<i>gyrA</i>	<i>parC</i>	<i>carR</i>
2015–2023 гг. M3208, M3213	<i>ctxB7</i>	<i>tcpA</i> ^{CIRS101}	<i>rtxA4</i>	VSP-II ^Δ	<i>gyrA</i> (G248T)	<i>parC</i> (C254T)	<i>carR</i> (G265A)
M3210	<i>ctxB1</i>	<i>tcpA</i> ^{EITor}	<i>rtxA1</i>	VSP-II	<i>gyrA</i>	<i>parC</i>	<i>carR</i>
Штаммы из эндемичных стран Азии и Африки Strains from endemic Asian and African countries							
1970–1990 гг.* CNRVC960629, CNRVC960959, A19, N16961, A18, A10, GP145, GP160, CNRVC930171, PRL18, A131, V109, A155, A154, V212-1, VC51, A330, CNRVC940103, CNRVC940190, MJ-1236, CNRVC960254, CNRVC960218, F3835, 4679, 4672, 1944_CDC, 956_CDC, 4662	<i>ctxB1</i>	<i>tcpA</i> ^{EITor}	<i>rtxA1</i>	VSP-II	<i>gyrA</i>	<i>parC</i>	<i>carR</i>
1991–2001 гг.* A155, CNRVC940190, CNRVC960218, F3835, A154	<i>ctxB3</i>	<i>tcpA</i> ^{EITor}	<i>rtxA1</i>	VSP-II	<i>gyrA</i>	<i>parC</i>	<i>carR</i>
V212-1, VC51, A330, CNRVC940103, MJ-1236, CNRVC960254, 4672, 4679, 956_CDC	<i>ctxB1</i>	<i>tcpA</i> ^{EITor}	<i>rtxA1</i>	VSP-II	<i>gyrA</i>	<i>parC</i>	<i>carR</i>
4662	<i>ctxB1</i>	<i>tcpA</i> ^{CIRS101}	<i>rtxA4</i>	VSP-II ^Δ	<i>gyrA</i>	<i>parC</i>	<i>carR</i>
2002–2014 гг.* B33, 1362	<i>ctxB1</i>	<i>tcpA</i> ^{EITor}	<i>rtxA1</i>	VSP-II	<i>gyrA</i>	<i>parC</i>	<i>carR</i>
4488, 4656, 4623, 4551, VN243P_07, VC-8, BGD119, BGD122, BGD095	<i>ctxB1</i>	<i>tcpA</i> ^{CIRS101}	<i>rtxA1</i>	VSP-II ^Δ	<i>gyrA</i> (G248T)	<i>parC</i> (C254T)	<i>carR</i>
CIRS101, 4646, CISM1020229.6, CISM1020231.9	<i>ctxB1</i>	<i>tcpA</i> ^{CIRS101}	<i>rtxA4</i>	VSP-II ^Δ	<i>gyrA</i> (G248T)	<i>parC</i> (C254T)	<i>carR</i>
4519, IND033, IND041, VC-18, IND051, IDH-04808	<i>ctxB7</i>	<i>tcpA</i> ^{CIRS101}	<i>rtxA4</i>	VSP-II ^Δ	<i>gyrA</i> (G248T)	<i>parC</i> (C254T)	<i>carR</i>

Окончание таблицы. Генетические свойства штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор из России и эндемичных по холере стран

Table. Genetic features of *V. cholerae* O1 El Tor strains isolated in Russia and cholera-endemic countries (continued)

Штаммы, годы выделения Strains, years of isolation	Аллель гена <i>ctxB</i> <i>ctxB</i> gene allele	Аллель гена <i>tcpA</i> <i>tcpA</i> gene allele	Аллель гена <i>rtxA</i> <i>rtxA</i> gene allele	VSP-II	<i>gyrA</i>	<i>parC</i>	<i>carR</i>
IND071, IDH-05298, IND082, IND090	<i>ctxB7</i>	<i>tcpA</i> ^{CIRS101}	<i>rtxA4</i>	VSP-II ^Δ	<i>gyrA</i> (G248T)	<i>parC</i> (C254T)	<i>carR</i> (G265A)
2015–2023 гг.* BGD128, BGD143, NALMLE36, NALMLE05, KDCP183	<i>ctxB1</i>	<i>tcpA</i> ^{CIRS101}	<i>rtxA1</i>	VSP-II ^Δ	<i>gyrA</i> (G248T)	<i>parC</i> (C254T)	<i>carR</i>
CMR33, NER211, NGA002, NGA016, NGA001, NGA236, CMR57, CMR56, CMR50, CMR44	<i>ctxB7</i>	<i>tcpA</i> ^{CIRS101}	<i>rtxA4</i>	VSP-II ^Δ	<i>gyrA</i> (G248T)	<i>parC</i> (C254T)	<i>carR</i>
IND220, IND231, CNRVC170168, CNRVC170175, UG020, UG010, 4621STDY6714780, THSTI56695, THSTI56712, CNRVC170179, CNRVC170208, KDCP136, KDCP208, KDCP245, DMAVC-20, DMAVC-1, DMAVC-16, DMAVC-19, DMAVC-4, DMAVC-11, DMAVC-18, DMAVC-21, N1252, Q4233, 622, 619, K19, K15	<i>ctxB7</i>	<i>tcpA</i> ^{CIRS101}	<i>rtxA4</i>	VSP-II ^Δ	<i>gyrA</i> (G248T)	<i>parC</i> (C254T)	<i>carR</i> (G265A)
K054646, K054662, K054666, K054671, K054681, K054685, K054684, K054659, K054670, K054682	<i>ctxB7</i>	<i>tcpA</i> ^{CIRS101}	<i>rtxA4a</i>	VSP-II ^Δ	<i>gyrA</i> (G248T)	<i>parC</i> (C254T)	<i>carR</i> (G265A)

Примечание. VSP-II^Δ — делеция vc0495-vc0512. *Полногеномные нуклеотидные последовательности штаммов взяты из базы данных NCBI GenBank.

Note. VSP-II^Δ — vc0495-vc0512 deletion. *Whole genome nucleotide strain sequences are retrieved from the NCBI GenBank database.

- “e” *ctxB7tcpA*^{CIRS101}*rtxA4gyrA*(G248T)*parC*(C254T)*carR*(G265A)VSP-II^ΔICEVchInd5Δ;
- “f” *ctxB7tcpA*^{CIRS101}*rtxA4-agyrA*(G248T)*parC*(C254T)*carR*(G265A)VSP-II^ΔICEVchInd5Δ.

Обособление кластера III было связано с формированием геновариантов не только с усиленной вирулентностью, высоким эпидемическим потенциалом и разным спектром резистентности к антибиотикам, но также с утратой Pol^R — специфического маркера вибрионов Эль Тор. Таким образом, показано, что деление исследуемых штаммов на три филогенетические группы, различающиеся между собой по структуре генома, совпадает с временным периодом трех волн глобального распространения возбудителя в мире из первичного очага. Присутствие в каждом кластере эпидемически опасных штаммов как из России, так и из эндемичных стран указывает на их генетическую близость. Очевидное большое геномное разнообразие штаммов возбудителя, изолированных

на протяжении более 50 лет (1970–2023 гг.), обусловлено горизонтальным переносом разных участков ДНК и различного типа мутациями в генах, входящих в состав мобильных элементов и коровой части хромосом.

Распространенность измененных генов патогенности, эпидемичности и лекарственной устойчивости среди различных штаммов возбудителя холеры, занесенных в Россию. Анализ 47 секвенированных геномов показал различия в распространенности измененных ключевых генов патогенности и эпидемичности между штаммами, занесенными в Россию из различных эндемичных очагов холеры в разные годы текущей пандемии. Как и ожидалось, все исследуемые штаммы из первой волны пандемии (12 изолятов; 1970–1990 гг.) относились к типичным, имели характерные для них гены патогенности и пандемичности (*ctxB3*, *tcpA*^{ElTor}VSP-II) и были лишены ICE (рис. 2А). Вместе с тем в последующее десятилетие (1993–2001 гг.) на тер-

ритории России были обнаружены генетические варианты возбудителя с измененным геном вирулентности *ctxB1* и приобретенными генами резистентности к антибиотикам в составе ICE. Появление таких штаммов в России полностью совпало с периодом второй волны (рис. 2А). В то же время в третью волну пандемии в 2004–2014 гг. были выявлены разные типы геновариантов. Наряду с сохранившимися

ся вариантами с генотипом *ctxB1tcpA^{EITor}VSP-II* (12,5%) появились другие варианты с генотипами *ctxB1tcpA^{CIRS101}VSP-IIΔ(vc0495–vc0512)* и *ctxB7tcpA^{CIRS101}VSP-IIΔ(vc0495–vc0512)*. При этом более 60,0% из них относились к недавно возникшим вариантам, несущим измененный ген *ctxB7*, являющийся генетическим маркером штаммов с повышенным патогенным потенциалом (рис. 2А, Б). Особый интерес, на наш

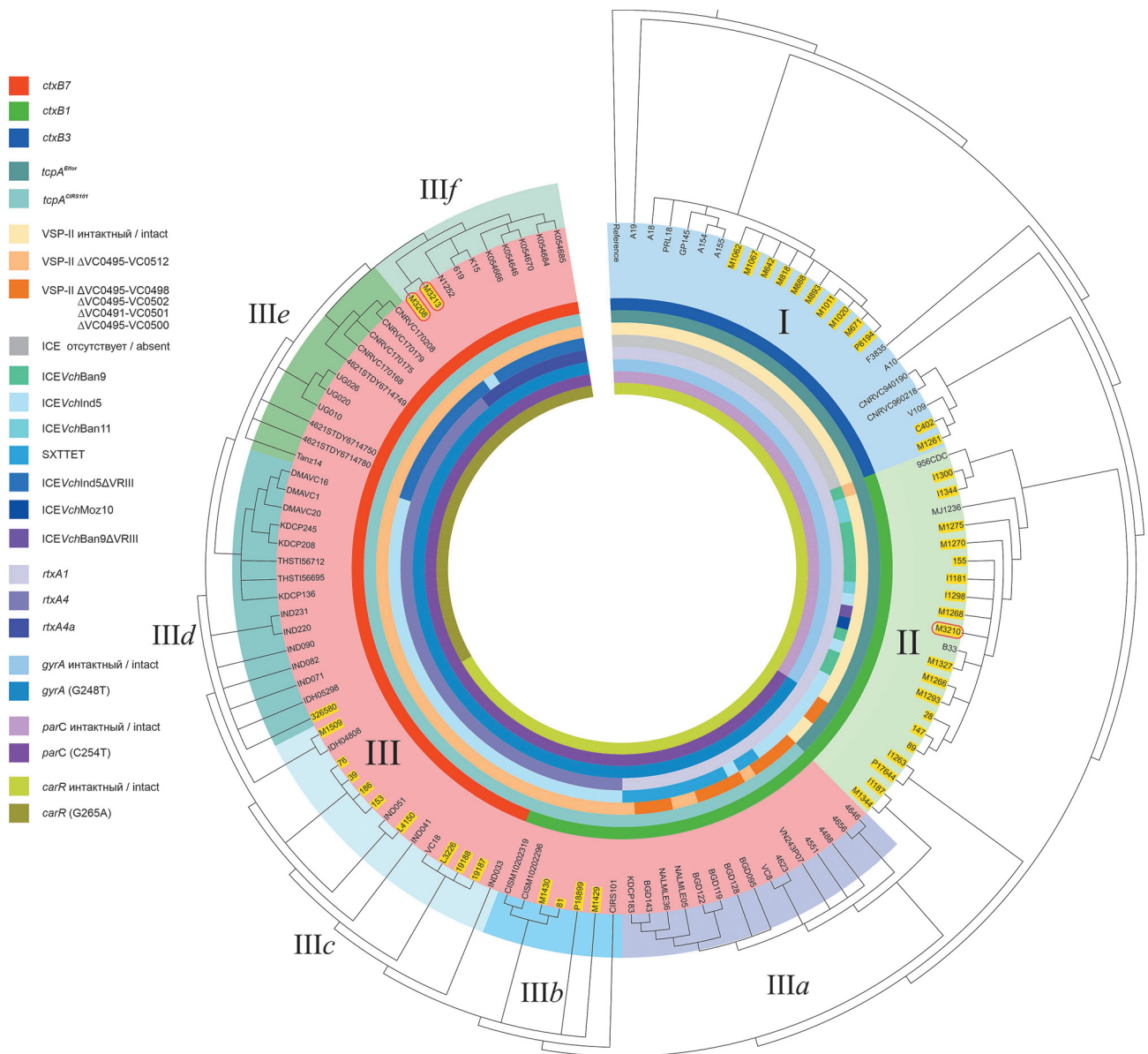


Рисунок 1. Филогенетический анализ токсигенных штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор, выделенных в 1970–2023 гг. в Российской Федерации и эндемичных по холере странах Азии и Африки

Figure 1. Phylogenetic analysis of toxigenic *V. cholerae* O1 El Tor strains isolated in the Russian Federation and cholera-endemic Asian and African countries in 1970–2023

Примечание. Анализ проведен по данным полногеномного секвенирования на основе байесовского анализа (выполненного в приложении Mr.Bayes 3.2.7) коровых SNP, полученных с помощью программного пакета Snippy 4.6. Дендрограмма, укорененная на референсный штамм *V. cholerae* N16961, визуализирована с помощью online приложения iTOL v6 (<https://itol.embl.de>).

Note. Analysis was conducted using full-genome sequencing data based on Bayesian test (performed in the Mr.Bayes 3.2.7 application) of core SNPs obtained using the Snippy 4.6 software package. The dendrogram rooted to the reference strain *V. cholerae* N16961 was visualized using the iTOL v6 online application (<https://itol.embl.de>).

взгляд, представляли штаммы, занесенные в Россию в 2023 г. после восьмилетнего периода эпидемического благополучия [8]. Обращает на себя внимание тот факт, что они относились к разным типам геновариантов, имеющих различные мутации в ключевых генах, связанных с патогенностью и способностью к эпидемическому распространению. Два клинических изолята (М3208 и М3213) имели полный набор из-

мененных генов вирулентности (*ctxB7*, *tcpA^{CIRS101}*) и эпидемичности (*VSP-IIΔ(vc0495–vc0512)*), характерный для штаммов с высоким патогенным потенциалом. В то же время штамм, выделенный из воды (М3210), имел лишь один измененный ген (*ctxB1*) и относился к первым по времени выделения геновариантам с более низкой вирулентностью (табл., рис. 2А). Таким образом, геномы штаммов возбудителя холеры,

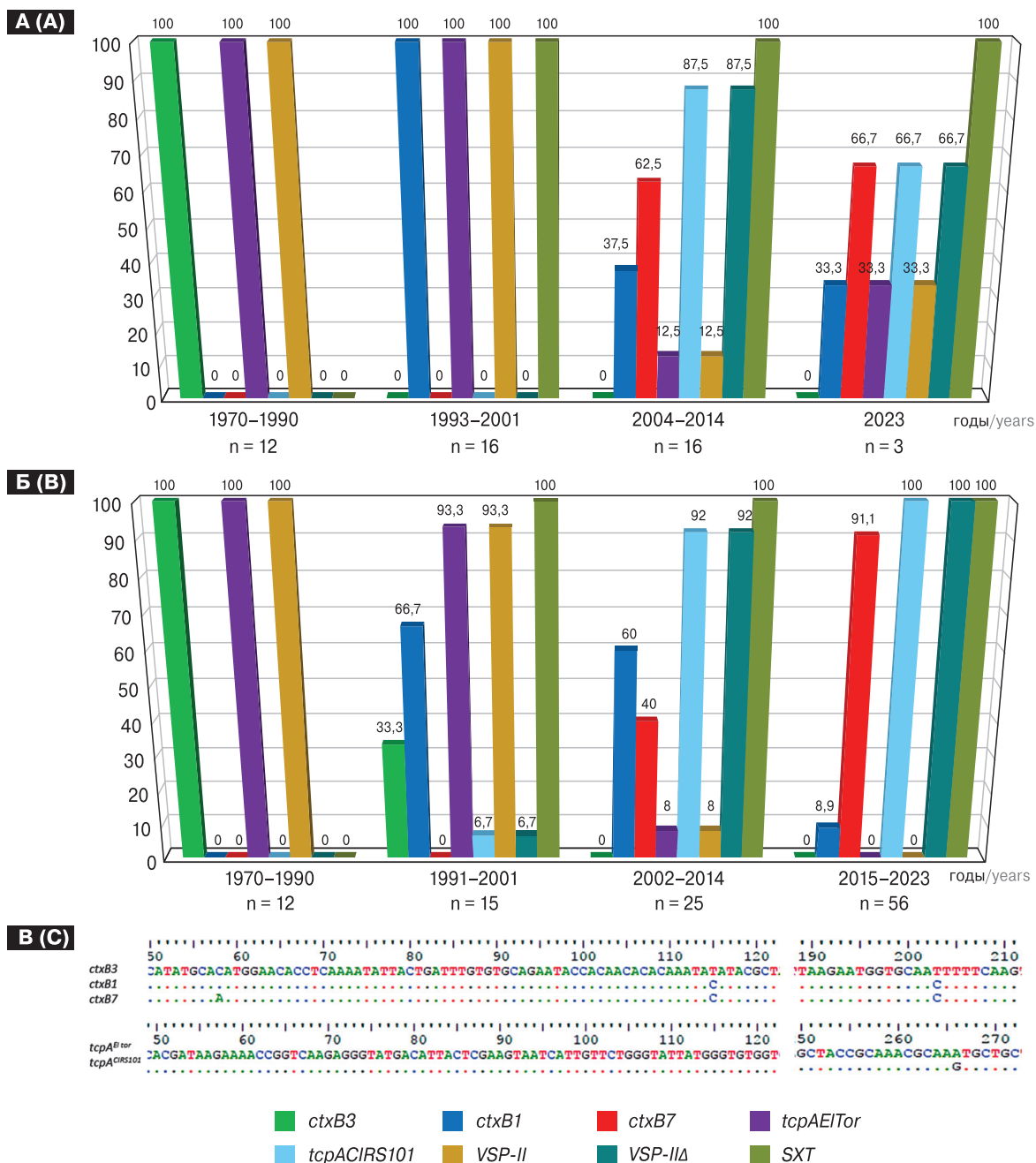


Рисунок 2. Динамика изменения распространенности мутантных генов вирулентности *ctxB* и *tcpA*, делетированного острова пандемичности VSP-II и ICE SXT элемента среди токсигенных штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор, выделенных на территории Российской Федерации (А) и эндемичных по холере стран Азии и Африки (Б). Нуклеотидные последовательности аллелей генов *ctxB* и *tcpA* (В)
 Figure 2. Dynamic prevalence changes for mutant virulence genes *ctxB* and *tcpA*, deleted pandemicity island VSP-II and ICE SXT element among toxigenic *V. cholerae* O1 EI Tor strains isolated in Russian Federation (A) and cholera-endemic Asian and African countries (B). Nucleotide sequences of *ctxB* and *tcpA* gene alleles (C)

занесенных в Россию в период разных волн пандемии, четко различались между собой набором мутаций в ключевых генах патогенности и эпидемичности, входящих в состав мобильных элементов (СТХф, VP1-I и VSP-II), что указывает на их разный патогенный потенциал.

Другим не менее важным был вопрос об изменении резистентности к антибиотикам, поскольку возникновение устойчивости возбудителя холеры к лекарственным препаратам является большой проблемой современности. Прежде всего, как отмечалось выше, измене-

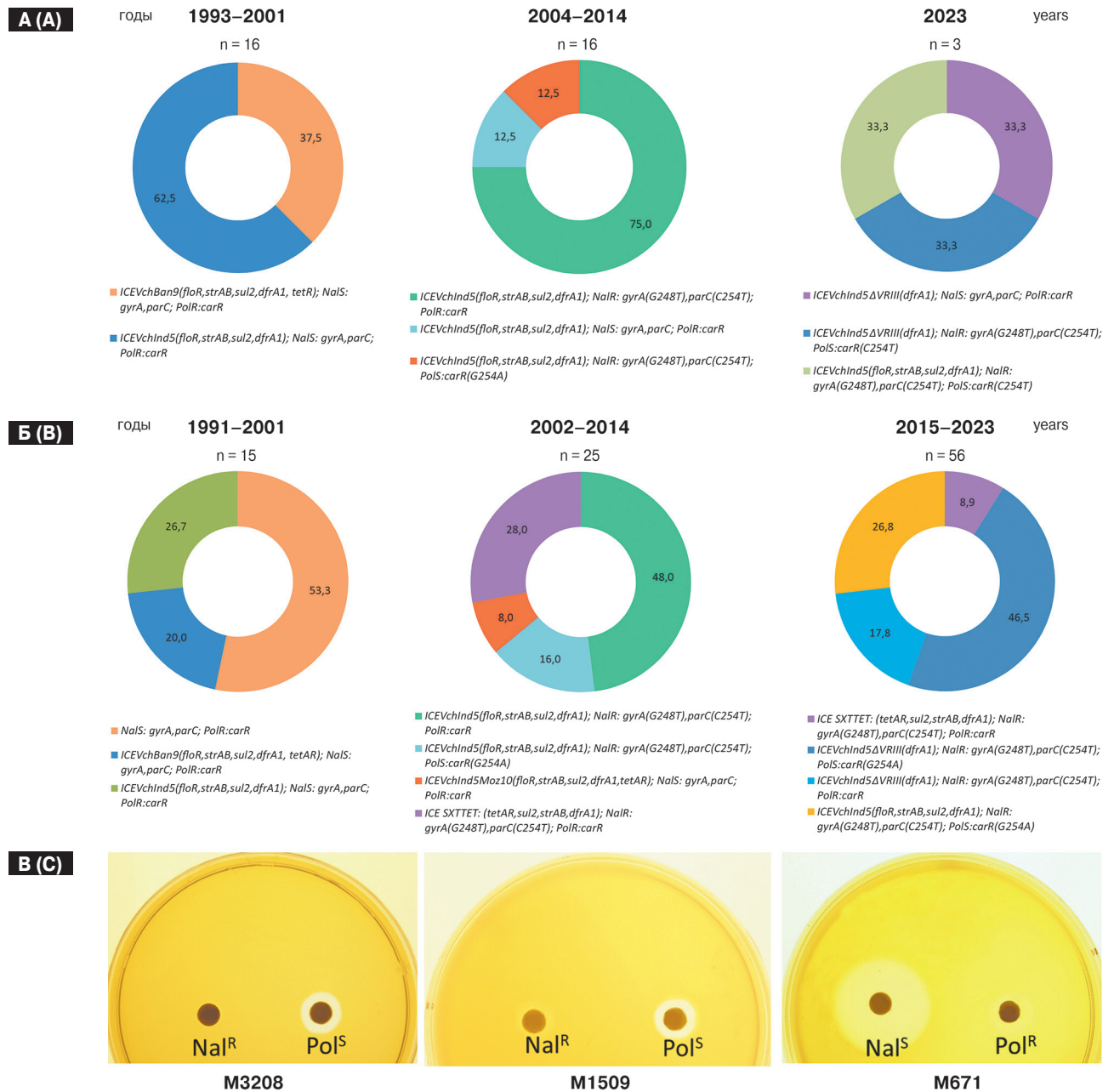


Рисунок 3. Динамика изменения распространенности генов лекарственной устойчивости среди различных вариантов возбудителя холеры, изолированных в Российской Федерации (А) и эндемичных странах Азии и Африки (Б) в период второй и третьей волны текущей пандемии холеры. Чувствительность к полимиксину В (PoIS) и резистентность к налидиксовой кислоте (NaIR) изученных изолятов: М3208 и М1509 — штаммы геновариантов с мутациями в генах *gyrA*, *parC* и *carR*; М671 — типичный штамм с интактными генами *gyrA*, *parC* и *carR*, взятый в качестве контроля (В)
 Figure 3. Dynamic prevalence changes in drug resistance genes among various variants of the cholera pathogen isolated in Russian Federation (A) and endemic Asian and African countries (B) during the 2nd and 3rd waves of the current cholera pandemic. Sensitivity to polymyxin B (PoIS) and resistance to nalidixic acid (NaIR) of the studied isolates: M3208 and M1509 — genovariant strains with mutant *gyrA*, *parC* and *carR* genes; M671 is a typical strain with intact *gyrA*, *parC* and *carR* genes used as a control (C)

ние резистентности было связано с появлением в геноме первых вариантов разных типов ICE. Следствием таких событий стал занос в Россию штаммов в 1993–2001 г. с двумя типами ICE: ICEVchInd5(*floR*, *strAB*, *sul2*, *dfrA1*) и ICEVchBan9(*floR*, *strAB*, *sul2*, *tetAR*, *dfrA1*), различающимися набором генов резистентности (рис. 3А). Дальнейшие изменения устойчивости к антибиотикам были обусловлены появлением у геновариантов с ICE мутаций в различных коровых генах. В результате штаммы, изолированные в России в третью волну пандемии (2004–2014 гг.), стали устойчивыми к новым антибиотикам и по профилю резистентности были более разнообразными по сравнению с изолятами из предыдущего десятилетия. У 87,5% штаммов была выявлена резистентность к налидиксовой кислоте (Nal^R), возникающая за счет двух точечных мутаций в коровых генах *gyrA* (G248T) и *parC* (C254T), кодирующих топоизомеразу II (ДНК-гиразу) и топоизомеразу IV. Лишь небольшое число штаммов (12,5%) оставалось Nal^S . Более того оказалось, что в 12,5% случаях Nal^R штаммы утратили устойчивость к полимиксину В (Pol^S) в результате точечной мутации в гене *carR*(G265A) (рис. 3А, В). Поскольку резистентность к полимиксину В используется в качестве ключевого маркера для дифференциации вибрионов биовара Эль Тор от холерных вибрионов классического биовара, то утрата возбудителем этого свойства может создавать определенные трудности при диагностике выделяемых штаммов. Что касается штаммов, обнаруженных в 2023 г., то все клинические изоляты были Nal^RPol^S , что подтверждает широкое распространение таких штаммов в эндемичных очагах (рис. 3А). Кроме того, впервые обнаружен занос в Россию штаммов, несущих в ICEVchInd5 делецию (около 10 тыс. п.н.), затронувшую четыре гена, кодирующих резистентность к хлорамфениколу (*floR*), стрептомицину (*strA*, *strB*) и сульфаниламиду (*sul2*). Сохранился лишь ген *dfrA1*, кодирующий устойчивость к триметоприму (рис. 3А). Таким образом, резистентность к антибиотикам занесенных в Россию штаммов за 30 лет (1993–2023 гг.) претерпела существенные изменения. При этом изменение резистентности геновариантов четко коррелировало с возникновением в их геноме мутаций в различных генах патогенности (рис. 2А, 3А), что привело к изменению многих важнейших свойств патогена, включая его вирулентность, чувствительность к антибактериальным препаратам и утрату одного из диагностически значимых признаков.

Сравнительный анализ геномов токсигенных штаммов V. cholerae Эль Тор, выделенных в эндемичных очагах холеры на разных этапах текущей пандемии. Появление различных вариантов возбудителя в России, занесенных из различ-

ных эндемичных очагов, ставит вопрос об их распространенности на этих территориях. В этой связи мы сопоставили геномы 108 штаммов, изолированных в 17 странах Азии (Индия, Бангладеш, Йемен, Пакистан, Вьетнам, Непал) и Африки (Конго, Мозамбик, Кот-д'Ивуар, Нигерия, Камерун, Гвинея, Малави, Нигер, Танзания, Уганда, Кения) в 1970–2023 гг. Анализ секвенированных участков генома, содержащих мобильные элементы СТХф, VPI-1 и VSP-II с ключевыми генами патогенности и эпидемичности, выявил заметные изменения их структуры у штаммов, изолированных в последние 30 лет (1991–2023 гг.) по сравнению с типичными штаммами из более раннего этапа пандемии (1970–1990 гг.) (рис. 2Б). Одно из важнейших изменений в период второй волны пандемии (1991–2001 гг.) — появление большого количества изолятов (66,7%) с аллелем *ctxB1*, среди которых 6,7% штаммов одновременно несли мутантный ген *tcpA*^{CIRS101}, а также протяженную делецию в VSP-II (VSP-IIΔ(*vc0495–vc0512*)). К тому же в хромосоме большинства штаммов присутствовали разные типы ICE (рис. 2Б, 3Б). Вначале третьей волны пандемии (2002–2014 гг.), наряду со штаммами с генотипом, характерным для второй волны, были выявлены штаммы (в 40,0% от числа изученных) с новым аллелем *ctxB7*, несущими и другие измененные гены — *tcpA*^{CIRS101} и VSP-IIΔ(*vc0495–vc0512*).

Кроме того, более 90,0% исследуемых штаммов оказались Nal^R за счет указанных выше мутаций в генах *gyrA* и *parC*. Что касается последнего десятилетия (2015–2023 гг.), то при незначительном количестве вариантов с геном *ctxB1* (8,5%), более 90,0% изолятов относились к новым вариантам с набором мутантных генов *ctxB7*, *tcpA*^{CIRS101}, *gyrA*(G248T), *parC*(C254T), VSP-IIΔ(*vc0495–vc0512*), которые обусловили повышение продукции ключевых факторов патогенности и усиление устойчивости к антибиотикам. Более того, вследствие мутации еще в одном гене — *carR*, более 75,0% изученных штаммов утратили Pol^R — диагностический признак вибрионов Эль Тор (рис. 2Б, 3Б). Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о большом геномном разнообразии штаммов в эндемичных регионах, где на протяжении двух последних волн пандемии происходило довольно быстрое изменение генома возбудителя, что привело к появлению его различных вариантов. К наиболее распространенным в последние годы следует отнести штаммы, сочетающие мутации в генах патогенности, эпидемичности и лекарственной устойчивости, что связано с усилением вирулентности патогена, изменением его резистентности к антибиотикам и утратой диагностически значимого свойства.

Обсуждение

Изменчивость генома возбудителя холеры Эль Тор — одна из основных проблем молекулярной микробиологии этого патогена, поскольку ее решение открывает новые возможности в расшифровке причин формирования в природных популяциях атипичных по вирулентным и диагностически значимым свойствам штаммов. Возрастающая значимость холеры для здравоохранения России и других стран может быть связана с возникновением в последние десятилетия различных генетических вариантов возбудителя, распространение которых быстро приобрело глобальные масштабы. При проведении полногеномного SNP-анализа показано, что деление исследуемых штаммов на три филогенетические группы, различающиеся между собой по структуре генома, совпадает с временным периодом трех волн глобального распространения возбудителя в мире из первичного очага. Присутствие в каждой группе токсигенных изолятов как из России, так и из эндемичных стран указывает на их генетическое сходство. Очевидное изменение генома возбудителя на протяжении более 50 лет (1970–2023 гг.) связано с такими молекулярными событиями, как горизонтальный перенос генетической информации и возникновение мутаций (однонуклеотидные замены, делеции) в нуклеотидной последовательности генов, кодирующих различные белки. При этом такие мутации приводят к изменению важнейших свойств возбудителя, включая его вирулентность и способность к эпидемическому распространению. Эти результаты полностью совпадают с данными других исследователей и подтверждают общую тенденцию последних лет — возрастание уровня генетической изменчивости этого патогена.

Сравнение геномов 155 штаммов возбудителя холеры, выделенных в России и эндемичных очагах в 1970–2023 гг., показало, что изоляты из разных волн пандемии четко различались между собой набором мутаций в ключевых генах патогенности и эпидемичности, входящих в состав мобильных элементов (СТХф, VPI-1 и VSP-II), что указывает на их разный патогенный потенциал. Геномное разнообразие штаммов значительно возросло в период третьей волны пандемии за счет возникновения различных мутаций в генах, кодирующих факторы вирулентности и лекарственной устойчивости, что привело к появлению новых геновариантов с повышенным патогенным и эпидемическим потенциалом. Установлено, что исследуемые штаммы, различающиеся между собой набором мутантных генов, принадлежали к шести разным генотипам. Анализ динамики изменения

генома показал, что если вначале третьей волны пандемии (2002–2014 гг.) лишь 40,0% штаммов из эндемичных регионов относились к недавно возникшим вариантам, несущим измененный ген *ctxB7*, являющийся генетическим маркером штаммов с повышенным патогенным потенциалом, то в последнее десятилетие (2015–2023 гг.) этот показатель превысил 90,0%. Вследствие таких генетических изменений возбудителя в эндемичных странах, занесенные в Россию штаммы в третью волну пандемии преимущественно также относились к новым геновариантам (в 62,5% и 66,7% случаев в зависимости времени выделения штаммов).

Отдельным был вопрос о динамике изменения устойчивости штаммов к лекарственным препаратам. Оказалось, что резистентность к антибиотикам исследуемых штаммов за 30 лет также претерпела существенные изменения. Такое событие в первую очередь было связано с появлением в геноме первых вариантов из второй волны пандемии (1991–2001 гг.) разных типов ICE, различающихся набором генов резистентности. Тем не менее в период третьей волны пандемии (2002–2023 гг.) у геновариантов с ICE произошли дальнейшие изменения устойчивости к антибиотикам. Точечные мутации в коровых генах *gyrA* (G248T) и *parC* (C254T) привели к появлению штаммов, резистентных к налидиксовой кислоте. В эндемичных странах и занесенных в Россию штаммы NaI^R составляли 90,0% и 87,5% соответственно. Другим важным событием стала утрата штаммами устойчивости к полимиксину В, используемой в качестве ключевого маркера для дифференциации вибрионов биовара Эль Тор от холерных вибрионов классического биовара. Причиной потери штаммами одного из диагностических свойств вибрионов Эль Тор стала точечная мутация в регуляторном гене *carR*(G265A). При этом происходил быстрый рост числа штаммов с такой мутацией. Если вначале третьей волны штаммы PoI^S из эндемичных регионов составляли лишь 16,0%, то через десять лет их число достигло более 80,0%. Изменение таких свойств геновариантов может создавать определенные трудности при диагностике штаммов возбудителя холеры, заносимых в Россию. Таким образом, изменение резистентности геновариантов четко коррелировало с возникновением в их геноме мутаций в различных генах патогенности, что привело к появлению и широкому распространению штаммов с усиленной вирулентностью, измененной лекарственной устойчивостью и утраченным диагностически значимым свойством. Совместное присутствие таких мутаций в геноме новых вариантов обусловило, видимо, селективные преимущества, следствием которых стало их широкое распространение.

Заключение

Установлено, что геномное разнообразие токсигенных штаммов значительно возросло в период третьей волны пандемии за счет различных мутаций, что привело к появлению новых геновариантов с повышенным патогенным и эпидемическим потенциалом. Показана довольно быстрая смена вариантов возбудителя, что является, видимо, следствием высокой скорости эволюции генома и адаптации возбудителя к человеческой популяции и меняющимся условиям внешней среды. Из известных вариантов особую обеспокоенность вызывают штаммы, сочетающие генетические маркеры гипервирулентности, множественной лекарственной устойчивости и утраченного диагностически значимого признака. Появление таких генетических вариантов возбудителя на территории России в результате заноса указывает на необходимость проведения постоянного геномного надзора за патогеном для понимания направления и скорости изменения генома в процессе эволюции и своевременного

распознавания доминирующего геноварианта. Полученные нами сведения о генетических свойствах широко распространенных вариантов возбудителя из России и эндемичных регионов могут быть востребованы при создании новых средств их лабораторной диагностики, основанной на идентификации генетических маркеров гипервирулентности. При оценке фенотипических и генетических свойств выделяемых штаммов следует также учитывать возможную утрату генетическими вариантами устойчивости к полимиксину В — диагностически значимого свойства, а также вариабельность их резистентности к лекарственным препаратам.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы/References

1. Бароян О.В. Холера Эль-Тор. М.: Медицина, 1971. 256 с. [Baroyan O.V. Cholera Biovar El Tor. Moscow: Meditsina, 1971. 256 p. (In Russ.)]
2. Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Олейников И.П., Титова С.В. Распространенность ICE элементов различных типов у *V. cholerae* // Здоровье населения и среда обитания — ЗНиСО. 2018. № 1. С. 33–35. [Vodop'yanov S.O., Vodop'yanov A.S., Oleynikov I.P., Titova S.V. Prevalence of ice elements of different types in *V. cholerae*. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya* — ZNiSO = Public Health and Life Environment — PH&LE, 2018, no. 1, pp. 33–35. (In Russ.)]
3. Кологоров А.И., Кедрова О.В., Пахомов Д.А., Пискунова Н.В., Ковтунов А.И., Васенин А.С., Кабин В.В., Илюхин А.А., Грачева И.В., Раздорский А.С., Сафронов В.А. Закономерности распространения холеры в бассейне Волги в 1970–1973 гг. // Проблемы особо опасных инфекций. 2010. № 104. С. 22–27. [Kologorov A.I., Kedrova O.V., Pakhomov D.A., Piskunova N.V., Kovtunov A.I., Vasenin A.S., Kabin V.V., Ilyukhin A.A., Gracheva I.V., Razdorskiy A.S., Safronov V.A. Regularities of Cholera Spread in the Volga Basin in 1970-1973. *Problemy osobo opasnykh infektsiy* = Problems of Particularly Dangerous Infections, 2010, no. 104, pp. 22–27. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2010-2(104)-22-27
4. Монахова Е.В., Ghosh A., Mutreja A., Weill F., Ramamurthy T. Эндемичная холера в Индии и завозная холера в России: что общего? // Проблемы особо опасных инфекций. 2020. № 3. С. 17–26. [Monakhova E.V., Ghosh A., Mutreja A., Weill F., Ramamurthy T. Endemic cholera in india and imported cholera in Russia: what is common? *Problemy osobo opasnykh infektsiy* = Problems of Particularly Dangerous Infections, 2020, no. 3, pp. 17–26. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-17-26
5. Онищенко Г.Г., Москвитина Э.А., Кругликов В.Д., Титова С.В., Адаменко О.Л., Водопьянов А.С., Водопьянов С.О. Эпидемиологический надзор за холерой в России в период седьмой пандемии // Вестник Российской академии медицинских наук. 2015. Т. 70, № 2. С. 249–256. [Onishchenko G.G., Moskvitina E.A., Kruglikov V.D., Titov S.V., Adamenko O.L., Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O. Surveillance of cholera in Russia during the seventh pandemic. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk* = Herald of the Russian Academy of Sciences, 2015, vol. 70, no. 2, pp. 249–256. (In Russ.)] doi: 10.15690/vramn.v70i2.1320
6. Попова А.Ю., Носков А.К., Ежлова Е.Б., Кругликов В.Д., Монахова Е.В., Чемисова О.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Подойницына О.А., Водопьянов А.С., Левченко Д.А., Савина И.В. Эпидемиологическая ситуация по холере в Российской Федерации в 2023 г. и прогноз на 2024 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2024. № 1. С. 76–88. [Popova A.Yu., Noskov A.K., Ezhlova E.B., Kruglikov V.D., Monakhova E.V., Chemisova O.S., Lopatin A.A., Ivanova S.M., Podoinitsyna O.A., Vodop'yanov A.S., Levchenko D.A., Savina I.V. Epidemiological situation on cholera in the Russian Federation in 2023 and forecast for 2024. *Problemy osobo opasnykh infektsiy* = Problems of Particularly Dangerous Infections, 2024, no. 1, pp. 76–88. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2024-1-76-88
7. Рыбальченко Д.А., Шелканова Е.Ю., Лозовский Ю.В., Федоров А.В., Смирнова Н.И. Распространенность разных типов интегративного конъюгативного элемента SXT/R391, кодирующего множественную резистентность к антибиотикам, среди клинических штаммов возбудителя холеры // Проблемы особо опасных инфекций. 2022. № 1. С. 137–147. [Rybal'chenko D.A., Shchelkanova E.Yu., Lozovsky Yu.V., Fedorov A.V., Smirnova N.I. Prevalence of different types of integrative conjugative element SXT/R391 encoding multiple antibiotic resistance among clinical strains of cholera agent. *Problemy osobo opasnykh infektsiy* = Problems of Particularly Dangerous Infections, 2022, no. 1, pp. 137–147. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2022-1-137-147

8. Рыбальченко Д.А., Лозовский Ю.В., Краснов Я.М., Щелканова Е.Ю., Смирнова Н.И. Молекулярно-генетический анализ штаммов *Vibrio cholerae* O1 Эль-Тор, выявленных на территории России в 2023 г. // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2024. Т. 42, № 1. С. 34–42. [Rybal'chenko D.A., Lozovsky Yu.V., Krasnov Ya.M., Shchelkanova E.Yu., Smirnova N.I. Molecular-Genetic Analysis of *Vibrio cholerae* O1 El Tor Strains Identified In Russia in 2023. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2024, vol. 42, no. 1, pp. 34–42. (In Russ.)] doi: 10.17116/molgen20244201134.
9. Савельев В.Н., Савельева И.В., Васильева О.В., Бабенышев Б.В., Ковалев Д.А., Грижебовский Г.М., Антоненко А.Д., Курбанов Ш.Х., Бутаев Т.М., Куличенко А.Н. Эволюция *Vibrio cholerae* eltor и обнаружение их генотипических вариантов на Кавказе // Проблемы особо опасных инфекций. 2012. Т. 4, № 114. С. 58–60. [Savel'ev V.N., Savel'eva I.V., Vasil'eva O.V., Babenyshev B.V., Kovalev D.A., Grizhebovsky G.M., Antonenko A.D., Kurbanov Sh.Kh., Butaev T.M., Kulichenko A.N. Evolution of *Vibrio cholerae* El Tor and detection of their gene-variants in the Caucasus. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Evolution of Particularly Dangerous Infections*, 2012, vol. 4, no. 114, pp. 58–60. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2012-4-58-60
10. Смирнова Н.И., Заднова С.П., Шашкова А.В., Кутырев В.В. Вариабельность генома измененных вариантов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор, завезенных на территорию России в современный период // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2011. Т. 26, № 3. С. 102–110. [Smirnova N.I., Zadnova S.P., Shashkova A.V., Kutyrev V.V. Genome variability in the altered variants of *Vibrio cholerae* biovar El Tor isolated In Russia. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2011, vol. 26, no. 3, pp. 102–110. (In Russ.)] doi: 10.3103/S0891416811030062
11. Смирнова Н.И., Рыбальченко Д.А., Плеханов Н.А., Лозовский Ю.В., Федоров А.В., Кутырев В.В. Новые генетические варианты возбудителя холеры и их распространение в эндемичных странах и России // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2023. Т. 41, № 1. С. 10–17. [Smirnova N.I., Rybal'chenko D.A., Plekhanov N.A., Lozovsky Yu.V., Fedorov A.V., Kutyrev V.V. New genetic variants of cholera agent and their distribution in epidemic countries and Russia. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2023, vol. 41, no. 1, pp. 10–17. (In Russ.)] doi: 10.17116/molgen20234101110
12. Bhandari M., Jennison A.V., Rathnayake I.U., Huygens F. Evolution, distribution and genetics of atypical *Vibrio cholerae* — a review. *Infect. Genet. Evol.*, 2021, vol. 89: 104726. doi: 10.1016/j.meegid.2021.104726
13. Chaguza C., Chibwe I., Chaima D., Musicha P., Ndeketa L., Kasambara W., Mhango C., Mseka U.L., Bitilinyu-Bangoh J., Mvula B., Kipandula W., Bonongwe P., Munthali R.J., Ngwira S., Mwendera C.A., Kalizang'oma A., Jambo K.C., Kambalame D., Kamng'ona A.W., Steele D., Chauma-Mwale A., Hungerford D., Kagoli M., Nyaga M.M., Dube Q., French N., Msefula C.L., Cunliffe N.A., Jere K.C. Genomic insights into the 2022–2023 *Vibrio cholerae* outbreak in Malawi. *Nat. Commun.*, 2024, vol. 15, no. 1: 6291. doi: 10.1038/s41467-024-50484-w
14. Dolores J., Satchell K.J. Analysis of *Vibrio cholerae* genome sequences reveals unique rtxA variants in environmental strains and an rtxA-null mutation in recent altered El Tor isolates. *mBio*, 2013, vol. 4, no. 2, pp. 1–9. doi: 10.1128/mBio.00624-12
15. Dziejman M., Balon E., Boyd D., Fraser C.M., Heidelberg J.F., Mekalanos J.J. Comparative genomic analysis of *Vibrio cholerae*: genes that correlate with cholera endemic and pandemic disease. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2002, vol. 9, no. 3, pp. 1556–1561. doi: 10.3410/f.1004686.53905
16. Gladkikh A.S., Feranchuk S.I., Ponomareva A.S., Bochalgin N.O., Mironova L.V. Antibiotic resistance in *Vibrio cholerae* El Tor strains isolated during cholera complications in Siberia and the Far East of Russia. *Infect. Genet. Evol.*, 2020, vol. 78: 104096. doi: 10.1016/j.meegid.2019.104096
17. Kim H.B., Wang M., Ahmed S., Park C.H., LaRocque C.R., Faruque A.S., Salam M.A., Khan W.A., Qadri F., Calderwood S.B., Jacoby G.A., Hooper D.C. Transferable Quinolone Resistance in *Vibrio cholerae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2010, vol. 54, pp. 799–803. doi: 10.1128/AAC.01045-09
18. Mironova L.V., Gladkikh A.S., Ponomareva A.S., Feranchuk S.I., Bochalgin N.O., Basov E.A., Khunkheeva Yu.Z., Balakhonov S.V. Comparative genomics of *Vibrio cholerae* El Tor strains isolated at epidemic complications in Siberia and at the Far East. *Infect. Genet. Evol.*, 2018, vol. 60, pp. 80–88. doi: 10.1016/j.meegid.2018.02.023
19. Mutreja A., Kim D.W., Thomson N., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Lebens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G. Evidence for multiple waves of global transmission within the seventh cholera pandemic. *Nature*, 2011, vol. 477, pp. 462–465. doi: 10.1038/nature10392
20. Nair G.B., Faruque S.M., Bhuiyan N.A., Kamruzzaman M., Siddique A.K., Sack D.A. New variants of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor with attributes of the classical biotype from hospitalized patients with acute diarrhea in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.*, 2002, vol. 40, no. 9, pp. 3296–3299. doi: 10.1128/JCM.40.9.3296-3299.2002
21. Pant A., Das B., Bhadra R.K. CTX phage of *Vibrio cholerae*: genomics and applications. *Vaccine*, 2020, vol. 29, no. 38, suppl. 1: A7-A12. doi: 10.1016/j.vaccine.2019.06.034
22. Reimer A.R., Domselaar G.V., Stroika S., Walker M., Kent H., Tarr C., Talkington D., Rowe L., Olsen-Rasmussen M., Frace M., Sammons S., Dahourou G.A., Boncy J., Smith A.M., Mabon P., Petkau A., Graham M., Gilmour M.W., Gerner-Smidt P. Comparative Genomics of *Vibrio cholerae* from Haiti, Asia, and Africa. *Emerg. Infect. Dis.*, 2011, vol. 17, no. 11, pp. 2113–2121. doi: 10.3201/eid1711.110794
23. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends Microbiol.*, 2010, vol. 18, pp. 46–54. doi: 10.1016/j.tim.2009.10.003
24. Samanta P., Mandal R.S., Saha R.N., Shaw S., Ghosh P., Dutta S., Ghosh A., Imamura D., Morita M., Ohnishi M., Ramamurthy T., Mukhopadhyay A.K. A point mutation in carR is involved in the emergence of polymyxin B-sensitive *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype by influencing gene transcription. *Infect. Immun.*, 2020, vol. 88, no. 5: e00080–20. doi: 10.1128/IAI.00080-20
25. Spagnoletti M., Ceccarelli D., Rieux A., Fondi M., Taviani E., Fani R., Colombo M.M., Colwell R.R., Balloux F. Acquisition and evolution of SXT-R391 integrative conjugative elements in the seventh-pandemic *Vibrio cholerae* lineage. *mBio*, 2014, vol. 5, no. 4: e01356-14. doi: 10.1128/mBio.01356-14

26. Talkington D., Bopp C., Tarr C., Parsons M.B., Dahour G., Freeman M., Joyce K., Turnsek M., Garrett N., Humphrys M., Gomez G., Stroika S., Boncy J., Ochieng B., Oundo J., Klena J., Smith A., Keddy K., Gerner-Smidt P. Characterization of toxigenic *Vibrio cholerae* from Haiti, 2010–2011. *Emerg. Infect. Dis.*, 2011, vol. 17, no. 11, pp. 2122–2129. doi: 10.3201/eid1711.110805
27. Taviani E., Grim C.J., Choi J., Chun J., Haley B., Hasan N.A., Huq A., Colwell R.R. Discovery of novel *Vibrio cholerae* VSP-II genomic islands using comparative genomic analysis. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2010, vol. 308, pp. 130–137. doi: 10.1111/j.1574-6968.2010.02008.x
28. Weill F.X., Domman D., Njamkepo E., Tarr C., Rauzier J., Fawal N., Keddy K.H., Salje H., Moore S., Mukhopadhyay A.K., Bercion R., Luquero F.J., Ngandjio A., Dosso M., Monakhova E., Garin B., Bouchier C., Pazzani C., Mutreja A., Grunow R., Sidikou F., Bonte L., Breurec S., Damian M., Njanpop-Lafourcade B.M., Sapriel G., Page A.L., Hamze M., Henkens M., Chowdhury G., Mengel M., Koeck J.L., Fournier J.M., Dougan G., Grimont P.A.D., Parkhill J., Holt K.E., Piarroux R., Ramamurthy T., Quilici M.L., Thomson N.R. Genomic history of the seventh pandemic of cholera in Africa. *Science*, 2017, vol. 358, no. 6364, pp. 785–789. doi: 10.1126/science.aad5901

Авторы:

Смирнова Н.И., д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории патогенных вибрионов отдела микробиологии ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;

Рыбальченко Д.А., научный сотрудник лаборатории патогенных вибрионов отдела микробиологии ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;

Лозовский Ю.В., к.м.н., младший научный сотрудник лаборатории патогенных вибрионов отдела микробиологии ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;

Краснов Я.М., к.х.н., зав. лабораторией геномного и протеомного анализа отдела микробиологии ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;

Щелканова Е.Ю., к.б.н., старший научный сотрудник отдела «Государственная коллекция патогенных бактерий» ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;

Федоров А.В., младший научный сотрудник лаборатории геномного и протеомного анализа отдела микробиологии ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;

Кутырев В.В., д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия.

Authors:

Smirnova N.I., DSc (Biology), Professor, Head Researcher, Laboratory of Pathogenic Vibrios, Department of Microbiology, Russian Anti-Plague Institute “Microbe” of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation;

Rybal’chenko D.A., Researcher, Laboratory of Pathogenic Vibrios, Department of Microbiology, Russian Anti-Plague Institute “Microbe” of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation;

Lozovsky Yu.V., PhD (Medicine), Junior Researcher, Laboratory of Pathogenic Vibrios, Department of Microbiology, Russian Anti-Plague Institute “Microbe” of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation;

Krasnov Ya.M., PhD (Chemistry), Head of the Genomic and Proteomic Analysis Laboratory, Department of Microbiology, Russian Anti-Plague Institute “Microbe” of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation;

Shchelkanova E.Yu., PhD (Biology), Senior Researcher, Department “State Collection of Pathogenic Bacteria”, Russian Anti-Plague Institute “Microbe” of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation;

Fedorov A.V., Junior Researcher, Genomic and Proteomic Analysis Laboratory, Department of Microbiology, Russian Anti-Plague Institute “Microbe” of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation;

Kutyrev V.V., RAS Full Member, DSc (Medicine), Professor, Director of the Russian Anti-Plague Institute “Microbe” of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОПИСТОРХОЗОМ ПРИ НАЛИЧИИ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ К РАЗВИТИЮ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТОНИИ

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

ФБУН Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора,
г. Тюмень, Россия

Резюме. Для выявления особенностей функционирования иммунной системы у больных хроническим описторхозом с наличием мутаций в локусах, ассоциированных с предрасположенностью к развитию артериальной гипертонии, проведены комплексные исследования неспецифической резистентности, клеточного и гуморального звеньев адаптивного 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 общих иммуноглобулинов классов М, G, А и Е. Полиморфизмы генов выявляли методом пиросеквенирования с применением системы генетического анализа «РугоMark24» и коммерческих наборов реагентов (АмплиСенс Пироскрин «ТОНО-скрин»). Предрасположенность к развитию артериальной гипертонии оценивалась путем обнаружения полиморфизмов в локусах: rs1042713 гена ARDB2 (адренорецептор β_2); rs4762 гена AGT (ангиотензиноген); rs699 гена AGT (ангиотензиноген); rs5186 гена AGTR1 (рецептор 1 типа ангиотензина II); rs1799983 гена NOS3 (синтаза окиси азота). У больных хроническим описторхозом в группах с наличием и отсутствием полиморфизмов rs4762 гена AGT (ангиотензиноген) и rs5186 гена AGTR1 (рецептор 1 типа ангиотензина II) различий в показателях иммунного реагирования выявлено не было. В результате исследования иммунологических показателей в группе пациентов с хроническим описторхозом с мутацией гена ARDB2 (адренорецептор β_2) по сравнению с группой без мутации наблюдается подавление гуморального (снижен общий иммуноглобулин Е) и дополнительная активация врожденного иммунного ответа на хроническую паразитарную инвазию (повышено абсолютное количество лейкоцитов, моноцитов). Исследования иммунологических показателей больных хроническим описторхозом в группе с наличием редкого аллеля rs699 гена AGT (ангиотензиноген) продемонстрировали снижение относительного количества лимфоцитов, сни-

Адрес для переписки:

Григорьева Светлана Андреевна
625026, Россия, г. Тюмень, ул. Республики, 147,
ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии
Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (3452) 28-99-93 (доб. 1070). Факс: 8 (3452) 28-99-92.
E-mail: info@Tniikip.rosпотребнадzor.ru

Contacts:

Svetlana A. Grigorieva
625026, Russian Federation, Tyumen, Republic str., 147,
Tyumen Region Infection Pathology Research Institute.
Phone: 8 (3452) 28-99-93 (add. 1070). Fax: 8 (3452) 28-99-92.
E-mail: info@Tniikip.rosпотребнадzor.ru

Для цитирования:

Григорьева С.А., Степанова К.Б., Степанова Т.Ф., Озерова А.Н.,
Бакштановская И.В., Кальгина Г.А., Курлаева Л.В. Иммунологические
показатели у больных хроническим описторхозом при наличии мутаций
в генах, ассоциированных с предрасположенностью к развитию
артериальной гипертонии // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1.
С. 71–78. doi: 10.15789/2220-7619-IPI-17711

Citation:

Grigorieva S.A., Stepanova K.B., Stepanova T.F., Ozerova A.N.,
Bakshtanovskaya I.V., Kalgina G.A., Kurlaeva L.V. Immunological parameters
in patients with chronic opisthorchiasis coupled to mutant genes associated
with predisposition to arterial hypertension development // Russian Journal
of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1,
pp. 71–78. doi: 10.15789/2220-7619-IPI-17711

жение концентрации общего иммуноглобулина М и повышение относительного количества В-лимфоцитов по сравнению с группой с наличием частого аллеля. Исследование показателей иммунного ответа пациентов с хроническим описторхозом в группе с наличием мутации rs1799983 гена NOS3 (синтаза окиси азота) по сравнению с группой без мутации выявило повышение бактерицидного потенциала нейтрофилов (стимулированный вариант теста с нитросиним тетразолием (НСТ-тест)); повышено также и относительное количество Т-хелперов (CD4⁺).

Ключевые слова: врожденный иммунитет, адаптивный иммунитет, показатели иммунной системы, хронический описторхоз, артериальная гипертензия, генетические полиморфизмы.

IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH CHRONIC OPISTHORCHIASIS COUPLED TO MUTANT GENES ASSOCIATED WITH PREDISPOSITION TO ARTERIAL HYPERTENSION DEVELOPMENT

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

Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russian Federation

Abstract. To identify the features of immune system functioning in patients with chronic opisthorchiasis coupled to mutant gene loci associated with arterial hypertension predisposition, comprehensive studies on innate and adaptive immunity were conducted. The state of neutrophil engulfment and bactericidal activity was assessed. The phenotype of lymphocytes was determined by flow cytometry. The humoral arm of the immune system was assessed by quantitating total immunoglobulins of classes M, G, A and E. Gene polymorphisms were detected by pyrosequencing. The predisposition to arterial hypertension development was assessed by assessing polymorphisms in the gene loci: ARDB2 rs1042713; AGT rs4762; AGT rs699; AGTR1 rs5186; NOS3 rs1799983. In patients with chronic opisthorchiasis with and without polymorphisms AGT rs4762 and AGTR1 rs5186, had no difference in immune response. Patients with vs. without ARDB2 rs1042713 had suppressed humoral (reduced total IgE) along with activated innate immune response in chronic opisthorchiasis (increased absolute count of leukocytes and monocytes). In the group with the rare AGT rs699 vs. common allele there was a decrease in the percentage of lymphocytes, a lower total IgM level and increased percentage of B lymphocytes. Immune indicators in patients with chronic opisthorchiasis with vs. without rs1799983 mutation in the NOS3 gene had higher neutrophil bactericidal potential (stimulated nitrosine tetrazolium test (NST test)) along with percentage of T-helper cells (CD4⁺).

Key words: innate immunity, adaptive immunity, immune system parameters, chronic opisthorchiasis, arterial hypertension, genetic polymorphisms.

Введение

В Российской Федерации в течение последних 10–15 лет наблюдался рост смертности от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), а артериальная гипертензия (АГ) является основным фактором риска, определяющим прогноз заболеваемости и смертности от ССЗ [15]. Традиционно гипертоническая болезнь рассматривалась как нарушение двух систем, которые участвуют в регуляции водно-солевого баланса и сердечно-сосудистой функции: ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) и симпатической нервной системы (СНС). Однако лечение, направленное на ограничение влияния РААС или СНС на артериальное давление, дает сбой в 40% случаев, что предполагает, что должны быть задействованы еще какие-то механизмы [19]. В последнее время существует мнение, что на развитие артериальной гипертензии оказывает влияние иммунная система. Длительный воспалительный процесс вызывает накопление активных форм кислорода (АФК), вызывающих окисли-

тельный стресс, который приводит к эндотелиальной дисфункции — основной причине АГ, а повышенные количества ангиотензина II (вызывающего спазм сосудов), в свою очередь, оказывают активирующее влияние на иммунную систему. Усиленная активация иммунной системы является механизмом, поддерживающим АГ, и в то же время АГ опосредует генерализованную воспалительную реакцию в организме, нарушая функционирование кровеносных сосудов, сердца, почек и головного мозга. При гипертонии иммунные клетки проникают в кровеносные сосуды, способствуя эндотелиальной дисфункции и препятствуя расслаблению сосудов. В почках наблюдается инфильтрация и накопление различных подмножеств иммунных клеток; в сердце — инфильтрация провоспалительных элементов. Участие иммунной системы в развитии АГ кажется безусловным [18, 20] — она не только усугубляет развитие АГ, но способна предотвратить развитие артериальной гипертензии. Механизмы адаптивного иммунного ответа активируются в ответ на сигналы от СНС и РААС: проис-

ходит дифференцировка Т-лимфоцитов в Th-1 и Th-17, которые являются провоспалительными. В то же время адаптивная иммунная система может препятствовать развитию АГ, например, CD4⁺ Т-клетки, дифференцируясь в регуляторные Т-клетки (Tregs), подавляют активацию иммунного ответа, поскольку продуцируют иммуносупрессивные цитокины, такие как TGF- β и IL-10. Эти цитокины снижают эндотелиальную дисфункцию, препятствуя развитию артериальной гипертензии [16].

Механизмы иммунного ответа при описторхозе, несмотря на многолетнюю историю изучения этого гельминтоза, до настоящего времени остаются актуальной проблемой. В предыдущих исследованиях [6] были выявлены следующие изменения иммунного реагирования в хроническую стадию описторхозной инвазии: повышение концентрации в сыворотке крови общих циркулирующих иммунных комплексов; повышение активности фермента нейтрофилов миелопероксидазы (МПО), поглотительной способности и активности бактерицидных систем нейтрофилов (НСТ-тест); повышение относительного и абсолютного количества эозинофилов; снижение количества моноцитов и натуральных киллеров (NK). Изменяется и адаптивный иммунный ответ: у пациентов с хроническим описторхозом (ХО) снижается количество лимфоцитов, цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺), В-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁺); увеличивается относительное количество Т-лимфоцитов, Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺) и Т-лимфоцитов с маркером поздней активацией (CD3⁺HLA-DR⁺); возрастает индекс CD4⁺/CD8⁺.

В последнее время приходит понимание неоднородности патогенеза одного и того же заболевания при различных индивидуальных молекулярно-генетических и морфофункциональных особенностях организма [3]. Ранее проведенные исследования [1, 5, 8] позволили предположить влияние генетических полиморфизмов, связанных с предрасположенностью к развитию неинфекционных заболеваний, на реакцию иммунной системы пациентов с ХО на инвазию. Спектр генов-кандидатов включает группы генов, контролирующих различные метаболические, гомеостатические и иммунологические системы, нарушения которых, вовлечены в патогенез сердечно-сосудистых заболеваний и механизмы иммунного ответа [10].

Целью исследования было выявление взаимосвязи между наличием полиморфизмов, ассоциированных с развитием артериальной гипертензии, и особенностями функционирования иммунной системы у пациентов с хронической описторхозной инвазией.

Материалы и методы

Было обследовано 52 пациента с диагнозом хронический описторхоз. Все пациенты дали информированное согласие на участие в этом исследовании. Проведение исследования одобрено этическим комитетом ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора (протокол № 2 от 01.02.2023 г.). Медиана возраста обследуемых составила 54 года (IQR 38,8–62). 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 [14]. Метаболическую активность нейтрофилов определяли цитохимическим методом восстановления нитросинего тетразолия до диформаза (НСТ-тест спонтанный и стимулированный 10% раствором пирогенала). Спонтанный НСТ-тест отражал степень активации кислородзависимого метаболизма и связанную с ним выработку свободных радикалов; стимулированный вариант характеризовал функциональный резерв [9]. Уровень миелопероксидазы нейтрофилов выявляли спектрофотометрическим методом [9].

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⁺), NK-клетки (CD3⁻CD16/56⁺CD45⁺), В-лимфоциты (CD3⁻CD19⁺CD45⁺) и активированные Т-лимфоциты (CD3⁺CDHLADR⁺CD45⁺). Абсолютные значения были получены с помощью двухплатформенной технологии с использованием результатов гематологического анализа. Концентрацию иммуноглобулинов М, G, А, и Е в сыворотке крови определяли 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 на-

боров «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 «ТОНО-скрин»), предназначенных для оценки предрасположенности к развитию артериальной гипертонии путем обнаружения полиморфизмов в локусах:

- rs1042713 гена ARDB2 (Адренорецептор β 2);
- rs4762 гена AGT (Ангиотензиноген);
- rs699 гена AGT (Ангиотензиноген);
- rs5186 гена AGTR1 (Рецептор 1 типа ангиотензина II);
- rs1799983 гена NOS3 (Синтаза окиси азота).

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 артериальной гипертонии. В статье представлены достоверно различающиеся показатели ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

При сравнении иммунологических показателей пациентов с ХО в группах с наличием и отсутствием мутаций генов AGT rs 4762 и AGTR1 rs5186 различий не выявлено.

Выявленные достоверные различия изучаемых показателей между группами пациентов с хроническим описторхозом с наличием мутантных аллелей генов, ассоциированных с развитием артериальной гипертонии, и без них представлены в таблицах.

У пациентов ХО с редким аллелем rs1042713 гена β 2-адренорецептора (ARDB2) по сравнению с пациентами с частым аллелем достоверно повышено абсолютное количество лейкоцитов и абсолютное количество моноцитов; снижен общий иммуноглобулин Е (табл.1).

Мутации гена β 2-адренергического рецептора (ARDB2) ассоциированы с развитием артериальной гипертонии. β 2-адренергические рецепторы (β 2-AR) связаны с медленными кальциевыми каналами L-типа и обеспечивают расслабление гладкой мускулатуры, в том числе бронходилатацию и вазодилатацию [12]. β 2-AR находятся практически на всех клетках организма человека (иммунных клетках в том числе) и опосредуют эффекты катехоламинов. Активация β 2-AR сопряжена с реакциями и врожденного, и адаптивного иммунного ответа. При активации рецепторов в нейтрофилах человека ингибируется экспрессия CD11b/CD18 (рецепторы комплемента CR3), фагоцитоз, адгезия, миграция и окислительный метаболизм [22]. Естественные киллеры, экспрессирующие β 2-AR, получают при их активации ингибирующие сигналы, а моноциты приобретают противовоспалительный фенотип. Адаптивный иммунный ответ также модулируется активированными β 2-AR. Получая стимул через β 2-AR, дендритные клетки вызывают дифференцировку CD4⁺ Т-клеток в Th1-

Таблица 1. Иммунологические показатели у пациентов с хроническим описторхозом в зависимости от наличия или отсутствия минорного аллеля rs1042713 гена ARDB2

Table 1. Immunological parameters in patients with chronic opisthorchiasis, with/without minor allele rs1042713 of the ARDB2 gene

Показатель, единица измерения Parameter, unit of measurement	Отсутствие минорного аллеля, M \pm m/Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Without minor allele, M \pm m/Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) n = 17	Наличие минорного аллеля, M \pm m/Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) With minor allele, M \pm m/Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) n = 34	Сравнение групп, p Group comparison, p
Лейкоциты, кл/мкл Leukocytes, cells/ μ l	5252 \pm 379	6352 \pm 355	0,05 T-тест/T-test
Моноциты, кл/мкл Monocytes, cells/ μ l	210 (152–240)	301,5 (178,5–387)	0,03 U-тест/U-test
IgE, ME/мл IgE, IU/ml	16,5 (9–34)	8 (2,13–22,75)	0,05 U-тест/U-test

Таблица 2. Иммунологические показатели у пациентов с хроническим описторхозом в зависимости от наличия или отсутствия минорного аллеля rs699 гена AGT

Table 2. Immunological parameters in patients with chronic opisthorchiasis with/without minor allele rs699 of AGT gene

Показатель, единица измерения Parameter, unit of measurement	Отсутствие минорного аллеля, M±m Without minor allele, M±m n = 17	Наличие минорного аллеля, M±m With minor allele, M±m n = 34	Сравнение групп, p Group comparison, p
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	37,43±3,12	30,98±1,09	0,05 Т-тест/T-test
CD3-CD19+, %	7,43±0,72	10,39±0,65	0,02 Т-тест/T-test
IgM, мг/мл IgM, mg/ml	2,15±0,33	1,97±0,14	0,01 Т-тест/T-test

или Th2-типа [24]. Опосредуемые β 2-AR сигналы вызывают ингибирование эффекторных функций Т-лимфоцитов [23]. Стимуляция β 2-AR на В-лимфоцитах через систему cAMP/РКА вызывает активацию В-лимфоцитов: растет уровень протеина IgG1, наблюдается повышение экспрессии CD86. Стимуляция β 2-AR на Т-лимфоцитах ингибирует (в различной степени выраженности) продукцию провоспалительных цитокинов Th-1, таких как IFN γ , IL-12, TNF α , и усиление продукции цитокинов Th2, таких как IL-10 и трансформирующий фактор роста (TGF- β), являющихся противовоспалительными [17]. Таким образом, стимуляция β 2-AR, находящихся на клетках иммунной системы, модулирует иммунный ответ — снижает активность врожденного и клеточного звена специфического иммунитета и усиливает активность гуморального звена адаптивного иммунного ответа. В целом стимуляция β 2-AR приводит к снижению воспалительных и усилению противовоспалительных эффектов иммунного ответа.

Результаты исследований иммунологических показателей пациентов ХО с редким аллелем гена ADRB2 свидетельствуют об усилении

реакций врожденного иммунитета и подавлении реакций гуморального звена специфического иммунного ответа. Активация механизмов неспецифической резистентности и подавление гуморального звена специфического иммунитета у пациентов ХО с наличием минорного аллеля гена β 2-AR выражена в большей степени, чем в целом по всей группе с хроническим описторхозом. Вероятно, это является неблагоприятным эффектом данной мутации на течение инвазионной болезни, так как у пациентов с редким аллелем этого гена иммунный ответ избыточен и, возможно, переходит границы физиологической нормы.

Исследования иммунологических показателей пациентов ХО с наличием минорного аллеля (rs699) гена ангиотензиногена (AGT) продемонстрировало достоверное снижение относительного количества лимфоцитов в группе без мутации. Относительное количество В-лимфоцитов в этой же группе повышено. Концентрация общего IgM у пациентов с мутацией снижена (табл. 2).

Ген AGT кодирует белок ангиотензиноген, который служит предшественником ангиотензина-II, обладающего вазопрессорной ак-

Таблица 3. Иммунологические показатели у пациентов с хроническим описторхозом в зависимости от наличия или отсутствия минорного аллеля rs1799983 гена NOS3

Table 3. Immunological parameters in patients with chronic opisthorchiasis with/without minor allele rs1799983 of the NOS3 gene

Показатель, единица измерения Parameter, unit of measurement	Отсутствие минорного аллеля, M±m/Me (Q ₂₅ -Q ₇₅) Without minor allele, M±m/Me (Q ₂₅ -Q ₇₅) n = 17	Наличие минорного аллеля, M±m/Me (Q ₂₅ -Q ₇₅) With minor allele, M±m/Me (Q ₂₅ -Q ₇₅) n = 34	Сравнение групп, p Group comparison, p
НСТстим., % NBT stimulated, %	37 (32,5-44,5)	46,5 (34-51)	0,049 U-тест/U-test
НСТстим./НСТспонт. NBT stimulated/NBT spontaneous	2 (1,415-2,5)	2,5 (2,0-3,3)	0,040 U-тест/U-test
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , %	45±1	49,3±11,7	0,05 Т-тест/T-test

тивностью. Есть данные подтверждающие связь этого протеина с иммунным ответом при развитии АГ. Ангиотензин II обладает значительным провоспалительным действием, индуцируя рекрутирование моноцитов и лимфоцитов в субэндотелиальное пространство, увеличивая экспрессию молекул клеточной адгезии, агрегацию тромбоцитов и секрецию цитокинов, хемокинов и факторов роста, которые вовлечены в развитие атеросклероза и воспаление сосудистой стенки. Ангиотензин II определяет дифференцировку иммунных клеток в клетки провоспалительного фенотипа и последующую продукцию ими провоспалительных цитокинов, таких как IL-6, IFN γ , IL-17 TNF α , что усиливает окислительный стресс [18]. Т-клетки активируются и проникают в ткани в ответ на стимуляцию ангиотензином II. При ангиотензин II-зависимой артериальной гипертензии наблюдается увеличение Th-клеток; дисбаланс Т-хелперных лимфоцитов с увеличением Th1-типа и снижением Th2-типа в селезенке и почках; увеличение количества CD8⁺ Т-клеток и дважды негативных Т-клеток (CD3⁺CD4⁻CD8⁻); потеря адапторного белка лимфоцитов LNK (также известного как SH2B3) и увеличение хемокина RANTES. Также было отмечено увеличение количества Т-клеток памяти CD3⁺CD45RO⁺. Роль В-клеток не столь очевидна, однако в развитии ангиотензин-II-зависимой гипертензии она также существенна [4, 18, 22, 25].

Результаты исследований иммунологических показателей у пациентов ХО с редким аллелем гена AGT по сравнению с пациентами с частым аллелем указывают на отличия в адаптивном иммунном ответе. У пациентов с мутацией гена AGT наблюдается снижение относительного количества лимфоцитов, В-лимфоцитов; снижена продукция общего иммуноглобулина М, что может указывать на подавление механизмов клеточного и гуморального звеньев адаптивного иммунного ответа. По-видимому, у пациентов с минорным аллелем гена AGT активация иммунного ответа выражена в меньшей степени. Возможно, это способствует уменьшению повреждений, вызванных гиперактивным иммунным ответом на описторхозную инвазию. В таком случае эта мутация благоприятна для пациентов с описторхозной инвазией и заболевание может протекать в более легкой степени, ведь в патогенезе описторхоза значимую роль играют иммунопатологические реакции, а от характера сформированного иммунного ответа на инвазию зависит степень патологических изменений в организме человека [11].

Исследования показателей иммунного ответа пациентов ХО в группах с наличием и отсут-

ствием мутации rs1799983 гена NOS3 (синтаза окиси азота) выявили следующие отличия: повышение показателя бактерицидности нейтрофилов — стимулированного НСТ-теста и повышение индекса стимуляции этого теста в группе с редким аллелем. Относительное количество хелперов (CD4⁺) у пациентов с мутацией гена NOS3 повышено (табл. 3).

Ген NOS3 кодирует эндотелиальную синтазу окиси азота (NOS3), которая участвует в синтезе оксида азота (NO) в клетках эндотелия сосудов. Окись азота является нейромедиатором, вызывает расслабление гладких мышц сосудов, участвует в защите от патогенов, регулирует программируемую гибель и пролиферацию клеток, играет важную роль в секреторной и репродуктивной системе [7]. Снижение активности NO-синтазы может привести к развитию сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений [21].

У пациентов с хроническим описторхозом наблюдается активация механизмов врожденного иммунного ответа. При наличии минорного аллеля гена синтазы окиси азота у пациентов с ХО показатели врожденного иммунного ответа также демонстрируют активацию, но по показателям стимулированного НСТ-теста и соотношению НСТстим./НСТспонт. можно судить о большем бактерицидном потенциале фагоцитирующих клеток, чем в отсутствие мутации гена NOS3. Наблюдаются изменения в клеточном звене адаптивного иммунного ответа: увеличение количества CD4⁺-лимфоцитов (характерное для описторхозной инвазии) более выражено у пациентов с мутацией. Возможно, мутация гена NOS3 неблагоприятна для пациентов ХО, так как приводит к усилению иммунного реагирования на описторхозную инвазию.

Заключение

При гельминтозах реакция иммунной системы, направленная на защиту от инвазии, является одновременно одним из главных механизмов патогенеза: иммунологические реакции, переходя границы адекватного физиологического ответа, становятся иммунопатологическими [13], являясь причиной тяжелых органных поражений. Результаты проведенного исследования позволяют предположить, что мутации генов, ассоциированных с развитием гипертензии, могут влиять на иммунное реагирование организма в ответ на заражение возбудителем описторхоза — усиливать или ослаблять иммунный ответ. Выявление исследованных полиморфизмов генов, ассоциированных с развитием АГ, у пациентов с ХО позволит осуществлять индивидуальный подход в терапии.

Список литературы/References

1. Бакштановская И.В., Степанова К.Б., Озерова А.Н., Степанова Т.Ф., Зматракова Е.А. Показатели функций гепатобилиарной системы у больных хроническим описторхозом с генетической предрасположенностью к развитию сахарного диабета 2 типа // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2023. № 1. С. 3–9. [Bakshtanovskaya I.V., Stepanova K.B., Ozerova A.N., Stepanova T.F., Zmatrakova E.A. Indicators of the functions of the hepatobiliary system in patients with chronic opisthorchiasis with a genetic predisposition to the development of type 2 diabetes mellitus. *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni = Medical Parasitology and Parasitic Diseases*, 2023, no. 1, pp. 3–9. (In Russ.)] doi: 10.33092/0025-8326mp2023.1.3-9
2. Бебякова Н.А., Куба А.А., Феликсова О.М., Хромова А.В. Анализ влияния полиморфизма 894G>Т гена NOS3 на продукцию вазоактивных эндотелиальных факторов. 2016. [Bebyakova N.A., Kuba A.A., Felixova O.M., Khromova A.V. Analysis of the effect of the 894G>T polymorphism of the NOS3 gene on the production of vasoactive endothelial factors. 2016. (In Russ.)] URL: <https://izron.ru/articles/sovremennaya-meditsina-aktualnye-voprosy-i-perspektivy-razvitiya-sbornik-nauchnykh-trudov-po-itogam-sektsiya-19-mediko-biologicheskie-nauki-spetsialnost-14-03-00/analiz-vliyaniya-polimorfizma-894g-t-gena-nos3-na-produktsiyu-vaooaktivnykh-ndotelialnykh-faktorov>
3. Борисов А.Г., Савченко А.А., Кудрявцев И.В. Особенности иммунного реагирования при вирусных инфекциях // Инфекция и иммунитет. 2015. Т. 5, № 2. С. 148–156. [Borisov A.G., Savchenko A.A., Kudryatsev I.V. Features of the immune response during viral infection. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2015, vol. 5, no. 2, pp. 148–156. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2015-2-148-156
4. Выхристенко Л.Р., Счастливленко А.И., Прокошина Н.Р. Влияние системы иммунитета на формирование артериальной гипертензии. Обзор литературы // Вестник ВГМУ. 2019. Т. 18, № 4. С. 17–27. [Vykhristenko L.R., Shchastvenko A.I., Prokoshina N.R. The influence of the immune system on the formation of arterial hypertension. Literature review. *Vestnik VGMU = Proceedings of Voronezh State University*, 2019, vol. 18, no. 4, pp. 17–27. (In Russ.)] doi: 10.22263/2312-4156.2019.4.17
5. 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
6. Григорьева С.А., Степанова К.Б., Степанова Т.Ф., Кальгина Г.А., Курлаева Л.В. Различия иммунного реагирования у пациентов с хронической описторхозной инвазией в зависимости от наличия клинических проявлений заболеваний органов гепатобилиарной системы // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 2. С. 363–368. [Grigorieva S.A., Stepanova K.B., Stepanova T.F., Kalgina G.A., Kurlaeva L.V. Differences in immune response in patients with chronic opisthorchiasis invasion related to clinical manifestations of hepatobiliary system diseases. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2023, vol. 13, no. 2, pp. 363–368. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-DII-2099
7. Кузнецова В.Л., Соловьева А.Г. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 4. [Kuznetsova V.L., Solovyova A.G. Nitric oxide: properties, biological role, mechanisms of action. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*, 2015, no. 4. (In Russ.)] URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=21037> (01.07.2024)
8. 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. [Kurlaeva L.V., Stepanova T.F., Stepanova K.B., Kosyreva A.N., Bakshtanovskaya I.V., Kalgina G.A., Grigorieva S.A. Immunological parameters in patients with chronic opisthorchiasis bearing gene mutations associated with osteoporosis-predisposition. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 923–930. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-IPI-8486
9. 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.)] URL: <https://eanbur.unatlib.ru/items/aab663fa-c36c-4252-9d0a-e171ff10c84a> (01.08.2024)
10. Пахомя Н.С., Урясьев О.М., Шаханов А.В. Роль полиморфизмов некоторых генов в реализации артериальной гипертензии // Земский Врач, 2014. № 3–4 (24). С. 21–24. [Pakhomia N.S., Uryasev O.M., Shakhanov A.V. Some genes polymorphism role in arterial hypertension realization. *Zemskii Vrach = Zemsky Doktor*, 2014, no. 3-4 (24), pp. 21–24. (In Russ.)]
11. Степанова Т.Ф. Описторхоз: новый взгляд на инвазионную болезнь, основы клинической реабилитации, методологию крупномасштабных оздоровительных работ. Тюмень: Изд-во ТГУ, 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.)]
12. Тимашева Я.Р., Насибуллин Т.Р., Имаева Э.Б., Мирсаева Г.Х., Мустафина О.Е. Полиморфизм генов бета-адренорецепторов и риск эссенциальной гипертензии // Артериальная гипертензия. 2015. Т. 21, № 3. С. 259–266. [Timasheva Ya.R., Nasibullin T.R., Imaeva E.V., Mirsaeva G.Kh., Mustafina O.E. Beta-adrenoreceptor gene polymorphisms and the risk of essential hypertension. *Arterial'naya gipertenziya = Arterial Hypertension*, 2015, vol. 21, no. 3, pp. 259–266. (In Russ.)] doi: 10.18705/1607-419X-2015-21-3-259-266
13. Филимонова Л.А., Борисенко Т.А. Описторхоз, клинические проявления // Сибирское медицинское обозрение. 2006. Т. 39, № 2. [Filimonova L.A., Borisenko T.A. Opisthorchiasis, clinical. *Siberian Medical Review*, 2006, vol. 39, no. 2. (In Russ.)]

14. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Методические рекомендации по оценке иммунного статуса человека. В кн.: Экологическая иммунология. М.: Изд-во 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: Publishing house VNIRO, 1995, pp. 126–127. (In Russ.)]
15. Шальнова С.А., Баланова Ю.А., Константинов В.В., Тимофеева Т.Н., Иванов В.М., Капустина А.В., Деев А.Д. Артериальная гипертензия: распространенность, осведомленность, прием антигипертензивных препаратов и эффективность лечения среди населения Российской Федерации // Российский кардиологический журнал. 2006. № 4. С. 45–50. [Shalnova S.A., Balanova Yu.A., Konstantinov V.V., Timofeeva T.N., Ivanov V.M., Kapustina A.V., Deev A.D. Arterial hypertension: prevalence, awareness, antihypertensive pharmaceutical treatment, treatment effectiveness in Russian population. Rossiiskii kardiologicheskii zhurnal = Russian Journal of Cardiology, 2006, no. 4, pp. 45–50. (In Russ.)]
16. Agita A., Alsagaff M.T. Inflammation, immunity, and hypertension. *Acta Med. Indones.*, 2017, vol. 49, no. 2, pp. 158–165.
17. Cosentino M., Marino F., Maestroni G.J. Sympathoadrenergic modulation of hematopoiesis: a review of available evidence and of therapeutic perspectives. *Front. Cell. Neurosci.*, 2015, no. 9: 302. doi: 10.3389/fncel.2015.00302
18. Da Silva C.H.N.D., Guedes, I.H.L., de Lima J.C.S., Sobrinho, J.M.D.R., Dos Santos A.A. Reactions triggered by the immune system in hypertensive conditions and consequences for damage to target organs: a review. *Curr. Cardiol. Rev.* 2023; vol. 19, no. 2. e200922208959. doi: 10.2174/1573403X18666220920090632
19. Drummond G.R., Vinh A., Guzik T.J., Sobi S.G. Immune mechanisms of hypertension. *Nat. Rev. Immunol.*, 2019, no. 8, pp. 517–532. doi: 10.1038/s41577-019-0160-5
20. Hashmat S., Rudemiller N., Lund H., Abais-Battad J.M., Van Why S., Mattson D.L. Interleukin-6 inhibition attenuates hypertension and associated renal damage in Dahl salt-sensitive rats. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, 2016, vol. 311, no. 3, pp. F555–F561. doi: 10.1152/ajprenal.00594.2015
21. Kobashi G., Yamada H., Ohta K., Kato E., Ebina Y., Fujimoto S. Endothelial nitric oxide synthase gene (NOS3) variant and hypertension in pregnancy. *Am. J. Med. Genet.*, 2001, vol. 103, no. 3, pp. 241–244.
22. Mikolajczyk T.P., Guzik T.J. Adaptive immunity in hypertension. *Curr. Hypertens Rep.*, 2019, vol. 21, no. 9: 68. doi: 10.1007/s11906-019-0971-6
23. Mohammadpour H., MacDonald C.R., Qiao G., Chen M., Dong B., Hylander B.L., McCarthy P.L., Abrams S.I., Repasky E.A. β 2 adrenergic receptor-mediated signaling regulates the immunosuppressive potential of myeloid-derived suppressor cells. *J. Clin. Invest.*, 2019, vol. 129, no. 12, pp. 5537–5552. doi: 10.1172/JCI129502
24. Scanzano A., Cosentino M.M. Adrenergic regulation of innate immunity: a review. *Front. Pharmacol., Sec. Inflammation Pharmacology.* 2015, vol. 6. doi: 10.3389/fphar.2015.00171
25. Vázquez-Oliva G., Fernández-Real J.M., Zamora A., Vilaseca M., Badimón L. Lowering of blood pressure leads to decreased circulating interleukin-6 in hypertensive subjects. *J. Hum. Hypertens.* 2005, no. 6, pp. 457–462. doi: 10.1038/sj.jhh.1001845

Авторы:

Григорьева С.А., научный сотрудник группы клинической и экспериментальной иммунологии ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, г. Тюмень, Россия;

Степанова К.Б., к.м.н., доцент, директор ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, г. Тюмень, Россия;

Степанова Т.Ф., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, г. Тюмень, Россия;

Озерова 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., руководитель 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, руководитель группы клинической и экспериментальной иммунологии ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, г. Тюмень, Россия;

Курлаева Л.В., младший научный сотрудник группы клинической и экспериментальной иммунологии ФБУН Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, г. Тюмень, Россия.

Authors:

Grigorieva S.A., Researcher, Clinical and Experimental Immunology Group, Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russian Federation;

Stepanova K.B., PhD (Medicine), Associate Professor, Director of Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russian Federation;

Stepanova T.F., DSc (Medicine), Professor, Head Researcher, Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russian Federation;

Ozerova A.N., Researcher, Molecular Genetic and Parasitological Research Group, Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russian Federation;

Bakshtanovskaya I.V., PhD (Biology), Head of the Molecular Genetic and Parasitological Research Group, Scientific Secretary, Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russian Federation;

Kalgina G.A., PhD (Biology), Leading Researcher, Head of the Clinical and Experimental Immunology Group, Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russian Federation;

Kurlaeva L.V., Junior Researcher, Clinical and Experimental Immunology Group, Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russian Federation.

ИНФИЦИРОВАННОСТЬ ОПУХОЛИ ВИРУСАМИ ГЕРПЕСА ЧЕЛОВЕКА И ОСОБЕННОСТИ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМОЙ

Е.В. Светлова, Н.В. Балацкая, И.Г. Куликова, С.В. Саакян, И.В. Свирина,
А.Е. Андрушин, Е.Б. Мякошина

ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия

Резюме. *Введение.* Роль вирусов группы герпеса (HHV) в развитии глазной онкопатологии в настоящее время остается одним из малоизученных вопросов. Важным фактором, способствующим неопластической прогрессии, является ослабление системы иммунологического надзора и, в частности, нарушения в количественном и качественном составе основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови. Цель: определение и анализ субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у пациентов с УМ в зависимости от инфицированности материала опухолей вирусами герпеса человека (HHV). *Материалы и методы.* Биоматериал 99 пациентов с опухолями увеального тракта обследован методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) на наличие ДНК вирусов герпеса 1 и 2 типов (HSV-1,2), вируса Varicella Zoster (VZV), цитомегаловируса (CMV), вируса Эпштейна–Барр (EBV), вирусов герпеса человека 6 и 8 типов (HHV-6, HHV-8). Всего исследована 231 тест-проба (ткань опухоли (n = 99), кровь (n = 132)). Для постановки ПЦР-РВ использовали коммерческие тест-системы ЗАО «Вектор-Бест». Всем пациентам провели исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови методом лазерной цитофлуориметрии на проточном цитометре «BD FACS Canto II». В группу контроля вошли 33 здоровых донора. Статистическая обработка данных выполнена в программах «Biostatd», «Excel» (t - критерий Стьюдента, уровень статистической значимости: $p < 0,05$) *Результаты.* ДНК HHV обнаружена в материале опухоли 11,3% пациентов (n = 11): в 72,7% случаев EBV, в 18,2% — HHV-6. В 1 случае (при АПЭС) выявлено сочетанное инфицирование EBV и HHV-6. По результатам ПЦР-обследования в зависимости от инфицированности опухоли пациентов распределили на 2 группы: I группа — HHV+ и II группа — HHV-. У пациентов HHV+ группы обнаружили статистически значимое повышение общего количества Т-клеток (CD3+) и снижение НК-клеток в сравнении с пациентами без ДНК возбудителя в ткани опухоли и группой контроля. Индивидуальный анализ частоты сдвигов от нормы показал, что в группе HHV+ в 3 раза чаще встречаются пациенты с повышенными значениями относительного количества CD3+-лимфоцитов, в 2 раза чаще абсолютного количества CD3+CD4+CD8+-клеток, в 2,3 раза чаще с увеличением соотношения CD4+/CD8+. *Заключение.* Полученные данные позволяют предположить участие вирусов в поддержании иммунологической резистентности у пациентов с опухолями.

Ключевые слова: вирусы группы герпеса, увеальная меланома, ПЦР, субпопуляции лимфоцитов, кровь, ткань опухоли.

Адрес для переписки:

Светлова Елена Викторовна
105062, Россия, Москва, ул. Садовая-Черногрозская, 14/19,
ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца.
Тел.: 8 916 463-12-96. E-mail: qr888@ya.ru

Contacts:

Elena V. Svetlova
105062, Russian Federation, Moscow, Sadovaya-
Chernogryazskaya str., 14/19, Moscow Helmholtz Research
Centre of Eye Diseases.
Phone: +7 916 463-12-96. E-mail: qr888@ya.ru

Для цитирования:

Светлова Е.В., Балацкая Н.В., Куликова И.Г., Саакян С.В., Свирина И.В., Андрушин А.Е., Мякошина Е.Б. Инфицированность опухоли вирусами герпеса человека и особенности субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у пациентов с увеальной меланомой // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 79–87. doi: 10.15789/2220-7619-TIW-17669

Citation:

Svetlova E.V., Balatskaya N.V., Kulikova I.G., Saakyan S.V., Svirina I.V., Andryushin A.E., Myakoshina E.B. Tumor infection with human herpes viruses and features of peripheral blood lymphocyte subset composition in patients with uveal melanoma // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 79–87. doi: 10.15789/2220-7619-TIW-17669

TUMOR INFECTION WITH HUMAN HERPES VIRUSES AND FEATURES OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTE SUBSET COMPOSITION IN PATIENTS WITH UVEAL MELANOMA

Svetlova E.V., Balatskaya N.V., Kulikova I.G., Saakyan S.V., Svirina I.V., Andryushin A.E., Myakoshina E.B.

Moscow Helmholtz Research Centre of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

Abstract. Introduction. Currently, a role for human herpes viruses (HHV) in development of ocular oncopathology remains one of the poorly explored issues. An important factor contributing to neoplastic progression is impaired immunosurveillance particularly alterations in quantitative and qualitative composition of the hallmark peripheral blood lymphocyte subsets. The aim of the study was to determine and analyze peripheral blood lymphocyte subset composition in patients with uveal melanoma (UM) assessing human herpes viruses (HHV) infection in tumor material. **Materials and methods.** Biomaterial from 99 patients with uveal tract tumors was examined by real-time polymerase chain reaction (rt-PCR) for DNA presence coupled to herpes virus type 1 and 2 (HSV-1,2), Varicella Zoster virus (VZV), cytomegalovirus (CMV), Epstein-Barr virus (EBV), human herpes virus types 6 and 8 (HHV-6, HHV-8). A total of 231 test samples (tumor tissue (n = 99), blood (n = 132)) were examined. Commercial test-systems of “Vector-Best” (Russia) were used for rt-PCR staging. Peripheral blood lymphocyte subset composition in all patients was studied by laser cytofluorometry on “BD FACSCanto II” flow cytometer. The control group included 33 healthy donors. Statistical data processing was performed using “Biostatd”, “Excel” (t – Student’s t-test, level of statistical significance: $p < 0.05$) software. **Results.** HHV DNA was detected in the tumor material from 11.3% of patients (n = 11): in 72.7% of cases EBV, in 18.2% – HHV-6. Co-infection with EBV and HHV-6 was detected in 1 case (retinal pigment epithelium adenocarcinoma). According to the PCR data, patients were divided into 2 groups based on tumor infectivity: Group 1 – HHV+ and Group 2 – HHV-. Patients from HHV+ group had significantly increased and decreased total T-cell (CD3+) and NK-cell count, respectively, compared with patients lacking HHV DNA in tumor tissue and control group. Individual analysis of frequencies deviating from normal range showed that HHV+ group had 3-fold more often increased percentage of CD3+ lymphocytes, 2-fold more often absolute count of CD3+CD4+CD8+ cells, 2.3-fold more often rise in CD4+/CD8+ ratio. **Conclusion.** The obtained data suggest that viruses may be involved in maintaining immunological resistance in tumor patients.

Key words: herpes group viruses, uveal melanoma, polymerase chain reaction, lymphocyte subpopulations, blood, tumor tissue.

Введение

Вирусы группы герпеса (HHV) — ДНК-содержащие вирусы, способные интегрироваться в геном клетки хозяина, вызывать пожизненную латентную инфекцию и реактивироваться в условиях ослабленного иммунитета. HHV-γ, обладают высоким онкогенным потенциалом, участвуют в росте и прогрессировании злокачественных опухолей различной локализации.

Так, роль вируса Эпштейна–Барр (EBV) в развитии лимфом Беркитта, Ходжкина, НК-/Т-клеточной лимфомы назального типа, а также рака желудка и носоглотки подтверждена многочисленными исследованиями [18, 27]. Показано, что вирус герпеса человека 8 типа (HHV-8) является причиной ряда лимфопролиферативных заболеваний, саркомы Капоши, карциномы гортани и аденокарциномы (АК) предстательной железы [12, 28, 38]. Эффекты HHV α- и β-подгрупп (Herpes simplex virus (HSV-1, HSV-2), цитомегаловируса (CMV), вирус герпеса человека 6 типа (HHV-6) и др.), связанные с малигнизацией, продолжают активно изучаться.

Роль HHV в развитии глазной онкопатологии в настоящее время остается одним из малоизученных вопросов. В доступной литературе найдены единичные публикации, в которых приведены описания опухолей конъюнктивы и первичных витреоретинальных неходжкин-

ских лимфом, ассоциированных с EBV [5, 25, 36]. Случай обнаружения геномов CMV и EBV в сочетании с *Chlamydia trachomatis* в материале пациента с увеальной меланомой представлен также в работе С.В. Саакян и соавт. [4].

Ежегодно в России фиксируется более 1000 случаев (на 100 тыс. населения) офтальмоонкологических заболеваний, среди которых наиболее распространенным является увеальная меланом (УМ) [3]. УМ происходит из меланоцитов сосудистой оболочки, наиболее часто локализуется в хориоиде (до 90%) и, значительно реже, в радужке и цилиарном теле.

Несмотря на то что в настоящее время разработаны высокотехнологичные современные методы лечения УМ, более чем у половины пациентов в короткие сроки развивается метастатическая болезнь, которая значительно ухудшает витальный прогноз [35].

Важным фактором, способствующим неопластической прогрессии, является ослабление системы иммунологического надзора и, в частности, нарушения в количественном и качественном составе основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови.

Действительно, в 1990-х гг. группами Kan-Mitchell J. с соавт. и Huang X.Q. с соавт. были обнаружены изменения количества циркулирующих цитотоксических лимфоцитов крови при меланоме кожи и увеального тракта [14, 17].

Несколько позднее появились данные, свидетельствующие об ассоциации роста УМ со сдвигами более широкого состава иммунокомпетентных клеток, вовлекающими также звено хелперов/индукторов, минорную популяцию «дубль-позитивных» Т-клеток и натуральные киллеры (CD16⁺CD56⁺) — основные лимфоциты врожденного иммунитета, играющие ключевую роль в противоопухолевой и противовирусной защите.

В последние годы было показано, что реактивация и хроническое течение герпесвирусной инфекции при УМ, в отличие от пациентов с неонкологической патологией глаза и нормальной иммунологической реактивностью, сопровождается «неадекватными» сдвигами в составе эффекторных популяций лимфоцитов врожденного и адаптивного иммунитета, что может вести к ослаблению противоопухолевой защиты и способствовать злокачественному росту [1].

Взаимодействия в системе «вирус — клетки опухоли — иммунная защита организма» при УМ в силу методических трудностей, остаются все еще малоизученными, в то время как онкогенная роль вирусов — облигатных внутриклеточных паразитов неоспоримо доказана при целом ряде злокачественных новообразований.

На сегодняшний день большинство исследований сосредоточены на расшифровке иммуномодулирующих свойств микроокружения опухоли *in situ* и детальных механизмах опухольспецифического ответа.

Однако исследования, направленные на прямой поиск HHV в опухоли и возможных взаимосвязей ее инфицированности с качественным и количественным составом субпопуляций лимфоцитов крови при УМ, не проводились.

Цель: определение и анализ субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у пациентов с УМ в зависимости от инфицированности материала опухолей вирусами герпеса человека (HHV).

Материалы и методы

В исследование вошли 99 пациентов (57 женщин и 42 мужчины в возрасте от 18 до 83 лет) с опухолями увеального тракта, находившихся на лечении в Отделе офтальмоонкологии ФГБУ НМИЦ Глазных болезней им. Гельмгольца.

Диагноз ставился на основании данных стандартных и специализированных офтальмологических методов обследования. Средний уровень проминенции опухоли (по данным эхографии) составил $6,1 \pm 3,0$ мм, а диаметр основания — $15,7 \pm 2,1$ мм. Всем пациентам проведена энуклеация пораженного глаза с последующим патогистологическим исследованием. У 98 па-

циентов диагностирована УМ (99%), в одном случае морфология опухоли соответствовала аденокарциноме пигментного эпителия сетчатки (АПЭС).

Материал опухоли помещался в криобирки типа Eppendorf и хранился в камере глубокой заморозки при температуре -70°C до проведения исследований.

В биоматериале опухоли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) (термоциклер «CFX96», Bio-Rad Laboratories, Inc., США) проводилось определение генома HSV-1,2, VZV, CMV, EBV, вирусов HHV-6, HHV-8 согласно инструкциям фирмы-производителя. Для постановки ПЦР-РВ использовали коммерческие тест-системы ЗАО «Вектор-Бест» (Россия).

Забор крови проводился в утреннее время до энуклеации в вакуумные пробирки со стабилизатором К3ЭДТА (Zhejiang Gongdong Medical Technology Co., Ltd., КНР).

Иммунофенотипирование субпопуляций лимфоцитов в цельной крови (ЦК) пациентов и здоровых доноров выполнялось методом лазерной цитофлуориметрии на проточном цитометре «BD FACS Canto II» (Becton Dickinson, США) с использованием системы моноклональных антител «Multitest 6-Color TBNK Reagent» в пробирках «BD Tru Count» (Becton Dickinson, США). В программе Canto (Becton Dickinson, США) определяли относительное и абсолютное содержание Т-лимфоцитов (CD3⁺), Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺CD8⁻), Т-цитотоксических (CD3⁺CD4⁻CD8⁺), Т-дубль позитивных (CD3⁺CD4⁺CD8⁺), НК-клеток (CD16⁺CD56⁺), В-лимфоцитов (CD19⁺), рассчитывался индекс (CD4⁺/CD8⁺), отражающий баланс хелперов и цитотоксических Т-клеток.

В группу контроля вошли 33 здоровых человека без признаков офтальмопатологии, сопоставимых по возрасту и полу с пациентами основных групп.

Всего исследована 231 проба биоматериала: ткани опухоли (n = 99) и цельная кровь (n = 132).

Статистическая обработка данных выполнена в программах «Biostatd», «Excel» (t-критерий Стьюдента, уровень статистической значимости: $p < 0,05$). Количественные данные представлены в виде $M \pm m$ (M — среднее значение, m — ошибка среднего значения).

Результаты

ДНК HHV обнаружена в материале опухоли 11,3% пациентов (n = 11): при этом наиболее часто, в 72,7% случаев (n = 8), определялся геном EBV, существенно реже, в 18,2% проб (2 человека), — HHV-6. В 1 случае (при АПЭС) выявлено сочетанное инфицирование EBV и HHV-6.

По результатам ПЦР-обследования в зависимости от инфицированности опухоли пациентов распределили на 2 группы: I группа — HHV+ и II группа — HHV-.

Результаты исследования крови пациентов основных групп показали, что средние значения абсолютного количества лимфоцитов (CD45+) были примерно одинаковыми (2,1±0,08 × 10⁹/л HHV-; 2,2±0,2 × 10⁹/л HHV+) (табл.).

При анализе средних значений общей субпопуляции Т-клеток (CD3+) обнаружили повышение как относительного до 77,64±1,18%, так и абсолютного (1,7±0,15 × 10⁹/л) ее содержания у пациентов HHV+ в сравнении как с контрольной группой доноров без офтальмопатологии (73,1±0,87%, p < 0,05; 1,51±0,08 × 10⁹/л), так и с группой без ДНК возбудителя в ткани опухоли (71,18±0,86%, p < 0,05; 1,51±0,07 × 10⁹/л).

Повышение CD3+ лимфоцитов в HHV+ группе было обусловлено, главным образом, подъемом абсолютного (1,12±0,13 × 10⁹/л) и относительного (49,5±2,06%) количества Т-хелперов/индукторов (CD3+CD4+), отличавшим ее как от контроля (0,97±0,06 × 10⁹/л; 45,7±1,19%), так и от группы пациентов с неинфицированными

ми опухолями (0,97±0,05 × 10⁹/л; 45,01±0,98%). Содержание цитотоксических лимфоцитов (CD3+CD8+) у пациентов обеих групп было практически одинаковым (0,6±0,06 × 10⁹/л; 0,6±0,03 × 10⁹/л) и незначительно отличалось от такового у контрольной группы (0,52±0,03 × 10⁹/л), это касается как абсолютных, так и относительных значений.

Индивидуальный анализ частоты сдвигов от нормы показал, что у 36,4% пациентов с инфицированными опухолями относительное количество Т-клеток (CD3+) было выше нормальных значений, тогда как у пациентов с HHV-опухольми такие изменения в содержании указанной субпопуляции наблюдались в 3 раза реже (11,4%). Данная тенденция сохранялась по отношению к Т-хелперам/индукторам и цитотоксическим лимфоцитам (рис.).

В крови пациентов I группы (с присутствием ДНК вирусов в ткани опухоли) наиболее часто выявлялся дисбаланс основных регуляторных популяций хелперов-индукторов/цитотоксических лимфоцитов, который заключался в увеличении соотношения CD4+/CD8+. Так, если в группе HHV- только в 15,9% случаев отме-

Таблица. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови здоровых добровольцев и пациентов с УМ в зависимости от инфицированности материала опухоли (M±m)

Table. Peripheral blood lymphocyte subset composition in healthy volunteers and patients with uveal melanoma based on tumor material HHV infection (M±m)

Показатель Factors	Единица измерения Unit	Исследуемые группы Groups		
		Контроль Control (n = 33)	Пациенты с УМ Patients with UM (n = 99)	
			Наличие генома HHV в материале опухоли HHV genome detected in tumor material	
		HHV+ (n = 11)	HHV - (n = 88)	
Лимфоциты CD45+ Lymphocytes CD45+	× 10 ⁹ /л	2,06±0,11	2,2±0,2	2,1±0,08
Т-лимфоциты общая популяция CD3+ T lymphocytes (total population) CD3+	%	73,1±0,87	77,64±1,18*#	71,18±0,86
	× 10 ⁹ /л	1,51±0,08	1,7±0,15	1,51±0,066
Т-хелперы CD3+CD4+ T helpers CD3+CD4+	%	45,7±1,19	49,5±2,06	45,01±0,98
	× 10 ⁹ /л	0,97±0,06	1,12±0,13	0,97±0,05
Т-цитотоксические CD3+CD8+ Cytotoxic T lymphocytes CD3+CD8+	%	25,6±1,04	28,37±2,5	26,7±0,83
	× 10 ⁹ /л	0,52±0,03	0,6±0,06	0,6±0,03
Т-«двубль-позитивные» лимфоциты CD3+CD4+CD8+ "Double positive" lymphocytes CD3+CD4+CD8+	%	0,54±0,31	1,19±0,23*	1,25±0,15*
	× 10 ⁹ /л	0,009±0,007	0,026±0,005*	0,027±0,004*
В-лимфоциты CD19+ B lymphocytes CD19+	%	12,8±0,63	12,4±1,32	13,3±0,65
	× 10 ⁹ /л	0,24±0,02	0,29±0,05	0,29±0,02
Натуральные киллеры CD16+CD56+ Natural killers CD16+CD56+	%	14±0,87	9,49±1,33*#	15,06±0,8
	× 10 ⁹ /л	0,29±0,03	0,2±0,03	0,29±0,015
Отношение CD4+/CD8+ CD4+/CD8+ ratio		1,95±0,12	1,95±0,25	1,84±0,07

Примечание. N — количество обследуемых в группе; * — достоверность различия параметров у пациентов исследуемых групп по сравнению с группой контроля (p < 0,05); # — достоверность различия параметров у пациентов основных исследуемых групп (p < 0,05).

Note. N — number of subjects per group; * — significant differences for test group patient parameters compared with control group (p < 0.05); # — significant differences for patient parameters in main test groups (p < 0.05).

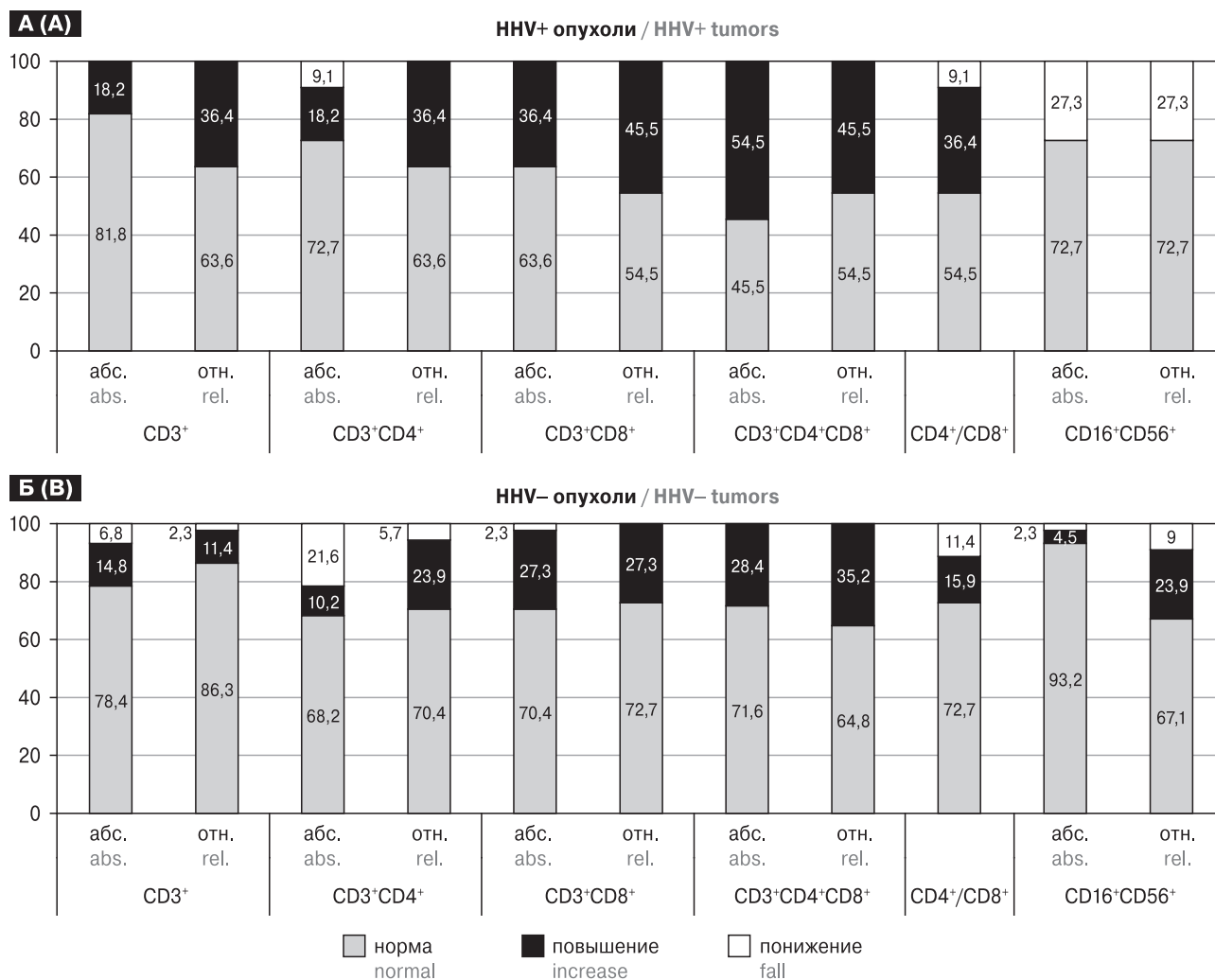


Рисунок. Частота случаев (%) сдвигов от нормы (здоровых доноров) в (суб)популяционном составе лимфоцитов крови (относительное и абсолютное количество) и клеточного соотношения CD4⁺/CD8⁺ у пациентов с HHV+ (А) и HHV- (Б) тканью УМ

Figure. Incidence of shifts from normal range (healthy donors) for blood lymphocyte population (sub) profile (relative and absolute numbers), CD4⁺/CD8⁺ cell ratio in patients with HHV+ (A) and HHV- (B) uveal melanoma tissue

чалось повышение CD4⁺/CD8⁺ относительно нормы, то в группе HHV+ данные сдвиги выявлялись в 2,3 раза чаще (36,4%). Относительное и абсолютное количество «дубль-позитивных» Т-клеток (CD3⁺CD4⁺CD8⁺) было повышено у пациентов обеих групп ($0,026 \pm 0,005 \times 10^9/\text{л}$, $p < 0,05$; $0,027 \pm 0,004 \times 10^9/\text{л}$, $p < 0,05$) в сравнении с группой контроля ($0,009 \pm 0,007 \times 10^9/\text{л}$), что подтверждает ранее опубликованные данные и согласуется с исследованиями других ученых. При этом индивидуальный анализ частоты сдвигов от нормы показал, что в группе HHV+ практически в 2 раза чаще (54,5%) встречаются пациенты с повышенными значениями абсолютного количества «дубль-позитивных» лимфоцитов, чем в группе HHV- (28,4%). Увеличение количества CD3⁺CD4⁺CD8⁺ клеток в крови онкологических пациентов, а также больных аутоиммунными и инфекционными заболеваниями описано в целом ряде работ [6, 32, 33].

Обращает внимание достоверное снижение относительного количества НК-клеток ($10 \pm 1,3\%$) у пациентов подгруппы HHV+ по сравнению как с контрольной ($14 \pm 0,87\%$, $p < 0,05$), так и с группой пациентов с HHV- опухолями ($15 \pm 0,8$, $p < 0,05$). При индивидуальном анализе частоты сдвигов от нормы у 25% пациентов с инфицированными опухолями абсолютное и относительное количество НК-клеток также было снижено, тогда как в крови у пациентов с HHV- опухолями, наоборот, отмечалось повышение относительного (23,9%) и абсолютного (4,5%) содержания клеток указанной популяции.

Обсуждение

По результатам нашего исследования инфицированность опухолей увеального тракта составила 11,3%, при этом практически в 73%

из них была обнаружена ДНК EBV. В течение жизни EBV сохраняется в эпителиальных клетках и В-лимфоцитах, реализуя два основных сценария течения инфекции — латентную и литическую [11]. В-лимфоциты поддерживают вирус в латентной форме, экспрессируя шесть ядерных антигенов (EBNA) и два латентных мембранных белка (LMP), что обеспечивает его уклонение от системы иммунологического надзора. В латентно инфицированных ВЭБ-положительных клетках вирус может реактивироваться и перейти к продуктивной фазе жизнедеятельности, называемой литическим циклом. Во время литической репликации EBV поочередно экспрессирует до 80 генов, что приводит к образованию новых вирусных частиц, гибели инфицированной клетки и распространению вируса по организму [19].

В литературе описаны исследования, подтверждающие способность EBV инфицировать клетки эндотелия сосудов и активировать внутриклеточные белки-ингибиторы апоптоза [16, 24]. Бесконтрольный рост сосудов опухоли, поддерживаемый в том числе EBV, способствует ее питанию и росту, а также повышает риск метастазирования за счет увеличения проницаемости сосудистой стенки. Роль EBV в развитии метастатической болезни при УМ еще предстоит изучить, однако ряд уже проведенных исследований указывает на то, что вирус способствует метастазированию других опухолей, например, назофарингеальной карциномы [13, 21]. Два паттерна развития инфекции EBV обуславливают различные варианты взаимодействия между вирусом и клеткой, а также локальный и системный иммунный ответ. Ослабление контроля со стороны иммунной системы приводит к трансформации зараженной клетки, в том числе онкогенного характера. Считается, что EBV является причиной 1% (до 200 000 случаев ежегодно) злокачественных новообразований человека [39]. По данным литературы, до 90% населения земного шара инфицировано EBV, однако развитие онкологического процесса, ассоциированного с вирусом, наблюдается лишь в исключительных случаях [15]. Очевидным фактором, объясняющим столь редкое распространение онкологических заболеваний, вызванных EBV, у здоровых инфицированных людей, является наличие мощного иммунного ответа на вирус, в частности, опосредованного Т-клеточным звеном иммунитета.

Реакция иммунной системы на трансформированную клетку и своевременное ее уничтожение лежит в основе противоопухолевого иммунного ответа. Распознавание генетически измененной клетки запускает сигнальный каскад в лимфоцитах, сопровождающийся выработкой цитокинов, позволяющих избежать

противоопухолевой толерантности иммунной системы. Дендритные клетки захватывают белки — продукты онкогенеза и предоставляют их Т-лимфоцитам на молекулах гистосовместимости МНС I и МНС II, активируя ответ эффекторных Т-клеток против канцер-специфических антигенов [8]. В литературе описаны исследования, указывающие на способность клеток УМ блокировать активирующую функцию дендритных клеток, в частности, продукцию ими цитокинов и активацию Т-лимфоцитов [23].

Онкологическая трансформация, запущенная EBV, подавляет противоопухолевые механизмы клетки, так как экспрессия латентных генов вируса сопряжена с перестройками в матричной РНК клетки-хозяина и препятствует синтезу защитных белков (p53, p63, p73) [7]. В данных условиях адекватный системный противоопухолевый иммунный ответ в случае вирус-положительных опухолей становится практически единственным способом защитить организм от бесконтрольного роста трансформированных клеток. В связи с этим изучение субпопуляционного состава лимфоцитов и их роли в элиминации опухолевых клеток актуально для разных видов опухолей, особенно инфицированных различными возбудителями. В публикациях отечественных и зарубежных авторов описано повышение CD3⁺CD4⁺ лимфоцитов (Т-хелперов) у пациентов с различными видами опухолей [2, 37]. Т-хелперы/индукторы играют важную роль в иммунной защите и борьбе с вирусными инфекциями и раком, они участвуют в передаче цитокиновых сигналов и создании оптимальных условий для правильного функционирования других иммунных клеток, таких как макрофаги, В-клетки и цитотоксические Т-лимфоциты. В нашем исследовании увеличение общего количества Т-лимфоцитов в 3 раза чаще встречалось у пациентов с HHV⁺ опухолью, при этом повышение средних значений общей популяции происходило за счет увеличения CD3⁺CD4⁺ клеток. Известно, что активированные CD4⁺ клетки играют важную роль в контроле EBV, особенно в клетках с латентностью I типа, где вирус синтезирует белок EBNA1, обеспечивающий устойчивость вирусной эписомы в опухолевых клетках [20, 26]. Более того, литическая активность EBNA1-специфичных CD4⁺ Т-клеток против трансформированных вирусом опухолевых клеток наблюдалась при всех EBV-опосредованных злокачественных новообразованиях, включая лимфому Беркитта [30].

Анализ результатов исследования показал повышение количества средних значений «дубль-позитивных» Т-лимфоцитов в обеих группах. Ранее сдвиги в этой популяции были отмечены у пациентов с различными злокаче-

ственными новообразованиями, в том числе с меланомой кожи [31]. Однако накопление минорной популяции, в случае кожной меланомы, обнаруживали именно в инфильтрате опухоли, тогда как в периферической крови увеличение количества $CD3^+CD4^+CD8^+$ не наблюдалось. Наши результаты согласуются также с ранее полученными данными при УМ больших размеров [1]. Натуральные киллеры (NK-клетки, $CD16^+CD56^+$) относятся к эффекторным клеткам врожденного иммунитета и составляют от 5% до 15% от общей популяции циркулирующих лимфоцитов. NK-лимфоциты выполняют множество биологических функций, обладают прямой цитотоксичностью в отношении инфицированных вирусом и онкотрансформированных клеток [10]. Увеличение количества натуральных киллеров, как и их миграция в опухолевый инфильтрат, при онкологическом процессе закономерно и неоднократно описано [34]. В нашей работе обнаружено снижение относительного количества NK-клеток ($CD16^+CD56^+$) в периферической крови у пациентов с ННВ+ опухолями, тогда как у остальных пациентов отмечалось нормальное или увеличенное их количество. Известно, что прогрессирование EBV инфекции связано, в том числе, с недостаточным количеством натуральных киллеров или с угнетением их функции [9, 29]. Более того, вирус, ограничивая экспрессию литических генов, защищает инфицированную клетку от NK-опосредованного уничтожения за счет повышенной устойчивости к апопто-

зу [22]. Не исключено, что снижение количества NK-клеток в периферической крови связано с их прямой цитотоксической функцией и миграцией в очаг роста опухоли и локального размножения бактерий и вирусов, в том числе EBV.

Заключение

Анализ результатов исследования показал, что в 70% случаев в инфицированном опухолевом материале (ННВ+) при УМ выявлялся генотип EBV.

У пациентов с ННВ+ опухолями обнаружены характерные качественные и количественные сдвиги в составе лимфоцитов периферической крови, которые затрагивали преимущественно популяции Т- и NK-клеток:

а) повышение относительного содержания популяции $CD3^+$ лимфоцитов, обеспеченное, главным образом, увеличением доли Т-хелперов и закономерный рост соотношения $CD4^+/CD8^+$, указывают на тесные патогенетические взаимосвязи Т-клеточного звена иммунитета с функционированием вирус-ассоциированной опухоли;

б) более частое выявление сниженного количества циркулирующих естественных киллеров не позволяет исключить миграцию $CD16^+CD56^+$ лимфоцитов из кровяного русла в опухолевый очаг, содержащий вирус, а также прямое влияние EBV на данные клетки, являющиеся ключевыми элементами системы иммунного надзора за опухолями.

Список литературы/References

1. Балацкая Н.В., Саакян С.В., Мякошина Е.Б., Куликова И.Г., Кричевская Г.И. Особенности эффекторных субпопуляций лимфоцитов у пациентов с увеальной меланомой при активации и хроническом течении герпесвирусной инфекции // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 6. С. 1123–1130. [Balatskaya N.V., Saakyan S.V., Myakoshina E.B., Kulikova I.G., Krichevskaya G.I. Features of effector lymphocyte subsets in patients with uveal melanoma in recurrent and chronic herpesvirus infection. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 6, pp. 1123–1130. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-FOE-1596
2. Давыдова Ю.О., Капранов Н.М., Никифорова К.А., Караваева О.С., Камельских Д.В., Дроков М.Ю., Кузьмина Л.А., Гапонова Т.В., Гальцева И.В., Паровичникова Е.Н. Субпопуляционный состав Т-хелперов у больных острыми лейкозами после трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток // Клиническая онкогематология. 2023. Т. 16, № 2. С. 137–145. [Davydova Yu.O., Kapranov N.M., Nikiforova K.A., Karavaeva O.S., Kamelskikh D.V., Drovkov M.Yu., Kuzmina L.A., Gaponova T.V., Galtseva I.V., Parovichnikova E.N. T-helper subpopulations in acute leukemia patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology*, 2023, vol. 16, no. 2, pp. 137–145. (In Russ.)] doi: 10.21320/2500-2139-2023-16-2-137-145
3. Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024. 276 с. [Malignant neoplasms in Russia in 2023 (morbidity and mortality). Eds.: A.D. Kaprin, V.V. Starinskii, A.O. Shakhzadova. *Moscow: P.A. Herzen Moscow Research Institute of Oncology — branch of the National Medical Research Center of Radiology of the Ministry of Health of Russia*, 2024. 276 p. (In Russ.)]
4. Саакян С.В., Мякошина Е.Б., Кричевская Г.И., Слепова О.С., Пантелеева О.Г., Андрюшин А.Е., Хорошилова И.П., Захарова Г.П. Обследование больных увеальной меланомой на наличие герпесвирусных инфекций // Вопросы вирусологии. 2016. Т. 61, № 6. С. 284–287. [Saakyan S.V., Myakoshina E.B., Krichevskaya G.I., Slepova O.S., Panteleeva O.G., Andryushin A.E., Khoroshilova I.P., Zakharova G.P. Testing patients with uveal melanoma for herpesvirus infections. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2016, vol. 61, no. 6, pp. 284–287. (In Russ.)] doi: 10.18821/0507-4088-2016-61-6-284-287
5. Human herpesviruses: biology, therapy, and immunoprophylaxis. Eds.: Arvin A., Campadelli-Fiume G., Mocarski E., Moore P.S., Roizman B., Whitley R., Yamanishi K. *Cambridge: Cambridge University Press*, 2007.

6. Ban Y., Okamoto M., Ogata N. Case of primary intraocular lymphoproliferative disorder caused by Epstein–Barr virus. *BMC Ophthalmol.*, 2020, vol. 20, no. 1: 306. doi: 10.1186/s12886-020-01583-x
7. Caraballo Cortés K., Osuch S., Perlejewski K., Pawelczyk A., Kaźmierczak J., Janiak M., Jabłońska J., Nazzal K., Stelmasczyk-Emmel A., Berak H., Bukowska-Oško I., Paciorek M., Laskus T., Radkowski M. Expression of programmed cell death protein 1 and T-cell immunoglobulin- and mucin-domain-containing molecule-3 on peripheral blood CD4⁺CD8⁺ double positive T cells in patients with chronic hepatitis C virus infection and in subjects who spontaneously cleared the virus. *J. Viral. Hepat.*, 2019, vol. 26, no. 8, pp. 942–950. doi: 10.1111/jvh.13108
8. Chatterjee K., Das P., Chattopadhyay N.R., Mal S., Choudhuri T. The interplay between Epstein-Barr virus (EBV) with the p53 and its homologs during EBV associated malignancies. *Heliyon.*, 2019, vol. 5, no. 11: e02624. doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02624
9. Chen D.S., Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity*, 2013, vol. 39, no. 1, pp. 1–10. doi: 10.1016/j.immuni.2013.07.012
10. Chijioke O., Müller A., Feederle R., Barros M.H., Krieg C., Emmel V., Marcenaro E., Leung C.S., Antsiferova O., Landtwing V., Bossart W., Moretta A., Hassan R., Boyman O., Niedobitek G., Delecluse H.J., Capaul R., Münz C. Human natural killer cells prevent infectious mononucleosis features by targeting lytic Epstein–Barr virus infection. *Cell Rep.*, 2013, vol. 5, no. 6, pp. 1489–1498. doi: 10.1016/j.celrep.2013.11.041
11. Cooper M.A., Fehniger T.A., Caligiuri M.A. The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends Immunol.*, 2001, vol. 22, no. 11, pp. 633–640. doi: 10.1016/s1471-4906(01)02060-9
12. Dunmire S.K., Verghese P.S., Balfour H.H. Jr. Primary Epstein–Barr virus infection. *J. Clin Virol.*, 2018, no. 102, pp. 84–92. doi: 10.1016/j.jcv.2018.03.001
13. Güvenç M.G., Midilli K., Ozdoğan A., Inci E., Tahamiler R., Enver O. Detection of HHV-8 and HPV in laryngeal carcinoma. *Auris. Nasus. Larynx*, 2008, vol. 35, no. 3, pp. 357–362. doi: 10.1016/j.anl.2007.08.006
14. Huang X.Q., Mitchell M.S., Liggett P.E., Murphree A.L., Kan-Mitchell J. Non-fastidious, melanoma-specific CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes from choroidal melanoma patients. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1994, vol. 38, no. 6, pp. 399–405. doi: 10.1007/BF01517210
15. Huang D., Song S.J., Wu Z.Z., Wu W., Cui X.Y., Chen J.N., Zeng M.S., Su S.C. Epstein–Barr virus-induced VEGF and GM-CSF drive nasopharyngeal carcinoma metastasis via recruitment and activation of macrophages. *Cancer Res.*, 2017, vol. 77, no. 13, pp. 3591–3604. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2706
16. Uveal melanoma: a model for exploring fundamental cancer biology. Eds.: Jager M.J., Niederkorn J.Y., Ksander B.R. London: Taylor & Francis, 2004. 259 p.
17. Jones K., Rivera C., Sgadari C., Franklin J., Max E.E., Bhatia K., Tosato G. Infection of human endothelial cells with Epstein–Barr virus. *J. Exp Med.*, 1995, vol. 182, no. 5, pp. 1213–1221. doi: 10.1084/jem.182.5.1213
18. Kan-Mitchell J., Liggett P.E., Harel W., Steinman L., Nitta T., Oksenberg J.R., Posner M.R., Mitchell M.S. Lymphocytes cytotoxic to uveal and skin melanoma cells from peripheral blood of ocular melanoma patients. *Cancer. Immunol. Immunother.*, 1991, vol. 33, no. 5, pp. 333–340. doi: 10.1007/BF01756599
19. Kim D.H., Chang M.S., Yoon C.J., Middeldorp J.M., Martinez O.M., Byeon S.J., Rha S.Y., Kim S.H., Kim Y.S., Woo J.H. Epstein–Barr virus BART1-induced NFκB/miR-146a/SMAD4 alterations in stomach cancer cells. *Oncotarget.*, 2016, vol. 7, no. 50, pp. 82213–82227. doi: 10.18632/oncotarget.10511
20. Laichalk L.L., Thorley-Lawson D.A. Terminal differentiation into plasma cells initiates the replicative cycle of Epstein–Barr virus in vivo. *J. Virol.*, 2005, vol. 79, no. 2, pp. 1296–1307. doi: 10.1128/JVI.79.2.1296-1307.2005
21. Leen A., Meij P., Redchenko I., Middeldorp J., Bloemena E., Rickinson A., Blake N. Differential immunogenicity of Epstein–Barr virus latent-cycle proteins for human CD4(+) T-helper 1 responses. *J. Virol.*, 2001, vol. 75, no. 18, pp. 8649–8659. doi: 10.1128/jvi.75.18.8649-8659.2001
22. Li D.K., Chen X.R., Wang L.N., Wang J.H., Li J.K., Zhou Z.Y., Li X., Cai L.B., Zhong S.S., Zhang J.J., Zeng Y.M., Zhang Q.B., Fu X.Y., Lyu X.M., Li M.Y., Huang Z.X., Yao K.T. Exosomal HMGA2 protein from EBV-positive NPC cells destroys vascular endothelial barriers and induces endothelial-to-mesenchymal transition to promote metastasis. *Cancer. Gene Ther.*, 2022, vol. 29, no. 10, pp. 1439–1451. doi: 10.1038/s41417-022-00453-6
23. López-Montañés M., Alari-Pahissa E., Sintés J., Martínez-Rodríguez J.E., Muntasell A., López-Botet M. Antibody-dependent NK cell activation differentially targets EBV-infected cells in lytic cycle and bystander B lymphocytes bound to viral antigen-containing particles. *J. Immunol.*, 2017, vol. 199, no. 2, pp. 656–665. doi: 10.4049/jimmunol.1601574
24. Ma J., Usui Y., Takeuchi M., Okunuki Y., Kezuka T., Zhang L., Mizota A., Goto H. Human uveal melanoma cells inhibit the immunostimulatory function of dendritic cells. *Exp. Eye Res.*, 2010, vol. 91, no. 4, pp. 491–499. doi: 10.1016/j.exer.2010.06.025
25. Millan M.T., Natkunam Y., Clarke-Katzenberg R., Desai D., Prapong W., So S.K., Esquivel C.O., Sibley R., Ferran C., Martinez O.M. Epstein–Barr virus infection is associated with endothelial Bcl-2 expression in transplant liver allografts. *Transplantation*, 2002, vol. 73, no. 3, pp. 465–469. doi: 10.1097/00007890-200202150-00023
26. Mittra R.A., Pulido J.S., Hanson G.A., Kajdacsy-Balla A., Brummitt C.F. Primary ocular Epstein–Barr virus-associated non-Hodgkin's lymphoma in a patient with AIDS: a clinicopathologic report. *Retina*, 1999, vol. 19, no. 1, pp. 45–50. doi: 10.1097/00006982-199901000-00007
27. Münz C., Bickham K.L., Subklewe M., Tsang M.L., Chahroudi A., Kurilla M.G., Zhang D., O'Donnell M., Steinman R.M. Human CD4(+) T lymphocytes consistently respond to the latent Epstein–Barr virus nuclear antigen EBNA1. *J. Exp Med.*, 2000, vol. 191, no. 10, pp. 1649–1660. doi: 10.1084/jem.191.10.1649
28. Murray P.G., Young L.S. An etiological role for the Epstein–Barr virus in the pathogenesis of classical Hodgkin lymphoma. *Blood*, 2019, vol. 134, no. 7, pp. 591–596. doi: 10.1182/blood.2019000568
29. Mygatt G.J., Singhal A., Sukumar G., Dalgard C.L., Kaleeba J.A.R. Oncogenic herpesvirus HHV-8 promotes androgen-independent prostate cancer growth. *Cancer. Res.*, 2013, vol. 73, no. 18, pp. 5695–5708. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-4196
30. Orange J.S. Natural killer cell deficiency. *J. Allergy Clin Immunol.*, 2013, vol. 132, no. 3, pp. 515–525. doi: 10.1016/j.jaci.2013.07.020

31. Paludan C., Schmid D., Landthaler M., Vockerodt M., Kube D., Tuschl T., Münz C. Endogenous MHC class II processing of a viral nuclear antigen after autophagy. *Science*, 2005, vol. 307, no. 5709, pp. 593–596. doi: 10.1126/science.1104904
32. Parrot T., Oger R., Allard M., Desfrancois J., Raingeard de la Blétière D., Coutolleau A., Preisser L., Khammari A., Dréno B., Delneste Y., Guardiola P., Fradin D., Gervois N. Transcriptomic features of tumour-infiltrating CD4^{low}CD8^{high} double positive $\alpha\beta$ T cells in melanoma. *Sci Rep.*, 2020, vol. 10, no. 1: 5900 doi: 10.1038/s41598-020-62664-x
33. Quandt D., Rothe K., Scholz R., Baerwald C.W., Wagner U. Peripheral CD4CD8 double positive T cells with a distinct helper cytokine profile are increased in rheumatoid arthritis. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 3: e93293. doi: 10.1371/journal.pone.0093293
34. Rahemtullah A., Reichard K.K., Preffer F.I., Harris N.L., Hasserjian R.P. A double-positive CD4⁺CD8⁺ T-cell population is commonly found in nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma. *Am. J. Clin. Pathol.* 2006, vol. 126, pp. 805–814. doi: 10.1309/Y8KD32QGRYFNIXQX
35. Ran G.H., Lin Y.Q., Tian L., Zhang T., Yan D.M., Yu J.H., Deng Y.C. Natural killer cell homing and trafficking in tissues and tumors: from biology to application. *Signal Transduct Target Ther.*, 2022, vol. 7, no. 1: 205 doi: 10.1038/s41392-022-01058-z
36. Vaivanjikul J., Boonsiri K. Conjunctival tumor caused by Epstein–Barr virus-related infectious mononucleosis: case report and review of literature. *Orbit*. 2017, vol. 36, no. 2, pp. 91–94. doi: 10.1080/01676830.2017.1279659
37. Wang Z.K., Yang B., Liu H., Hu Y., Yang J.L., Wu L.L., Zhou Z.H., Jiao S.C. Regulatory T cells increase in breast cancer and in stage IV breast cancer. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2012, vol. 61, no. 6, pp. 911–916. doi: 10.1007/s00262-011-1158-4
38. Weiss R.A., Whitby D., Talbot S., Kellam P., Boshoff C. Human herpesvirus type 8 and Kaposi's sarcoma. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.*, 1998, no. 23, pp. 51–54.
39. Wong Y., Meehan M.T., Burrows S.R., Doolan D.L., Miles J.J. Estimating the global burden of Epstein–Barr virus-related cancers. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 2022, vol. 148, no. 1, pp. 31–46. doi: 10.1007/s00432-021-03824-y

Авторы:

Светлова Е.В., врач-вирусолог вирусологической микробиологической лаборатории отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия;

Балацкая Н.В., к.б.н., ведущий научный сотрудник, начальник отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия;

Куликова И.Г., биолог вирусологической микробиологической лаборатории отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия;

Саакян С.В., член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор, начальник отдела офтальмоонкологии и радиологии ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия;

Свирина И.В., аспирант отдела офтальмоонкологии и радиологии ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия;

Андрюшин А.Е., научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия;

Мякошина Е.Б., д.м.н., научный сотрудник отдела офтальмоонкологии и радиологии ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия.

Authors:

Svetlova E.V., Virologist, Laboratory of Virology and Microbiology, Department of Immunology and Virology, Moscow Helmholtz Research Centre of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation;

Balatskaya N.V., PhD (Biology), Leading Researcher, Head of the Department of Immunology and Virology, Moscow Helmholtz Research Centre of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation;

Kulikova I.G., Biologist, Laboratory of Virology and Microbiology, Department of Immunology and Virology, Moscow Helmholtz Research Centre of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation;

Saakyan S.V., RAS Corresponding Member, DSc (Medicine), Professor, Head of the Department of Ophthalmooncology and Radiology, Moscow Helmholtz Research Centre of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation;

Svirina I.V., PhD Student, Department of Ophthalmooncology and Radiology, Moscow Helmholtz Research Centre of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation;

Andryushin A.E., Researcher, Department of Immunology and Virology, Moscow Helmholtz Research Centre of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation;

Myakoshina E.B., DSc (Medicine), Researcher, Department of Ophthalmooncology and Radiology, Moscow Helmholtz Research Centre of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА ЭПШТЕЙНА–БАРР У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ В НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

М.И. Попкова¹, Е.Н. Филатова¹, С.В. Минаева², Н.А. Сахарнов¹, О.В. Уткин¹

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

² ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, г. Нижний Новгород, Россия

Резюме. *Введение.* По данным зарубежных исследований изоляты вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ), выделенные от лиц, инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), по сравнению с иммунокомпетентными лицами, имеют молекулярно-генетические особенности. В России исследования молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ у пациентов с ВИЧ-инфекцией до сих пор не проводились. Цель исследования — оценка молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ у взрослых ВИЧ-инфицированных лиц в Нижегородской области. *Материалы и методы.* Исследовали изоляты ВЭБ, выделенные из лейкоцитов крови 138 ВИЧ-инфицированных пациентов в возрасте 20–69 лет (группа ВИЧ(+)) и 68 ВИЧ-неинфицированных лиц сопоставимого пола и возраста без клинических признаков инфекционной патологии (группа ВИЧ(–)). Для дифференциальной детекции типов ВЭБ-1 и ВЭБ-2 в работе применялся вариант ПЦР с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле. Определение нуклеотидных последовательностей С-концевого фрагмента гена *LMP-1* выполнено методом секвенирования по Сэнгеру. Филогенетический анализ данных проводили с помощью программного обеспечения MEGA X. *Результаты.* В типовой структуре нижегородских изолятов ВЭБ у взрослых в группе ВИЧ(–) был обнаружен только ВЭБ-1. В то время как в группе ВИЧ(+) частота выявления ВЭБ-1 составила 88,2±3,4%, ВЭБ-2 — 5,4±2,3%, ВЭБ-1+ВЭБ-2 — 6,4±2,6% случаев. В штаммовой структуре ВЭБ на основе классификации по R. Edwards и соавт. выявлено пять вариантов *LMP-1*, а именно *B95-8*, *China 1*, *Med-*, *NC* и *Alaskan*, среди которых доминировал *B95-8*. При этом их частота встречаемости между исследуемыми группами ВИЧ(+) и ВИЧ(–) не различалась. Как общая тенденция, при ВИЧ-инфекции отмечено появление рекомбинантных вариантов *LMP-1* ВЭБ, более широкий спектр делеций, выраженная вариабельность области тандемных повторов с присутствием модифицированных мотивов и точечными аминокислотными заменами в них, а также описаны 57 аминокислотных замен, которые ранее в нижегородских изолятах ВЭБ не выявлялись. *Заключение.* Впервые в России проведена оценка молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ у взрослых ВИЧ-инфицированных лиц. Полученные результаты лежат в основе перспективного изучения взаимосвязи клинико-лабораторных особенностей ВЭБ+ВИЧ-коинфекции и генетической гетерогенности популяции ВЭБ на уровне типов, вариантов и субвариантов вируса.

Ключевые слова: ВЭБ-1, ВЭБ-2, *LMP-1*, ВИЧ-инфекция, секвенирование, ПЦР.

Адрес для переписки:

Попкова Мария Игоревна
603950, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71,
ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии
им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (831) 469-79-46 (раб.), 8 906 352-60-15 (моб.).
Факс: 8 (831) 469-79-20. E-mail: popmarig@mail.ru

Contacts:

Mariia I. Popkova
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) 469-79-46 (office), +7 906 352-60-15 (mobile).
Fax: +7 (831) 469-79-20. E-mail: popmarig@mail.ru

Для цитирования:

Попкова М.И., Филатова Е.Н., Минаева С.В., Сахарнов Н.А.,
Уткин О.В. Молекулярно-генетическая характеристика изолятов
вируса Эпштейна–Барр у взрослых пациентов с ВИЧ-инфекцией
в Нижегородской области // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1.
С. 88–102. doi: 10.15789/2220-7619-MAG-17562

Citation:

Popkova M.I., Filatova E.N., Minaeva S.V., Sakharov N.A., Utkin O.V.
Molecular and genetic characteristics of Epstein–Barr virus isolates in adult
patients with HIV infection in Nizhny Novgorod region // Russian Journal
of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1,
pp. 88–102. doi: 10.15789/2220-7619-MAG-17562

© Попкова М.И. и соавт., 2025

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-MAG-17562>

MOLECULAR AND GENETIC CHARACTERISTICS OF EPSTEIN-BARR VIRUS ISOLATES IN ADULT PATIENTS WITH HIV INFECTION IN NIZHNY NOVGOROD REGION

Popkova M.I.^a, Filatova E.N.^a, Minaeva S.V.^b, Sakharnov N.A.^a, Utkin O.V.^a

^aAcademician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

^bPrivolzhskiy Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Abstract. *Introduction.* According to foreign studies, the Epstein–Barr virus (EBV) isolates from individuals infected with the human immunodeficiency virus (HIV) are characterized by specific molecular genetic features compared to immunocompetent individuals. In Russia, no studies have yet been conducted to assessing EBV molecular genetic diversity in HIV-patients. The aim of the study is to assess EBV molecular genetic diversity in adult HIV-patients in the Nizhny Novgorod region. *Materials and methods.* EBV isolates derived from blood leukocytes of 138 HIV-infected patients aged 20–69 years (HIV(+)) and 68 HIV-uninfected sex- and age-matched (HIV(–)) individuals were studied. For differential detection of EBV-1/EBV-2, there were used PCR variant with electrophoretic detection of amplification products in agarose gel. Nucleotide sequences of the C-terminal fragment *LMP-1* gene were determined by Sanger sequencing. Phylogenetic analysis was performed using MEGA X software. *Results.* In the typical structure of Nizhny Novgorod region EBV isolates in the adults HIV(–) group, only EBV-1 was detected. In the HIV(+) group detection rate of EBV-1 was 88.2±3.4%, EBV-2 — 5.4±2.3%, EBV-1+EBV-2 — 6.4±2.6% cases. In the EBV strain structure based on the classification by R. Edwards et al. five *LMP-1* variants were identified: *B95-8*, *China 1*, *Med*–, *NC* and *Alaskan*, among which *B95-8* was dominant. However, their frequency rate did not differ between the HIV(+) and HIV(–) groups. In general, in HIV infection, the appearance of recombinant EBV *LMP-1* variants, a wider range of deletions, prominent variability in the tandem repeat region with the presence of modified motifs and point amino acid substitutions therein have been noted, and 57 amino acid substitutions have been described that were previously found in the Nizhny Novgorod region EBV isolates was not detected. *Conclusion.* For the first time in Russia, molecular genetic EBV diversity in adult HIV-patients was carried out. The results obtained build up the basis for a prospective study on a relationship between clinical and laboratory characteristics for EBV+HIV co-infection and genetic heterogeneity of EBV population at the level of virus types, variants and subvariants.

Key words: *EBV-1, EBV-2, LMP-1, HIV infection, sequencing, PCR.*

Введение

Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) относится к семейству *Herpesviridae*, подсемейству *Gammaherpesvirinae*, роду *Lymphocryptoviruses*, виду *Human gammaherpesvirus 4*. Единой классификации ВЭБ до сих пор не существует. На протяжении 40 лет с момента расшифровки первой полногеномной последовательности ВЭБ [14] предложено множество авторских классификаций вируса, которые обобщены ранее в обзоре [4]. При этом большинство из них были разработаны на основе так называемого подхода «гена-кандидата», заключающегося в секвенировании и последующей оценке молекулярно-генетической вариабельности отдельных генов вируса (например, гена ядерного антигена 2 (*EBNA-2*), гена латентного мембранного белка 1 (*LMP-1*) и др.) или их фрагментов.

Первая и базовая классификация ВЭБ основана на вариабельности гена *EBNA-2* и позволяет разделить популяцию вируса на два основных типа — тип 1 (ВЭБ-1) и тип 2 (ВЭБ-2) [4]. Показано, что ВЭБ-1 является доминирующим типом, обнаруженным во всем мире. В то время как высокая распространенность ВЭБ-2 ограничивается странами Африки к югу от Сахары и отдельными группами населения, включая лиц, живущих с вирусом иммунодефицита че-

ловека (ВИЧ) [21, 34, 37, 38, 40, 41, 49, 50]. К тому же в генотиповой структуре ВЭБ, выделенного от ВИЧ-инфицированных, чаще встречаются случаи коинфицирования обоими типами вируса (ВЭБ-1+ВЭБ-2) или разными вирусами одного типа [21, 40, 49, 50].

Как показал анализ литературных данных, для дальнейшего субтипирования ВЭБ исследователи применяли наиболее популярную и часто цитируемую классификацию по R. Edwards и соавт., основанную на структурно-функциональном полиморфизме самого вариабельного гена *LMP-1* [4, 24]. Согласно этой классификации, выделяют 7 основных геновариантов: *B95-8*, *China 1*, *China 2*, *China 3*, *Mediterranean (Med)*, *North Carolina (NC)*, *Alaskan* [24]. Отметим, что до сих пор у ВИЧ-инфицированных лиц субтипирование ВЭБ проводилось крайне редко [13, 21, 23, 27, 30, 51]. При этом исследователи ограничились поиском только делеции 10 аминокислот (а.к.) в онкобелке *LMP-1*, охватывающую кодоны 346–355, известную также как *CAO*-делеция и делетированный вариант *LMP-1* [4, 21, 27, 51]. Полученные результаты противоречивы, поскольку по одним данным *CAO*-делеция у пациентов с ВИЧ-инфекцией встречалась чаще, чем в контрольной группе [21, 27], по другим — различия отсутствовали [51]. Первая и пока единственная работа о распространенности при

ВИЧ-инфекции вариантов LMP-1 ВЭБ на основе классификации по R. Edwards и соавт. [24] появилась только в мае 2023 г. [46].

В России до сих пор не проводились исследования, направленные на оценку молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ у пациентов с ВИЧ-инфекцией. В целом характеристика молекулярно-генетических особенностей ВЭБ у ВИЧ-инфицированных лежит в основе изучения патогенеза, целевой разработки стратегий специфической профилактики, диагностики и терапии ассоциированных с коинфицированием этими вирусами заболеваний, включая злокачественные новообразования, а также совершенствования системы эпидемиологического надзора за ВЭБ-инфекцией и ВИЧ-инфекцией.

Цель исследования — оценка молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ у взрослых ВИЧ-инфицированных лиц в Нижегородской области.

Материалы и методы

Характеристика групп исследования. В 2021–2022 гг. обследовано 138 ВИЧ-инфицированных пациентов в возрасте 20–69 лет (группа ВИЧ(+)), которые находились на диспансерном наблюдении в ГБУЗНО «НОЦ СПИД» (г. Нижний Новгород), и 68 ВИЧ-неинфицированных лиц сопоставимого пола и возраста без клинических признаков инфекционной патологии (группа ВИЧ(–)), проходивших диспансеризацию в ООО «НИКА СПРИНГ НН» (г. Нижний Новгород). Работа выполнена с соблюдением этических требований. Информированное согласие пациентов на проведение исследовательской работы в соответствии с положениями Хельсинкской декларации (2013) было получено лечащими врачами медицинских организаций. Работа получила одобрение на заседании локального этического комитета ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора (Протокол № 3 от 11.11.2021 г.).

Сбор биологического материала. Материалом для исследования послужила цельная периферическая кровь, стабилизированная КЗЭДТА. Для получения фракции лейкоцитов крови использовали реагент «Гемолитик» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

Определение ДНК ВЭБ. Выделение тотальной нуклеиновой кислоты проводили с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия).

Выявление и количественное определение ДНК ВЭБ выполняли с помощью ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) с применением коммерческого набора «АмплиСенс® EBV/CMV/HHV6-скрин-FL» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия) на амплификаторе «Rotor-Gene Q 5plex HRM» (Qiagen, Германия). Лабораторный протокол на всех этапах ПЦР-РВ соблюдали согласно инструкции производителя.

Дифференциальная детекция ВЭБ-1/ВЭБ-2 методом ПЦР. Для отдельной детекции основных типов ВЭБ (ВЭБ-1 и ВЭБ-2) применен оптимизированный нами ранее вариант однораундовой ПЦР на основе гена *EBNA-2* [5].

ПЦР-анализ и секвенирование по Сэнгеру фрагмента гена LMP-1 ВЭБ. Положительные образцы, содержащие ДНК ВЭБ (по результатам ПЦР-РВ), были использованы для амплификации С-концевого фрагмента гена *LMP-1* вируса методом ПЦР в оптимизированном однораундовом варианте [5]. Лабораторный протокол последующего секвенирования по Сэнгеру фрагмента гена *LMP-1* ВЭБ описан ранее в [5].

Филогенетический анализ. Биоинформационный анализ данных проводился с помощью открытого программного обеспечения MEGA X (Mega Software, США)¹. Полученные исходные нуклеотидные последовательности выравнивались по алгоритму ClustalW. В качестве референсных последовательностей служили полученные из базы данных GenBank² полногеномные последовательности прототипного штамма *B95-8* (V01555.1), а также нуклеотидные последовательности гена *LMP-1*-штаммы *China 1* (AY337723.1), *China 2* (AY337724.1), *Med-* (AY337721.2), *Med+* (AY337722.2), *NC* (AY337726.2), *Alaskan* (AY337725.1), *CAO* (X58140.1) и *AG876* (DQ279927.1). Нуклеотидные последовательности исследуемых изолятов ВЭБ и референсные последовательности транслировались в аминокислотные по стандартному генетическому коду. Координаты нуклеотидной последовательности анализируемого участка гена *LMP-1* (168162–168763) соответствовали положению 187–386-й аминокислот в белке LMP-1.

Построение филогенетических деревьев выполнено на основе метода максимального правдоподобия (Maximum likelihood). Принадлежность исследуемых последовательностей LMP-1 к определенным вариантам в рамках классификации R.H. Edwards и соавт. устанавливалась по наличию сигнатурных аминокислотных замен (согласно табл. 1 в [24]).

Рекомбинационный анализ. Предполагаемые рекомбинантные последовательности анализи-

¹ URL: <https://www.megasoftware.net>

² URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>

ровали с помощью программного обеспечения 3SEQ (BoniLab, Вьетнам—США). Использовали длину окна 200 п.н. и шаг 10 п.н. Статистическую значимость вероятных рекомбинационных событий оценивали с применением непараметрического мозаичного теста.

Полученные нуклеотидные последовательности нижегородских изолятов ВЭБ депонированы в международную базу данных GenBank: номера доступа OR862230—OR862331 (присвоены 12.12.2023).

В данной работе оценка молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ в нижегородских изолятах проводилась по нескольким направлениям: 1) анализ типовой структуры ВЭБ; 2) дифференциальный анализ вариантов LMP-1 ВЭБ на основе классификации R. Edwards и соавт. [24]; 3) поиск делеций и вставок; 4) характеристика тандемных повторов; 5) аминокислотные замены.

Статистическая обработка данных. Статистическая обработка данных проводилась с использованием языка программирования R версия 2022.12.0+353 (The R Foundation for Statistical Computing, Inc.)³ и среды RStudio версия 2022.12.0+353 (RStudio, PBC)⁴. Частоту показателя (долю) описывали с указанием стандартного отклонения процентной доли ($P \pm \sigma$) в %. Оценку различий относительных показателей в анализируемых группах проводили с применением критерия χ^2 (хи-квадрат) с поправкой Йетса и критерия Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Типовая структура ВЭБ. Частота обнаружения ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови ВИЧ(+) пациентов составила $70,3 \pm 3,9\%$ (97/138), а среди ВИЧ(–) лиц — $48,5 \pm 6,1\%$ (33/68) ($p = 0,008$). В результате последующего типирования полученных изолятов в группе ВИЧ(–) был идентифицирован только ВЭБ-1 (33/33). В группе ВИЧ(+) тип вируса установлен для 93 из 97 изолятов. При этом доминирующим типом ВЭБ также являлся ВЭБ-1, который был выявлен в $88,2 \pm 3,4\%$ (82/93) изолятов. ВЭБ-2 обнаружен в $5,4 \pm 2,3\%$ (5/93), а коинфицирование двумя типами вируса (ВЭБ-1+ВЭБ-2) — в $6,4 \pm 2,6\%$ (6/93) случаев.

Оценка молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ на основе метода секвенирования по Сэнгеру С-концевого фрагмента гена LMP-1. Дальнейшее субтипирование ВЭБ осуществлено на основе метода секвенирования по Сэнгеру самого вариабельного участка генома ВЭБ — фрагмента С-концевой области гена LMP-1.

Всего получено и исследовано 102 нуклеотидных последовательности, из них 82 изолята из лейкоцитов крови ВИЧ(+), а 20 — ВИЧ(–) лиц. По результатам филогенетического анализа сформировались 5 клад, которые представляют 5 из 7 известных штаммов вируса, а именно B95-8, *China 1*, *Med*, *NC* и *Alaskan* (рис.).

Для подтверждения филогенетической группировки проверено наличие сигнатурных аминокислотных замен, определенных авторами классификации в семи основных локусах LMP-1 ВЭБ в позициях 229, 306, 312, 322, 334, 338, 344. В результате анализа в одной из клад, соответствующей варианту LMP-1 *China 1*, нами были отмечены две последовательности (номера HIV+ 1836 и HIV+ 1808), в которых отсутствовала характерная для штамма *China 1* делеция в координатах аминокислот 346–355 (10 а.к.) и сигнатурная замена Q322N. При этом в последовательности № HIV+ 1836 выявлено сочетание мутаций Q322E, H352R и L306Q, которые являются сигнатурными аминокислотными заменами в вариантах LMP-1 *Med*– и *NC* соответственно. А в изоляте № HIV+ 1808 аминокислотная последовательность несла признаки как штамма *AG876* (ВЭБ-2), в частности мутацию Q322D, так и варианта *Med*–.

Проведен рекомбинационный анализ. Последовательность LMP-1 № HIV+ 1836 тестируемыми в сравнении с референсными последовательностями штаммов *NC* и *Med*–. Последовательность № HIV+ 1808 — с референсными последовательностями штаммов *AG876* и *Med*–. Референсную последовательность штамма *China 1* использовали в качестве группы сравнения. Обнаружено, что последовательность № HIV+ 1836 могла возникнуть как результат перекрестной рекомбинации между штаммами *NC* и *Med*– в участке гена LMP-1 920 — 930 н.о. ($p = 0,007$, соответствует координатам 306–310 а.к.). В последовательности № HIV+ 1808 выявлена возможная точка перекрестной рекомбинации штаммов *AG876* и *Med*– в участке 1010–1020 н.о. ($p = 0,024$, соответствует положению 336–340 а.к.).

Два охарактеризованных выше варианта LMP-1 вне известной классификации ВЭБ были названы нами «*другие варианты*». Они принадлежали изолятам вируса из лейкоцитов крови ВИЧ-инфицированных. Их расположение на филогенетическом дереве относительно референсных и нижегородских штаммов LMP-1 отмечено звездочкой (рис.).

Из данных табл. 1 следует, что на территории Нижегородской области в изолятах ВЭБ у взрослого населения доминирует вариант

³ URL: <https://www.R-project.org>

⁴ URL: <http://www.rstudio.com>

LMP-1 B95-8. Причем его распространенность в группах ВИЧ(+) и ВИЧ(-) была одинаковой (62,2±5,4% и 60,0±10,9% соответственно). Такие варианты LMP-1 как *China 1*, *Med*, *NC* и *Alaskan* выявлялись реже. Отметим, что вариант LMP-1 *Med* был представлен исключительно *Med*- (не содержащий *CAO*-подобную делецию 30 п.н./10 а.к.), а *Med+*, *China 2* и *China 3* не были обнаружены ни в одном исследованном образце. Статистически значимые различия частоты обнаружения вариантов LMP-1 между исследуемыми группами ВИЧ(+) и ВИЧ(-) выявлены не были. Однако в их спектре наблюдались

некоторые особенности. Так, только у ВИЧ(+) взрослых нижегородцев были выявлены изоляты *China 1* и «*другие варианты*» LMP-1 ВЭБ.

Проведен анализ распределения вариантов LMP-1 ВЭБ относительно типов вируса. Выявлено, что в группе ВИЧ(+) основная часть изолятов ВЭБ имели молекулярно-генетический профиль ВЭБ-1/B95-8 (56,1±5,5% всех изолятов ВЭБ). Для сравнения ВЭБ-2/B95-8 выявлен в 1,2±1,2% изолятов. По нашим наблюдениям типы ВЭБ-1 и ВЭБ-2 характеризовались разным соотношением числа последовательностей LMP-1 B95-8 к общему количеству других

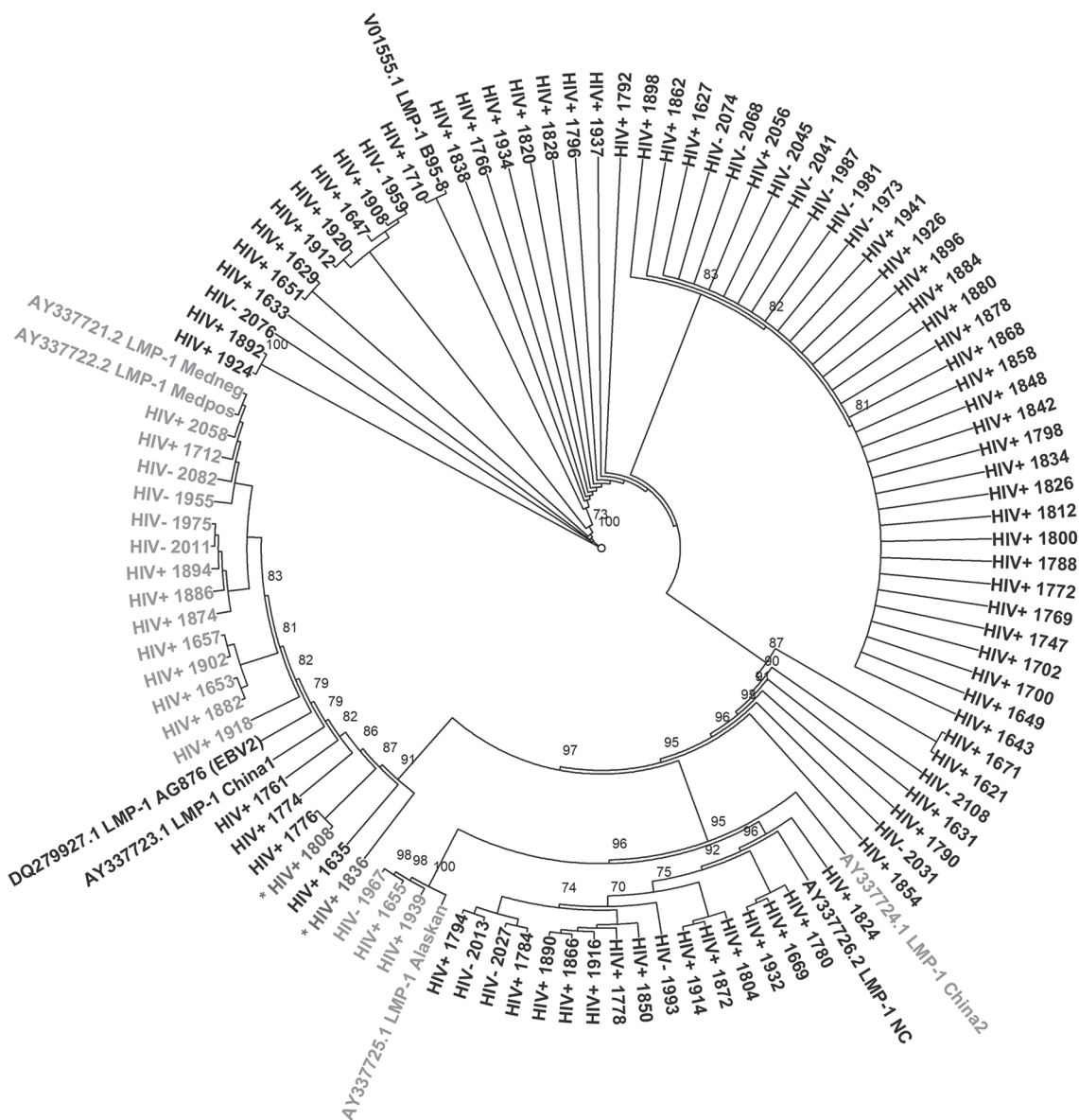


Рисунок. Филогенетическое дерево, построенное на основе сравнения аминокислотных последовательностей С-концевого участка LMP-1 102 нижегородских изолятов ВЭБ и 8 референсных последовательностей, полученных из базы данных GenBank (метод максимального правдоподобия)

Figure. Phylogenetic tree constructed based on comparison of amino acid sequences of the C-terminal region of LMP-1 of 102 Nizhny Novgorod region EBV isolates and 8 reference sequences obtained from the GenBank database (maximum likelihood method)

Таблица 1. Сравнение частоты выявления вариантов LMP-1 ВЭБ (по классификации R. Edwards и соавт. [24]) у ВИЧ(+) и ВИЧ(–) взрослых лиц, проживающих в Нижегородской области

Table 1. Comparison of the frequency of detection of EBV LMP-1 variants (according to the classification of R. Edwards et al. [24]) in HIV(+) and HIV(–) adults living in the Nizhny Novgorod region

Группа сравнения Comparison group	Ед. измерения Units	Вариант LMP-1 ВЭБ по классификации R. Edwards и соавт. [24] EBV LMP-1 variant according to the classification of R. Edwards et al. [24]					Другие варианты LMP-1 Other LMP-1 variants
		<i>B95-8</i>	<i>China 1</i>	<i>Med–</i>	<i>NC</i>	<i>Alaskan</i>	
ВИЧ(+) HIV(+) (n = 82)	абс. abs.	51	4	10	13	2	2
	Р±σр, %	62,2±5,4	4,8±2,3	11,9±3,6	15,5±4,0	2,4±1,7	2,4±1,7
ВИЧ(–) HIV(–) (n = 20)	абс. abs.	12	0	4	3	1	0
	Р±σр, %	60,0±10,9	0	20,0±8,9	15,0±7,9	5,0±4,9	0
Уровень значимости различий p-value	р	1,000	1,000	0,464	1,000	0,477	0,847

выявленных вариантов LMP-1 (1,8:1 и 1:4 соответственно). Отметим, что в группе ВИЧ(–) доля изолятов ВЭБ-1/*B95-8* также преобладала (60,0±10,9%) и их соотношение с другими вариантами вируса составило 1,5:1.

При анализе аминокислотных последовательностей С-концевой области LMP-1 были выявлены делеции. При этом как в группе ВИЧ(+), так и ВИЧ(–) делеции присутствовали в половине изолятов ВЭБ (48,8±5,5% и 40,0±10,9% соответственно, $p = 0,581$). Однако спектр делеций различался. В последовательностях LMP-1 ВЭБ у здоровых взрослых встречался только один вариант делеции 5 а.к. (а.к. 276–280) в 40,0±10,9% изолятов. В то время как изоляты ВЭБ у ВИЧ(+) пациентов характеризовались разнообразием вариантов делеций: 1 а.к. (а.к. 205), 4 а.к. (а.к. 209–212), 2 а.к. (а.к. 211–212), 6 а.к. (а.к. 345–350) — по 1,2±1,2%, 5 а.к. (а.к. 276–280) — 39,0±5,4%, 10 а.к. (а.к. 346–355) — 4,9±2,4%. Два варианта делеций (30 н.о./10 а.к., охватывающая кодоны 346–355, и 15 н.о./5 а.к. в положении 276–280), наиболее распространенные, являются известными САО-подобными делециями. Четыре другие делеции в координатах аминокислот 205, 209–212, 211–212, 345–350 ранее не были описаны.

Все четыре последовательности ДНК ВЭБ с делецией 30 н.о./10 а.к. были ассоциированы исключительно с вариантом LMP-1 *China 1*. Делеция 15 н.о./5 а.к., расположенная в области тандемных повторов LMP-1 (а.к. 253–306), обнаружена в половине полученных изолятов ВЭБ. Отметим, что данная делеция присутствовала во всех последовательностях LMP-1 *China 1*, *Med–*, *NC*, *Alaskan* и «*другие варианты*», независимо от их типовой принадлежности. Остальные выявленные нами четыре делеции встречались только в изолятах ВЭБ-1/*B95-8*.

Проведен анализ числа и аминокислотного состава повторяющихся элементов в С-концевой области LMP-1 (а.к. 253–306) в нижегородских изолятах ВЭБ у ВИЧ(+) и ВИЧ(–) взрослых. Установлено, что С-концевой участок LMP-1 содержит разное количество повторов из 11 а.к., варьируясь по наличию и местоположению между ними элемента из 5 а.к., а также спектру аминокислотных замен в них. Результаты представлены в табл. 2.

Показано, что количество повторов значительно варьировало (от 2 до 8 повторов). Однако основная часть изолятов имели размер этого участка 3–5 повторов (87,8±5,5% в группе ВИЧ(+) и 85,0±11,1% в группе ВИЧ(–)). В половине всех полученных последовательностей LMP-1, независимо от источника вируса, область тандемных повторов была идентична прототипному варианту «4,5». При этом все они были ассоциированы исключительно с вариантом *B95-8*. В свою очередь 15,7±5,1% изолятов *B95-8* в группе ВИЧ(+) отличались переменным размером области тандемных повторов, присутствием модифицированных мотивов и точечными аминокислотными заменами в них. В изолятах *China 1*, *NC*, *Med–*, *Alaskan* и «*другие варианты*» LMP-1 число повторов варьировало в установленном диапазоне, при этом мотив РНДРЛ между повторами из 11 а.к. во всех этих последовательностях отсутствовал. Данную делецию 5 а.к. также относят к числу САО-подобных. Из данных табл. 2 видно, что в области тандемных повторов аминокислотные замены могут быть обнаружены в любом варианте LMP-1 и затрагивать разные повторяющиеся мотивы. Часть из них являются сигнатурными для определенного штамма. Например, в элементах РНДРЛ, завершающих повторяющийся мотив, штамм-характерными аминокислотными заменами в положении 306-й

Таблица 2. Характеристики числа и аминокислотного состава повторяющихся элементов в С-концевой области LMP-1 ВЭБ
 Table 2. Characteristics of the number and amino acid composition of repeating elements in the C-terminal region of EBV LMP-1

Штамм Strain	ВИЧ(+) HIV(+)	ВИЧ(-) HIV(-)	Повторяющиеся элементы в С-концевой области LMP-1 ВЭБ (а.к. 253–306) Repeat elements in the C-terminal region of EBV LMP-1	Повторы Repeats
V01555.2 (B95-8)	43/51	11/12	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4,5
	1/51	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4,5
	1/51	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4,5
	1/51	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4,5
	1/51	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4,5
	1/51	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	5,5
	1/51	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	6,5+
	1/51	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	2
	1/51	1/12	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	5,5
	1/51	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4,0
	1/4	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	5
	2/4	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	6
China 1	1/4	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	8
	1/10	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4
	2/10	1/4	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4
	1/10	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4
	1/10	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4
	3/10	2/4	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	5
	1/10	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4
	1/10	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	6
	-	1/4	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	7
	7/13	2/3	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	3
	3/13	1/3	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4
	1/13	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	5
NC	2/13	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	6
	1/3	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4
	1/3	1/3	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	5
	1/2	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4
	1/2	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	5
	1/2	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4
	1/2	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	5
	1/2	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4
	1/2	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	5
	1/2	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4
	1/2	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	5

аминокислоты являются в варианте *NC* — L306Q (PHDPQ), в *Alaskan* — L306P (PHDPP). Модифицированные последовательности в варианте *Med-* характеризует замена аспарагиновой кислоты на глицин в третьем положении аминокислоты во втором — седьмом элементе: D266G, D282G, D293G. Мутации D282G, D293G были выявлены и в варианте LMP-1 *Alaskan*. Остальные аминокислотные замены в повторяющихся мотивах, как правило, встречались спорадически. Продемонстрировано, что среди всех изолятов вариант LMP-1 *Med-* отличается наибольшей вариабельностью tandemных повторов. Так, в 14 полученных изолятах *Med-* идентифицировано 8 субвариантов области повторов, которые различались за счет комбинации числа повторов и расположения относительно друг друга прототипных и модифицированных мотивов из 11 а.к. Отметим также, что в изолятах *B95-8* у двух ВИЧ-инфицированных выявлены ранее не описанные модифицированные мотивы PHDPDDDDPD, PHDHDGPDDDPD, PQDHDDDDPD и PHDHL.

Осуществлен поиск полного спектра аминокислотных замен в пределах анализируемого С-концевого участка белка LMP-1 с 187 по 386 а.к. Суммарно в нижегородских изолятах ВЭБ в группах ВИЧ(+) и ВИЧ(-) идентифицировано 112 мутаций аминокислот в 74 локусах (относительно референсной последовательности *B95-8*). Наиболее «горячими» точками мутаций стали аминокислоты в положениях 322 (6 мутаций) и 331, 338, 359 (по 4 мутации).

Последовательность, аналогичная прототипному штамму, выявлена только в одном изоляте (вариант *B95-8*), а наиболее дивергентная последовательность с 16 мутациями идентифицирована в *Alaskan*. Для наглядного сравнения степени дивергенции между вариантами LMP-1 проведен расчет индекса, характеризующего среднее число мутаций, приходящееся на одну последовательность. Анализ выполнен дифференцировано в группах ВИЧ (+) и ВИЧ(-). Получены следующие значения индекса:

B95-8 — 3,9 и 2,2; *Med-* — 10,9 и 9,3; *NC* — 11,0 и 11,7; *Alaskan* — 15,5 и 15,0 соответственно. Относительный показатель аминокислотных замен в штаммах *China 1* у ВИЧ(+) пациентов составил 6,9, в «других» вариантах LMP-1 — 10,5.

Все аминокислотные замены были сгруппированы по принадлежности к определенному варианту LMP-1 ВЭБ. Такие аминокислотные замены как G212S, D216H, S229T, D250N, G252A, T259S, D282G, D293G, L306Q, S309N, S313P, Q322D, Q322E, Q322T, L323M, E328Q, Q334R, L338P, L338S, H352R, G355C, H358P, S366T обнаруживали в двух и более вариантах LMP-1 независимо от ВИЧ-статуса.

Установлено, что наиболее распространенными в популяции ВЭБ среди взрослого населения Нижегородской области являются 4 мутации: G212S, S366T, E328Q и S309N. Замены G212S и S366T присутствовали во всех установленных вариантах LMP-1, их частота в группе ВИЧ(+) составила $86,6 \pm 3,8\%$ и $89,0 \pm 3,5\%$, а в группе ВИЧ(-) — по $100 \pm 0\%$ соответственно. Замена серина на аспарагин в 309 позиции (S309N) присутствовала в составе абсолютно всех анализируемых последовательностей *China 1*, *NC*, *Med-*, *Alaskan* и «*другие*». Мутация E328Q характеризовала $94,1 \pm 3,3\%$ изолятов *B95-8* в группе ВИЧ(+) и все изоляты *B95-8* в группе ВИЧ(-). Варианты комбинаций аминокислотных замен G212S, E328Q и S366T в последовательностях LMP-1 *B95-8* представлены в табл. 3. В основной части их них присутствовало сочетание G212S+E328Q+S366T.

Отдельные аминокислотные замены встречались с частотой 10–25% от общего числа изолятов. В их числе 10 сигнатурных аминокислотных замен в 6 основных локусах (S229T, L306Q, L306P, D312N, Q322E, Q322N, Q322T, Q334R, L338P, L338S), которые были нами использованы при дифференциальной оценке вариантов LMP-1 по классификации R. Edwards и соавт. [24]. А также дополнительные штамм-характерные мутации для *NC* (D250N, S313P, G331Q, H352N, H358P) и *Med-* (H352R и замена

Таблица 3. Комбинации аминокислотных замен G212S, E328Q и S366T в последовательностях LMP-1 B95-8

Table 3. Combinations of amino acid substitutions G212S, E328Q and S366T in LMP-1 B95-8 sequences

Аминокислотные замены в С-концевом участке LMP-1 B95-8 Amino acid substitutions in the C-terminal region of LMP-1 B95-8	ВИЧ(+) HIV(+) (n = 51)		ВИЧ(-) HIV(-) (n = 12)	
	абс. abs.	P±σp,%	абс. abs.	P±σp,%
Без мутаций No mutations G212S, E328Q, S366T	1	2,0±1,9	0	
G212S	2	3,9±2,7	0	
G212S+E328Q	2	3,9±2,7	0	
E328Q+S366T	3	5,9±3,3	1	8,3±8,3
G212S+E328Q+S366T	43	84,3±5,1	11	91,7±8,3

аспарагиновой кислоты на глицин в третьем положении аминокислоты в повторяющемся элементе из 11 а.к.: D266G, D282G, D293G).

В результате проведенного анализа определен широкий спектр аминокислотных замен, которые встречались спорадически (< 10%). При этом чаще других обнаруживали мутации D372N в изолятах B95-8 (4/51) и G335D в изолятах NC (5/16). Описаны 64 аминокислотные замены, которые ранее в нижегородских изолятах ВЭБ не выявлялись. Преимущественно они были сгенерированы в последовательностях LMP-1 ВЭБ из лейкоцитов крови ВИЧ(+) пациентов (57 из 64 мутаций):

- B95-8: D210S, R223K, C238S, N251H, T259S, Q281H, P283H, N285D, T286P (2), N289P, G290D, Q292H, P294H, N296G, N296D, T297P, N300P, G301A, G301D, P305H, L306V, S309I, A314V, N316S, Q322P, G343R, G345V, G353V, G355C, D356E, D356H, P357T, L359S, L359Y, S369P, D372N;
- *China I*: D210N, D261G, L338F, G355C;
- *Med-*: N220D, G222D, T259S, N269D, D287H, N329H, N329S, H348D, D349A, L359I;
- *NC*: H224Q, Q322K, L323M, E325K, G331E, L338T, M339K;
- *Alaskan*: не выявлено;
- *Другие варианты LMP-1*: A231T, G232E, D349A, D349E, G355C.

В группе ВИЧ(–) уникальные замены встречались в единичных изолятах B95-8 и *Med-*: D210S, L359F, D372H, G319D, L323M, N329H, G355C.

Сравнительный анализ с САО-подобными (GenBank: X58140.1) аминокислотными заменами показал, что мутации G212S и S366T, как ранее было отмечено, представлены практически во всех нижегородских изолятах ВЭБ; Q322N является уникальной мутацией для штамма *China I*, а Q334R, L338S — сигнатурные замены, характеризующие штаммы *China I* и *Med-*. В то же время мутации Q189P, S192T, E328A в анализируемых последовательностях обнаружены не были.

Обсуждение

Впервые в России в рамках данной работы выполнены исследования, направленные на оценку молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ у ВИЧ-инфицированных. Анализ литературных данных свидетельствует о высоком генетическом разнообразии ВЭБ, циркулирующего во всем мире [4].

Типы ВЭБ. В России только в последние два года появились первые публикации, посвященные оценке распространенности основных типов вируса — ВЭБ-1 и ВЭБ-2 [2, 5, 11]. Пока эти исследования были ограничены контингентами условно здоровых взрослых лиц опре-

деленной этнической принадлежности (славяне, татары, калмыки) и детей с активной или латентной ВЭБ-инфекцией [2, 5, 11]. В то время как зарубежные публикации убедительно свидетельствуют об особенностях распространенности ВЭБ-1 и ВЭБ-2 в популяции ВИЧ-инфицированных [21, 34, 37, 38, 40, 41, 49, 50].

В результате проведенного нами исследования лейкоцитов крови установлено доминирование ВЭБ-1 в структуре нижегородских изолятов ВЭБ у взрослых. Преобладание типа ВЭБ-1 ранее нами было выявлено и в детской популяции Нижегородской области [5]. Однако в изолятах ВЭБ у взрослых ВИЧ-инфицированных пациентов в данном исследовании идентифицированы также ВЭБ-2 и коинфицирование обоими типами вируса. Такое распределение, в целом, соответствует предыдущим оценкам распространенности ВЭБ-1 и ВЭБ-2 у ВИЧ-инфицированных, проживающих в разных регионах мира, по сравнению с иммунокомпетентными лицами (табл. 4) [13, 21, 22, 27, 34, 35, 37, 39, 41, 46, 50].

На основании данных табл. 4 хотелось бы акцентировать внимание на широкий спектр биосубстратов и используемых лабораторных протоколов при проведении исследований разными научными группами, даже в пределах территории одной страны (например, Бразилии), что в сочетании с весьма разнородными контингентами обследуемых и различным представлением частоты обнаружения типов ВЭБ создает определенный информационный хаос [13, 34, 39, 41].

Предполагается, что инфицирование ВЭБ-2 может происходить в условиях хронической иммунной активации, например, в тех частях Африки, где много сопутствующих инфекций, включая малярию, или у иммунокомпрометированных лиц [25, 43]. Известно, что распространенность штаммов ВЭБ-2 выше в когорте гомосексуальных мужчин, инфицированных ВИЧ (превышает 30%), и среди них чаще выявляются случаи коинфекции ВЭБ-1+ВЭБ-2 или разных вирусов одного типа [37, 39, 49]. Отсутствие лечения или позднее начало антиретровирусной терапии у ВИЧ-инфицированных детей и взрослых повышает риск коинфекции ВЭБ-1+ВЭБ-2 и развитие симптомов [33, 36].

В контексте фенотипических свойств известно, что ВЭБ-1 более эффективно трансформирует В-лимфоциты человека, чем ВЭБ-2 [41]. Кроме того, разные штаммы ВЭБ-1 *in vitro* продемонстрировали выраженные различия в трансформирующем потенциале и клеточном тропизме, возможно, предопределяя развитие разных типов опухолей [42]. Относительно недавно появились сообщения о том, что ВЭБ-2 инфицирует Т-клетки *in vitro* и *in vivo* [19, 20].

Таблица 4. Распространенность ВЭБ-1 и ВЭБ-2 у взрослых ВИЧ-инфицированных в разных географических регионах

Table 4. Prevalence of EBV-1 and EBV-2 in HIV-infected adults in different geographic regions

Географическое место Geographical location	Группа Group	Материалы Materials	Частота выявления типов ВЭБ, % Frequency of detection of EBV types, %			Ссылка Reference
			ВЭБ-1	ВЭБ-2	ВЭБ-1+ВЭБ-2	
Россия (Нижегородская область) Russia (Nizhny Novgorod region)	ВИЧ(+) HIV(+)	лейкоциты крови blood leukocytes	88,2	5,4	6,4	результаты данного исследования results of this study
	ВИЧ(-) HIV(-)		100	–	–	
Пакистан Pakistan	ВИЧ(+) HIV(+)	кровь blood	40,0	15,0	5,0	[37]*
	ВИЧ(-) HIV(-)		90,0	–	–	
Китай (Шанхай) China (Shanghai)	ВИЧ(+) HIV(+)	слюна saliva	62,3	9,3	12,9	[46]**
	ВИЧ(-) HIV(-)		28,9	15,4	–	
Аргентина Argentina	ВИЧ(+) HIV(+)	МНПК PBMC	48,6	18,8	32,6	[21]
	ВИЧ(-) HIV(-)		74,3	12,4	13,3	
Бразилия (Рио-де-Жанейро) Brazil (Rio de Janeiro)	ВИЧ(+) HIV(+)	мазки из ротоглотки oropharyngeal swabs	32,9	45,7	14,3	[39]
Бразилия (Рио-де-Жанейро) Brazil (Rio de Janeiro)	ВИЧ(-) HIV(-)	слюна saliva	79,6	20,4	–	[13]
Бразилия (Ботукату) Brazil (Botucatu)	ВИЧ(+) HIV(+)	МНПК PBMC	75,8	9,5	14,7	[27]
Бразилия (регион Амазонки) Brazil (Amazon region)	ВИЧ(+) HIV(+)	кровь blood	47,4	26,3	26,3	[34]
Бразилия (Буркина-Фасо) Brazil (Burkina Faso)	ВИЧ(+) HIV(+)	кровь blood	3,9	4,6	2,1	[41]**
Италия Italy	ВИЧ(+) HIV(+)	МНПК PBMC	97,4	2,6	–	[35]

Примечание. ВИЧ(+) — лица, живущие с ВИЧ. ВИЧ(-) — здоровые доноры. МНПК — мононуклеарные клетки периферической крови. * — 40% и 10% изолятов ВЭБ у ВИЧ(+) и ВИЧ(-), соответственно, не типированы. ** — частота рассчитана исходя из общей численности выборки.

Note. HIV(+) — persons living with HIV. HIV(-) — healthy donors. PBMC — peripheral blood mononuclear cells. * — 40% and 10% of EBV isolates in HIV(+) and HIV(-), respectively, are not typed. ** — frequency calculated based on the total sample size.

Описаны также различия в иммунологическом профиле ВИЧ-инфицированных в зависимости от инфицирующего типа ВЭБ. Так, ВЭБ-1 более часто выявляли среди пациентов с меньшим количеством CD4⁺ Т-лимфоцитов и высокой вирусной нагрузкой ВИЧ, в то время как ВЭБ-2 преобладал в иммунных профилях, включающих CD4⁺ Т-лимфоциты > 500 клеток/мкл и низкую вирусную нагрузку ВИЧ [34, 39, 41].

Геноварианты LMP-1 ВЭБ. Многие десятилетия внимание как зарубежных, так и российских исследователей было сосредоточено на изучении основного онкогена ВЭБ — LMP-1 [1, 3, 6, 7, 9, 10, 11, 16, 24, 40, 48]. В нашем исследовании получены первые данные о распространенности вариантов LMP-1 ВЭБ у ВИЧ-инфицированных пациентов. В общем выявлено 5 из 7 известных вариантов LMP-1, а именно

B95-8, China 1, Med-, NC и Alaskan. Результаты собственных исследований дополняют уже имеющиеся сведения о доминировании на территории Европейской части России варианта LMP-1 *B95-8* [1, 3, 5, 6, 11]. Они отличаются от штаммового распределения, представленного в работе ученых из Китая (*China 1* — 73,8%, *China 2* — 21,3%, *Med+* — 3,8%), которое описывает у ВИЧ-инфицированных характерное для географического места выделения изолятов преобладание варианта *China 1* и сопряженные с ним *CAO*-подобные мутации (делеция 10 а.к. или больший размер области тандемных повторов) [46]. Статистически значимые различия частот обнаружения вариантов LMP-1 между исследуемыми группами ВИЧ(+) и ВИЧ(-) в нашем исследовании выявлены не были. Однако в их спектре у ВИЧ-инфицированных

наблюдались некоторые особенности, включая обнаружение «других вариантов» LMP-1 вне классификации.

К настоящему времени накоплены сравнительные данные о биологических свойствах вариантов LMP-1. Так, варианты *CAO*, *Alaskan*, *China 1* и *Med+* повышают активность транскрипционного фактора NF-κB по сравнению с иными вариантами [29, 43]. Для изучения фенотипических характеристик вновь выявленных рекомбинантных вариантов LMP-1 необходимо в дальнейшем проведение экспериментальных исследований *in vitro* и *in vivo*.

Нами представлено детальное описание полученных изолятов ВЭБ на уровне так называемых субвариантов (тандемные повторы, делеции и аминокислотные замены).

Делеции. В последовательностях LMP-1 ВЭБ у ВИЧ-инфицированных выявлен более широкий спектр делеций. Делеция 5 а.к. (276–280 а.к.) в области тандемных повторов между повторяющимися мотивами из 11 а.к. была обнаружена во всех последовательностях LMP-1 *China 1*, *Med–*, *NC*, *Alaskan* и «другие варианты», независимо от их источника и типовой принадлежности. Данная делеция из 5 а.к. является частью функционального домена STAR3 (а.к. 275–330), который отвечает за активацию STAT3 посредством рекрутирования JAK3 [9, 10]. Другая делеция в 30 н.о./10 а.к. (а.к. 346–355) широко известна как «делетированный вариант LMP-1» с установленной выраженной трансформирующей активностью в фибробластах грызунов или эпителиальных клетках, имплантированных голым мышам [18, 28, 43], а также повышенным риском отдаленного метастазирования [31, 43]. Отметим, что на основе данных литературы и по результатам собственных наблюдений штаммы с этой делецией ассоциированы только с определенными *CAO*-подобными вариантами LMP-1, такими как *China 1* и *Med+* [24]. Возможно, это объясняет контрастирующие данные литературы, когда у ВИЧ-инфицированных из Бразилии и Аргентины (регионы с высоким распространением штаммов *China 1* и *Med+*) делеция 30 п.н./10 а.к. встречалась чаще [21, 27], а в Швейцарии (регион Европы, в котором доминирует штамм *B95-8*) различия отсутствовали [51].

Область тандемных повторов. Известно, что прототипный штамм ВЭБ в области тандемных повторов (а.к. 253–306) включает четыре идеальных повтора, состоящих из 11 а.к. (PQDPDNTDDNG) с разрывом в 5 а.к. (PHDPL) между вторым или третьим повторами (так называемые «4,5 повтора»). Другой мотив из 5 а.к. PHDPL (а.к. 302–306) завершает область тандемных повторов. Анализируемые последовательности ВЭБ у ВИЧ-инфицированных па-

циентов характеризовались выраженным разнообразием области тандемных повторов. В то время как в изолятах LMP-1 *B95-8* у ВИЧ(–) взрослых или в ранее проведенном нами исследовании у детей [5] встречались, как правило, прототипные последовательности тандемных повторов, у 15,7±5,1% ВИЧ-инфицированных пациентов при этом были выявлены их модифицированные субварианты. Клинико-эпидемиологическая оценка полиморфизма области тандемных повторов ограничивается единичными публикациями [16, 26, 46].

Аминокислотные замены. Выявлен широкий спектр аминокислотных замен в нижегородских изолятах ВЭБ у взрослых. Несмотря на то что замена глицина на серин в 212 положении является штамм-характерной для *China 1*, *China 2*, *China 3* и *Alaskan*, а замена серина на треонин в 366 кодоне присутствует в референсных штаммах LMP-1 *China 1*, *Med–*, *Med+*, *NC* и *Alaskan* [24], в нижегородских изолятах ВЭБ у взрослых они также были обнаружены практически во всех изолятах LMP-1 *B95-8*. Поскольку эти мутации относятся к *CAO*-подобным, их фенотипические характеристики были достаточно хорошо изучены как зарубежными, так и российскими исследователями. Мутация G212S приходится на первый сайт распознавания HOS-белков (одного из компонентов E3-лигазы, участвующего в процессинге молекулы IκB — супрессора NF-κB) [8]. Замена S366T локализуется в одном из сайтов связывания белков SCFHOS/βATrCP и приводит к тому, что мутантный белок теряет способность связываться с белками E3-лигазного комплекса. В результате в клетке концентрация LMP-1 повышается, пул белков SCFHOS/βTrCP не истощается, и подавления сигнального пути NF-κB не происходит. Накопление же транскрипционного фактора NF-κB играет важную роль в процессе трансформации инфицированных вирусом клеток [12]. По данным других исследователей любая из замен (G212S либо S366T) ассоциирована с усилением активации Erk и индукции экспрессии c-Fos [44], что влияет на процессы выживания, пролиферации, дифференцировки и миграции клеток. Примечательно, что в основной части нижегородских изолятов ВЭБ у взрослых, и, как ранее нами было установлено, у детей присутствовала двойная замена G212S/S366T [5]. Данное сочетание функционально ассоциировано с повышением уровня активации сигнального пути NF-κB и протеинкиназы-B (PKB/Akt) [1, 9]. По данным литературы у больных раком носоглотки (РНГ) из России довольно часто наблюдали замену S366A [6, 7], которая также была нами обнаружена в одном изоляте ВЭБ у взрослого ВИЧ-инфицированного пациен-

та (вариант *Med-*), а ранее также у детей с инфекционным мононуклеозом (варианты *B95-8* и *China 1*) [5].

В нижегородских изолятах ВЭБ мутация E328Q ассоциирована исключительно с вариантом LMP-1 *B95-8* с частотой выявления близкой к 100%. Замена E328Q достаточно широко распространена среди жителей России [2, 5, 11], а также была описана в изолятах ВЭБ от больных инфекционным мононуклеозом и раком носоглотки в Сербии [15, 16]. Замена E328Q расположена в координатах области STAR3 и способствует метаболизму глюкозы путем усиления экспрессии с-Мус посредством STAT3 [47]. Ее функциональную роль связывают со снижением цитотоксичности и усилением трансформирующей активности белка LMP-1. Предполагается, что обнаруженные аминокислотные замены в 212, 328 и 366 положениях LMP-1 придают этому онкобелку агрессивные характеристики и характерны для высокотуморогенных вариантов [8].

Остальная часть выявленных в настоящем исследовании мутаций остаются фенотипически не охарактеризованными. Можно предположить, что они потенциально могут изменять профиль внутриклеточной активности ряда сигнальных путей и их биологические свойства [10]. Для выяснения роли каждого из них необходимо проведение экспериментальных работ *in vitro* и *in vivo*.

Таким образом, все перечисленные особенности изолятов ВЭБ у пациентов с ВИЧ-инфекцией характеризуют эту группу лиц как резервуар генетической нестабильности ВЭБ и источник молекулярно-генетического разнообразия циркулирующих штаммов вируса.

Заключение

Впервые в России проведена оценка молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ у ВИЧ-инфицированных лиц. Расширены представления о типовой структуре изолятов ВЭБ в Нижегородской области. Установлено, что у взрослых ВИЧ-инфицированных преобладает тип ВЭБ-1, реже выявляются ВЭБ-2 и коинфицирование обоими типами вируса. В отличие от ВИЧ(+) пациентов в группе ВИЧ(-) обнаружен исключительно ВЭБ-1.

Получены новые данные о распространенности различных вариантов LMP-1 ВЭБ у ВИЧ-инфицированных. Всего выявлено 5 вариантов LMP-1 по классификации R. Edwards и соавт.: *B95-8*, *China 1*, *Med-*, *NC* и *Alaskan*, среди которых доминировал геновариант *B95-8*. При этом их частота встречаемости между исследуемыми группами ВИЧ(+) и ВИЧ(-) не различалась.

Как общая тенденция, при ВИЧ-инфекции отмечено появление рекомбинантных вариантов LMP-1 ВЭБ, более широкий спектр делеций, выраженная вариабельность области тандемных повторов с присутствием модифицированных мотивов и точечными аминокислотными заменами в них, а также описаны 57 аминокислотных замен, которые ранее в нижегородских изолятах ВЭБ не выявлялись.

Полученные результаты лежат в основе перспективного изучения взаимосвязи клинико-лабораторных особенностей ВЭБ+ВИЧ-коинфекции и генетической гетерогенности популяции ВЭБ на уровне типов, вариантов и субвариантов вируса.

Список литературы/References

1. Гончарова Е.В., Сенюта Н.Б., Смирнова К.В., Щербак Л.Н., Гурцевич В.Э. Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) в России: инфицированность населения и анализ вариантов гена LMP1 у больных ВЭБ-ассоциированными патологиями и здоровых лиц // Вопросы вирусологии. 2015. Т. 60, № 2. С. 11–17. [Goncharova E.V., Senyuta N.B., Smirnova K.V., Shcherbak L.N., Gurtsevich V.E. Epstein–Barr virus (EBV) in Russia: infection of the population and analysis of the LMP1 gene variants in patients with EBV-associated pathologies and healthy individuals. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2015, vol. 60, no. 2, pp. 11–17. (In Russ.)]
2. Гурцевич В.Э., Лубенская А.К., Сенюта Н.Б., Душенькина Т.Е., Смирнова К.В. Вирус Эпштейна–Барр (Herpesviridae: Gammaherpesvirinae: Lymphocryptovirus: Human gammaherpesvirus 4) у калмыков и славян, проживающих на территории России: типы вируса, варианты онкогена LMP1 и злокачественные опухоли // Вопросы вирусологии. 2022. Т. 67, № 3. С. 246–257. [Gurtsevich V.E., Lubenskaya A.K., Senyuta N.B., Dushenkina T.E., Smirnova K.V. Epstein–Barr virus (Herpesviridae: Gammaherpesvirinae: Lymphocryptovirus: Human gammaherpesvirus 4) in Kalmyks and Slavs living in Russia: virus types, LMP1 oncogene variants, and malignancies. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2022, vol. 67, no. 3, pp. 246–257. (In Russ.)] doi: 10.36233/0507-4088-120
3. Гурцевич В.Э., Смирнова К.В., Ботезату И.В., Душенькина Т.Е., Лубенская А.К., Дубар Э., Сенюта Н.Б., Лихтенштейн А.В., Петров С.В. Полиморфизм онкогена LMP1 вируса Эпштейна–Барр в двух этнических группах России, татар и славян, и его влияние на развитие некоторых злокачественных опухолей // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 347–358. [Gurtsevich V.E., Smirnova K.V., Botezatu I.V., Dushenkina T.E., Lubenskaya A.K., Dubar E., Senyuta N.B., Lichtenstein A.V., Petrov S.V. Epstein–Barr virus LMP1 oncogene polymorphism in tatar and slavic populations in Russian Federation impacting on some malignant tumours. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 347–358. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-EBV-1162
4. Попкова М.И., Уткин О.В. Генетическое разнообразие вируса Эпштейна–Барр: современный взгляд на проблему // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2022. Т. 99, № 1. С. 93–108. [Popkova M.I., Utkin O.V. Genetic diversity of the Epstein–Barr virus: a modern view of the problem. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2022, vol. 99, no. 1, pp. 93–108. (In Russ.)] doi: 10.36233/0372-9311-228

5. Попкова М.И., Уткин О.В., Брызгалова Д.А., Сахарнов Н.А., Соболева Е.А., Кулова Е.А. Молекулярно-генетическая характеристика нижегородских изолятов вируса Эпштейна–Барр у детей при инфекционном мононуклеозе и здоровом вирусоносительстве // *Инфекция и иммунитет*. 2023. Т. 13, № 2. С. 275–288. [Popkova M.I., Utkin O.V., Bryzgalova D.A., Sakharnov N.A., Soboleva E.A., Kulova E.A. Molecular and genetic characteristics of Nizhny Novgorod region Epstein–Barr virus isolates in children with infectious mononucleosis and healthy virus carriers. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2023, vol. 13, no. 2, pp. 275–288. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-MAG-2056
6. Сеньюта Н.Б., Игнатова А.В., Ломая М.В., Гончарова Е.В., Щербак Л.Н., Душенькина Т.Е., Гугунов Д.В., Мудунов А.М., Гурцевич В.Э. Вирус Эпштейна–Барр у больных раком носоглотки и здоровых лиц в двух географически различных регионах России // *Инфекция и иммунитет*. 2017. Т. 7, № 1. С. 41–50. [Senyuta N.B., Ignatova A.V., Lomaya M.V., Goncharova E.V., Scherback L.N., Dushenkina T.E., Gugunov D.V., Mudunov A.M., Gurtsevitch V.E. Epstein–Barr virus in the population of two geographically different regions of Russia. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2017, vol. 7, no. 1, pp. 41–50. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-41-50
7. Сеньюта Н.Б., Смирнова К.В., Дидук С.В., Гончарова Е.В., Щербак Л.Н., Гурцевич В.Э. Структурно-функциональная характеристика онкогена LMP1 у больных с опухолями, ассоциированными и не ассоциированными с вирусом Эпштейна–Барр // *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2016. Т. 31, № 2. С. 71–75. [Senyuta N.B., Smirnova K.V., Diduk S.V., Goncharova E.V., Shcherbak L.N., Gurtsevitch V.E. Structural and functional characteristics of the LMP1 oncogene in patients with tumors associated and not associated with the Epstein–Barr virus. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2016, vol. 31, no. 2, pp. 87–93. (In Russ.)] doi: 10.18821/0208-0613-2016-34-2-71-75
8. Смирнова К.В., Дидук С.В., Гурцевич В.Э. Полиморфизм онкогена LMP1 вируса Эпштейна–Барр у представителей коренного малочисленного народа Дальнего Востока России // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2017. Т. 22, № 5. С. 239–247. [Smirnova K.V., Diduk S.V., Gurtsevitch V.E. Polymorphism of Epstein–Barr virus LMP1 oncogene in nanaians, representatives of indigenous minority of the russian Far East. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases*, 2017, vol. 22, no. 5, pp. 239–247. (In Russ.)] doi: 10.18821/1560-9529-2017-22-5-239-247
9. Смирнова К.В., Дидук С.В., Сеньюта Н.Б., Гурцевич В.Э. Молекулярно-биологические свойства гена lmp1 вируса Эпштейна–Барр: структура, функции и полиморфизм // *Вопросы вирусологии*. 2015. Т. 60, № 3. С. 5–13. [Smirnova K.V., Diduk S.V., Senyuta N.B., Gurtsevitch V.E. Molecular biological properties of the Epstein–Barr virus LMP1 gene: structure, function and polymorphism. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2015, vol. 60, no. 3, pp. 5–13. (In Russ.)]
10. Смирнова К.В., Сеньюта Н.Б., Ботезату И.В., Душенькина Т.Е., Лубенская А.К., Фроловская А.А., Петров С.В., Лихтенштейн А.В., Гурцевич В.Э. Вирус Эпштейна–Барр у этнических татар: инфицированность и сиквенсные варианты онкогена LMP1 // *Успехи молекулярной онкологии*. 2018. Т. 5, № 3. С. 65–74. [Smirnova K.V., Senyuta N.B., Botezatu I.V., Dushenkina T.E., Lubenskaya A.K., Frolovskaya A.A., Petrov S.V., Lichtenstein A.V., Gurtsevitch V.E. Epstein–Barr virus in the ethnic Tatars population: the infection and sequence variants of LMP1 oncogene. *Uspekhi molekulyarnoi onkologii = Advances in Molecular Oncology*, 2018, vol. 5, no. 3, pp. 65–74. (In Russ.)] doi: 10.17650/2313-805X-2018-5-3-65-74
11. Смирнова К.В., Сеньюта Н.Б., Лубенская А.К., Душенькина Т.Е., Гурцевич В.Э. Древние варианты вируса Эпштейна–Барр (Herpesviridae, Lymphocryptovirus, HHV-4): гипотезы и факты // *Вопросы вирусологии*. 2020. Т. 65, № 2. С. 77–86. [Smirnova K.V., Senyuta N.B., Lubenskaya A.K., Dushenkina T.E., Gurtsevich V.E. Ancient variants of the Epstein–Barr virus (Herpesviridae, Lymphocryptovirus, HHV-4): hypotheses and facts. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 77–86. (In Russ.)] doi: 10.36233/0507-4088-2020-65-2-77-86
12. Яковлева Л.С., Сеньюта Н.Б., Гончарова Е.В., Щербак Л.Н., Смирнова К.В., Павлиш О.А., Гурцевич В.Э. Варианты онкогена LMP1 вируса Эпштейна–Барр в клеточных линиях различного происхождения // *Молекулярная биология*. 2015. Т. 49, № 5. С. 800–810. [Yakovleva L.S., Senyuta N.B., Goncharova E.V., Scherback L.N., Smirnova R.V., Pavlish O.A., Gurtsevitch V.E. Epstein–Barr Virus LMP1 oncogene variants in cell lines of different origin. *Molekulyarnaya biologiya = Molecular Biology*, 2015, vol. 49, no. 5, pp. 800–810. (In Russ.)] doi: 10.7868/S0026898415050213
13. Alves P., Larrate M., Garcia-Costa A., Rohan P., Gama B.E., Abdelhay E., Delatorre E., Hassan R. Spatial dispersal of Epstein–Barr virus in South America reveals an african american variant in brazilian lymphomas. *Viruses*, 2022, vol. 14, no. 8: 1762. doi: 10.3390/v14081762
14. Baer R., Bankier A.T., Biggin M.D., Deininger P.L., Farrell P.J., Gibson T.G. DNA sequence and expression of the B95-8 Epstein–Barr virus genome. *Nature (London)*, 1984, vol. 310, pp. 207–211. doi: 10.1038/310207a0
15. Banko A.V., Lazarevic I.B., Folic M.M., Djukic V.B., Cirkovic A.M., Karalic D.Z., Cupic M.D., Jovanovic T.P. Characterization of the variability of Epstein–Barr virus genes in nasopharyngeal biopsies: potential predictors for carcinoma progression. *PLoS One*, 2016, vol. 11, no. 4: e0153498. doi: 10.1371/journal.pone.0153498
16. Banko A., Lazarevic I., Stevanovic G., Cirkovic A., Karalic D., Cupic M., Banko B., Milovanovic J., Jovanovic T. Analysis of the variability of Epstein–Barr virus genes in infectious mononucleosis: investigation of the potential correlation with biochemical parameters of hepatic involvement. *J. Med. Biochem.*, 2016, vol. 35, no. 3, pp. 337–346. doi: 10.1515/jomb-2015-0021
17. Baroncelli S., Galluzzo C.M., Liotta G., Andreotti M., Orlando S., Ciccacci F., Mphwere R., Luhanga R., Sagno J.B., Amici R., Marazzi M.C., Giuliano M. HIV-exposed infants with EBV infection have a reduced persistence of the immune response to the HBV vaccine. *AIDS Res. Ther.*, 2021, vol. 18, no. 1: 48. doi: 10.1186/s12981-021-00375-7
18. Bridges R., Correia S., Wegner F., Venturini C., Palser A., White R.E., Kellam P., Breuer J., Farrell P.J. Essential role of inverted repeat in Epstein–Barr virus IR-1 in B cell transformation; geographical variation of the viral genome. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 2019, vol. 374, no. 1773: 20180299. doi: 10.1098/rstb.2018.0299
19. Coleman C.B., Daud I.I., Ogolla S.O., Ritchie J.A., Smith N.A., Sumba P.O., Dent A.E., Rochford R. Epstein–Barr virus type 2 infects T cells in healthy kenyan children. *J. Infect. Dis.*, 2017, vol. 216, no. 6, pp. 670–677. doi: 10.1093/infdis/jix363
20. Coleman C.B., Lang J., Sweet L.A., Smith N.A., Freed B.M., Pan Z., Haverkos B., Pelanda R., Rochford R. Epstein–Barr virus type 2 infects T cells and induces B cell lymphomagenesis in humanized mice. *J. Virol.*, 2018, vol. 92, no. 21: e00813-18. doi: 10.1128/JVI.00813-18

21. Correa R.M., Fellner M.D., Durand K., Redini L., Alonio V., Yampolsky C., Colobraro A., Sevlever G., Teyssié A., Benetucci J., Picconi M.A. Barr virus genotypes and LMP-1 variants in HIV-infected patients. *J. Med. Virol.*, 2007, vol. 79, no. 4, pp. 401–407. doi: 10.1002/jmv.20782
22. Correia S., Palser A., Elgueta Karstegl C., Middeldorp J.M., Ramayanti O., Cohen J.I., Hildesheim A., Fellner M.D., Wiels J., White R.E., Kellam P., Farrell P.J. Natural variation of Epstein–Barr virus genes, proteins, and primary microRNA natural variation of Epstein–Barr virus genes, proteins, and primary microRNA. *J. Virol.*, 2017, vol. 91, no. 15: e00375-17. doi: 10.1128/JVI.00375-17
23. Dolcetti R., Zancai P., De Re V., Gloghini A., Bigoni B., Pivetta B., De Vita S., Carbone A., Boiocchi M. Epstein–Barr virus strains with latent membrane protein-1 deletions: prevalence in the Italian population and high association with human immunodeficiency virus-related Hodgkin’s disease. *Blood*, 1997, vol. 89, no. 5, pp. 1723–1731.
24. Edwards R.H., Seillier-Moisewitsch F., Raab-Traub N. Signature amino acid changes in latent membrane protein 1 distinguish Epstein–Barr virus strains. *Virology*, 1999, vol. 261, pp. 79–95. doi: 10.1006/viro.1999.9855
25. Farrell P.J., White R.E. Do Epstein–Barr virus mutations and natural genome sequence variations contribute to disease? *Biomolecules*, 2022, vol. 12, no. 1: 17. doi: 10.3390/biom12010017
26. Gantuz M., Lorenzetti M.A., Chabay P.A., Preciado M.V. A novel recombinant variant of latent membrane protein 1 from Epstein Barr virus in Argentina denotes phylogeographical association. *PLoS One*, 2017, vol. 12, no. 3: e0174221. doi: 10.1371/journal.pone.0174221
27. Giron L.B., Ramos da Silva S., Barbosa A.N., Monteiro de Barros Almeida R.A., Rosário de Souza Ld., Elgui de Oliveira D. Impact of Epstein–Barr virus load, virus genotype, and frequency of the 30 bp deletion in the viral BNLF-1 gene in patients harboring the human immunodeficiency virus. *J. Med. Virol.*, 2013, vol. 85, no. 12, pp. 2110–2118. doi: 10.1002/jmv.23722
28. Hu L.F., Zabarovsky E.R., Chen F., Cao S.L., Ernberg I., Klein G., Winberg G. Isolation and sequencing of the Epstein–Barr virus BNLF-1 gene (LMP1) from a Chinese nasopharyngeal carcinoma. *J. Gen. Virol.*, 1991, vol. 72, no. 1, pp. 2399–2409. doi: 10.1099/0022-1317-72-10-2399
29. Mainou B.A., Raab-Traub N. LMP1 strain variants: biological and molecular properties. *J. Virol.*, 2006, vol. 80, no. 13, pp. 6458–6468. doi: 10.1128/JVI.00135-06
30. Martini M., Capello D., Serraino D., Navarra A., Pierconti F., Cenci T., Gaidano G., Larocca L.M. Characterization of variants in the promoter of EBV gene BZLF1 in normal donors, HIV-positive patients and in AIDS-related lymphomas. *J. Infect.*, 2007, vol. 54, no. 3, pp. 298–306. doi: 10.1016/j.jinf.2006.04.015
31. Pai P.C., Tseng C.K., Chuang C.C., Wei K.C., Hao S.P., Hsueh C., Chang K.P., Tsang N.M. Polymorphism of C-terminal activation region 2 of Epstein–Barr virus latent membrane protein 1 in predicting distant failure and post-metastatic survival in patients with nasopharyngeal carcinoma. *Head Neck*, 2007, vol. 29, pp. 109–119. doi: 10.1002/hed.20483
32. Pedneault L., Lapointe N., Alfieri C., Ghadirian P., Carpentier L., Samson J., Joncas J. Natural history of Epstein–Barr virus infection in a prospective pediatric cohort born to human immunodeficiency virus-infected mothers. *J. Infect. Dis.*, 1998, vol. 177, no. 4, pp. 1087–1090. doi: 10.1086/517401
33. Pereira L.M.S., Dos Santos França E., Costa I.B., Lima I.T., Freire A.B.C., de Paula Ramos F.L., Monteiro T.A.F., Macedo O., Sousa R.C.M., Freitas F.B., Costa I.B., Vallinoto A.C.R. Epidemiological risk factors associated with primary infection by Epstein–Barr virus in HIV-1-positive subjects in the Brazilian Amazon region. *Sci. Rep.*, 2021, vol. 11, no. 1: 18476. doi: 10.1038/s41598-021-97707-4
34. Pereira L.M.S., França E.D.S., Costa I.B., Lima I.T., Freire A.B.C., Ramos F.L.P., Monteiro T.A.F., Macedo O., Sousa R.C.M., Freitas F.B., Brasil Costa I., Vallinoto A.C.R. Epstein–Barr virus (EBV) genotypes associated with the immunopathological profile of people living with HIV-1: immunological aspects of primary EBV infection. *Viruses*, 2022, vol. 14, no. 2: 168. doi: 10.3390/v1402016
35. Petrara M.R., Cattelan A.M., Zanchetta M., Sasset L., Freguja R., Gianesin K., Cecchetto M.G., Carmona F., De Rossi A. Epstein–Barr virus load and immune activation in human immunodeficiency virus type 1-infected patients. *J. Clin. Virol.*, 2012, vol. 53, no. 3, pp. 195–200. doi: 10.1016/j.jcv.2011.12.013
36. Petrara M.R., Penazzato M., Massavon W., Nabachwa S., Nannyonga M., Mazza A., Gianesin K., Del Bianco P., Lundin R., Sumpter C., Zanchetta M., Giaquinto C., De Rossi A. Epstein–Barr virus load in children infected with human immunodeficiency virus type 1 in Uganda. *J. Infect. Dis.*, 2014, vol. 210, no. 3, pp. 392–399. doi: 10.1093/infdis/jiu099
37. Salahuddin S., Azhar J., Akhtar H., Khan J., Muhammad N. Epstein–Barr virus epidemiology in HIV infected transsexuals. *J. Pak. Med. Assoc.*, 2021, vol. 71, no. 8, pp. 1984–1988. doi: 10.47391/JPMA.02-339
38. Samayoa-Reyes G., Ogolla S.O., Daud I.I., Jackson C., Sabourin K.R., Dent A., Rochford R. Maternal HIV Infection as a Risk Factor for Primary Epstein–Barr Virus Infection in Kenyan Infants. *Front. Oncol.*, 2022, vol. 11: 805145. doi: 10.3389/fonc.2021.805145
39. Santos L., Azevedo K., Silva L., Oliveira L. Epstein–Barr virus in oral mucosa from human immunodeficiency virus positive patients. *Rev. Assoc. Med. Bras.* (1992), 2014, vol. 60, no. 3, pp. 262–269. doi: 10.1590/1806-9282.60.03.016
40. Sitki-Green D., Edwards R.H., Webster-Cyriaque J., Raab-Traub N. Identification of Epstein–Barr virus strain variants in hairy leukoplakia and peripheral blood by use of a heteroduplex tracking assay. *J. Virol.*, 2002, vol. 76, no. 19, pp. 9645–9656. doi: 10.1128/jvi.76.19.9645-9656.2002
41. Traore L., Nikiema O., Ouattara A.K., Compaore T.R., Soubeiga S.T., Diarra B., Obiri-Yeboah D., Sorgho P.A., Djigma F.W., Bisseye C., Yonli A.T., Simpore J. EBV and HHV-6 circulating subtypes in people living with HIV in Burkina Faso, impact on CD4 T cell count and HIV viral load. *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.*, 2017, vol. 9, no. 1: e2017049. doi: 10.4084/MJHID.2017.049
42. Tsai M.H., Lin X., Shumilov A., Bernhardt K., Feederle R., Poirey R., Kopp-Schneider A., Pereira B., Almeida R., Delecluse H.J. The biological properties of different Epstein–Barr virus strains explain their association with various types of cancers. *Oncotarget*, 2017, vol. 8, no. 6, pp. 10238–10254. doi: 10.18632/oncotarget.14380
43. Tzellos S., Farrell P.J. Epstein–Barr virus sequence variation-biology and disease. *Pathogens*, 2012, vol. 1, no. 2, pp. 156–174. doi: 10.3390/pathogens1020156

44. Vaysberg M., Hatton O., Lambert S.L., Snow A.L., Wong B., Krams S.M., Martinez O.M. Tumor-derived variants of Epstein–Barr virus latent membrane protein 1 induce sustained Erk activation and c-Fos. *J. Biol. Chem.*, 2008, vol. 283, no. 52, pp. 36573–36585. doi: 10.1074/jbc.M802968200
45. Verdu–Bou M., Tapia G., Hernandez-Rodriguez A., Navarro J.T. Therapeutic Implications of Epstein–Barr Virus in HIV-Related Lymphomas. *Cancers (Basel)*, 2021, vol. 13, no. 1: 5534. doi: 10.3390/cancers13215534
46. Wan Z., Chen Y., Hui J., Guo Y., Peng X., Wang M., Hu C., Xie Y., Su J., Huang Y., Xu X., Xu Y., Zhu B. Epstein–Barr virus variation in people living with human immunodeficiency virus in southeastern China. *Viol. J.*, 2023, vol. 20, no. 1: 107. doi: 10.1186/s12985-023-02078-z
47. Wang L., Ning S. New Look of EBV LMP1 Signaling Landscape. *Cancers (Basel)*, 2021, vol. 13, no. 21: 5451. doi: 10.3390/cancers13215451
48. Xue W.Q., Wang T.M., Huang J.W., Zhang J.B., He Y.Q., Wu Z.Y., Liao Y., Yuan L.L., Mu J., Jia W.H. A comprehensive analysis of genetic diversity of EBV reveals potential high-risk subtypes associated with nasopharyngeal carcinoma in China. *Virus Evol.*, 2021, vol. 7, no. 1: veab010. doi: 10.1093/ve/veab010
49. Yao Q.Y., Tierney R.J., Croom-Carter D., Cooper G.M., Ellis C.J., Rowe M., Rickinson A.B. Isolation of intertypic recombinants of Epstein–Barr virus from T-cell-immunocompromised individuals. *J. Virol.*, 1996, vol. 70, no. 8, pp. 4895–4903. doi: 10.1128/JVI.70.8.4895-4903.1996
50. Zealiyas K., Teshome S., Haile A.F., Weigel C., Alemu A. Amogne W., Yimer G., Abebe T., Berhe N., Ahmed E.H., Baiocchi R.A. Genotype characterization of Epstein–Barr virus among adults living with human immunodeficiency virus in Ethiopia. *Front. Microbiol.*, 2023, vol. 14: 1270824. doi: 10.3389/fmicb.2023.1270824
51. Zuercher E., Buttica C., Wyniger J., Martinez R., Battagay M., Boffi El Amari E., Dang T., Egger J.F., Fehr J., Mueller-Garamvögyi E., Parini A., Schaefer S.C., Schoeni-Affolter F., Thurnheer C., Tinguely M., Telenti A., Rothenberger S. Swiss HIV Cohort Study. Genetic diversity of EBV-encoded LMP1 in the Swiss HIV Cohort Study and implication for NF-κB activation. *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 2: e32168. doi: 10.1371/journal.pone.0032168

Авторы:

Попкова М.И., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;

Филатова Е.Н., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;

Минаева С.В., к.м.н., доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, г. Нижний Новгород, Россия;

Сахарнов Н.А., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;

Уткин О.В., к.б.н., зав. лабораторией молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия.

Authors:

Popkova M.I., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Filatova E.N., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Minaeva S.V., PhD (Medicine), Associate Professor of the Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine Department, Privolzhskiy Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Sakharnov N.A., Senior Researcher, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

Utkin O.V., PhD (Biology), Head of the Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation.

ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ НА ФОНЕ ПНЕВМОКОККОВОЙ ВАКЦИНАЦИИ

М.П. Костинов^{1,2}, Б.Ц. Батожаргалова¹, И.В. Бишева¹, Е.А. Курбатова¹, А.Д. Шмитко¹,
Г.В. Лукина^{3,4}, Д.А. Муртазалиева³, С.А. Сходова¹, Д.А. Благовидов¹

¹ ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

² ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

³ ГБУЗ Московский клинический научный центр им. А.С. Логинова ДЗМ, Москва, Россия

⁴ ФГБНУ Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой, Москва, Россия

Резюме. Ревматоидный артрит (РА) — аутоиммунное воспалительное заболевание суставов, характеризующееся системным деструктивным и прогрессирующим воспалительным синовитом, обусловленное продукцией нейтрофилами и макрофагами хемокинов, активных форм кислорода, провоспалительных цитокинов в синовиальной оболочке. Цель: исследование показателей фагоцитарной активности лейкоцитов и факторов кислородзависимой бактерицидности лейкоцитов у больных ревматоидным артритом, получающих метотрексат (МТ) и тофацитиниб (ТОФА), вакцинированных конъюгированной пневмококковой вакциной (ПКВ13). *Материалы и методы.* В исследование включен 151 пациент с РА (78,1% женщин и 21,9% мужчин в возрасте 26–69 лет). Вакцинацию ПКВ13 проводили однократно в дозе 0,5 мл внутримышечно на фоне продолжения приема ТОФА и МТ. Инициацию ТОФА проводили через 10–14 дней после вакцинации, группы сравнения получали одноименные препараты. На момент включения в исследование и во время контрольных визитов через 3 и 12 месяцев проводили исследование фагоцитарной активности лейкоцитов и НСТ-тест. *Результаты.* Перед началом исследования пациенты имели незначительные количественные и функциональные изменения фагоцитарной активности лейкоцитов, отмечалось снижение резервных возможностей кислородзависимой бактерицидности. У вакцинированных ПКВ13, продолжающих ТОФА (II группа), определено незначительное снижение фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов. У невакцинированных пациентов V группы, продолжающих терапию ТОФА, наблюдали усиление поглотительной активности моноцитов как через 3 месяца, так и через 12 месяцев. У вакцинированных ПКВ13 пациентов РА II группы, продолжающих ТОФА, отмечали аналогичные изменения. Терапия метотрексатом у вакцинированных ПКВ13 и невакцинированных не оказывала влияния на фагоцитарную активность лейкоцитов. *Заключение.* ПКВ13 у больных РА вызывало незначительное снижение поглотительной способности нейтрофилов, восстановившееся через год после вакцинации, что сопровождалось усилением кислородзависимой бактерицидности лейкоцитов в виде продукции АФК, способствующей усилению иммунной защиты пациентов при встрече с потенциальными патогенами.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, ПКВ13, метотрексат, тофацитиниб, фагоцитарная активность лейкоцитов, НСТ-тест.

Адрес для переписки:

Батожаргалова Баирма Цыдендамбаевна
105064, Россия, Москва, Малый Казенный пер., 5а,
ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова.
Тел.: 8 915 319-07-22 (моб.).
E-mail: bairma74@mail.ru

Contacts:

Bairma Ts. Batozhargalova
105064, Russian Federation, Moscow, Malyy Kazenny lane, 5A,
I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera.
Phone: +7 915 319-07-22 (mobile).
E-mail: bairma74@mail.ru

Для цитирования:

Костинов М.П., Батожаргалова Б.Ц., Бишева И.В., Курбатова Е.А., Шмитко А.Д., Лукина Г.В., Муртазалиева Д.А., Сходова С.А., Благовидов Д.А. Фагоцитарная активность лейкоцитов у больных ревматоидным артритом на фоне пневмококковой вакцинации // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 103–111. doi: 10.15789/2220-7619-LPA-17689

Citation:

Kostinov M.P., Batozhargalova B.Ts., Bisheva I.V., Kurbatova E.A., Shmitko A.D., Lukina G.V., Murtazalieva D.A., Skhodova S.A., Blagovidov D.A. Leukocyte phagocytic activity in patients with rheumatoid arthritis during vaccination with pneumococcal vaccine // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 103–111. doi: 10.15789/2220-7619-LPA-17689

LEUKOCYTE PHAGOCYtic ACTIVITY IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS DURING VACCINATION WITH PNEUMOCOCCAL VACCINE

Kostinov M.P.^{a,b}, Batozhargalova B.Ts.^a, Bisheva I.V.^a, Kurbatova E.A.^a, Shmitko A.D.^a, Lukina G.V.^{c,d}, Murtazalieva D.A.^c, Skhodova S.A.^a, Blagovidov D.A.^a

^a I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

^b I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

^c A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow, Russian Federation

^d V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russian Federation

Abstract. Rheumatoid arthritis (RA) is a joint autoimmune inflammatory disease characterized by systemic destructive and progressive inflammatory synovitis caused by chemokines, reactive oxygen species, and proinflammatory cytokines produced by neutrophils and macrophages in the synovial membrane. The objective of the work was to study indicators of leukocyte phagocytic activity and factors of leukocyte oxygen-dependent bactericidal activity in patients with rheumatoid arthritis receiving methotrexate (MTX) and tofacitinib (TOFA), vaccinated with pneumococcal conjugate vaccine (PCV13). *Materials and methods.* The study included 151 patients with RA (78.1% women and 21.9% men aged 26–69 years). PCV13 vaccination was carried out once in a dose of 0.5 ml intramuscularly in subjects receiving TOFA and MTX; TOFA was initiated 10–14 days after vaccination; those in comparison groups received same drugs. At the time of inclusion in the study, and during control visits 3 months and 12 months later, leukocyte phagocytic activity and NBT test were carried out. *Results.* Before the study, patients had minor quantitative and functional changes in leukocyte phagocytic activity and a decrease in the reserve capacity of oxygen-dependent bactericidal activity. In PCV13 vaccinated patients receiving TOFA (Group II), a minor decrease in the phagocytic activity of neutrophilic granulocytes was determined. In unvaccinated patients from group V receiving TOFA therapy, an increase in monocyte absorptive activity was observed both 3 months and 12 months later. In PCV13 vaccinated RA patients from group II receiving TOFA, similar changes were noted. Methotrexate therapy in PCV13 vaccinated and unvaccinated patients did not affect leukocyte phagocytic activity. *Conclusion.* In patients with RA, PCV13 caused a slight decrease in neutrophil absorptive capacity, which was restored one year post-vaccination accompanied by higher leukocyte oxygen-dependent bactericidal activity in the form of ROS production, which helps to strengthen immune defense in patients encountering potential pathogens.

Key words: rheumatoid arthritis, PCV13, methotrexate, tofacitinib, phagocytic activity of leukocytes, NBT test.

Введение

Ревматоидный артрит (РА) — аутоиммунное воспалительное заболевание суставов, характеризующееся системным деструктивным и прогрессирующим воспалительным синовиитом требующее длительного лечения [19]. В иммунопатогенезе РА важная роль отводится нейтрофилам, которые накапливаются в большом количестве в синовиальной жидкости, индуцируя хронический воспалительный процесс за счет продукции цитокинов и хемокинов и выработки активных форм кислорода (АФК) [15, 25, 32]. Продукция АФК зависит от активности NADPH-оксидазы нейтрофилов (NOX2). Измерение количества АФК в цитозоле нейтрофилов с помощью теста восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-теста) косвенно отражает содержание NOX2 и дает представление о корреляции между АФК и активностью заболевания при аутоиммунных процессах [10]. Исследования фагоцитарной активности лейкоцитов при РА немногочисленны и противоречивы [2, 4, 8, 9, 18, 24]. Нарушение эффероцитоза — эффективного и быстрого фагоцитоза погибших клеток дендритными клетками и макрофагами является универсальной особенностью поврежденных тканей при аутоиммунных заболеваниях [16, 23, 26, 27].

Для снижения интенсивности воспаления и коррекции иммунных нарушений при РА наиболее часто используют лекарственные средства, обладающие иммуносупрессивным действием. К ним относятся базисные противовоспалительные препараты (БПВП) — метотрексат (МТ); таргетные синтетические препараты (тсБПВП) — тофацитиниб (ТОФА); глюкокортикоиды (ГК) и генно-инженерные биологические препараты (ГИБП) — этанерцепт, адалимумаб и др. [7, 21, 31].

Показано, что метотрексат (МТ) подавляет продукцию цитокинов и хемокинов, снижая воспалительный процесс в суставах [12]. Ингибиторы TNF α , такие как этанерцепт, адалимумаб, снижают продукцию провоспалительных цитокинов и фагоцитарную активность макрофагов моноцитарного происхождения и уменьшают макрофагальную инфильтрацию синовиальной оболочки суставов [18].

На фоне иммуносупрессивной терапии пациенты с РА подвержены риску инвазивных пневмококковых инфекций. В связи с этим вакцинация против пневмококка имеет существенное значение [1, 11, 22]. Для профилактики пневмококковой инфекции у пациентов с РА в России используют полисахаридные и конъюгированные пневмококковые вакцины [3, 7]. До настоящего времени не проводили иссле-

дований по оценке фагоцитарной активности лейкоцитов у больных РА вакцинированных пневмококковой вакциной и получающих в качестве базисной терапии иммунодепрессанты.

Цель: исследование показателей фагоцитарной активности лейкоцитов и кислородзависимых факторов бактерицидности лейкоцитов у больных РА, вакцинированных конъюгированной пневмококковой вакциной ПКВ13.

Материалы и методы

Проспективное открытое лонгитудинальное исследование проведено на базе ревматологического центра ГБУЗ МКНЦ имени А.С. Логинова ДЗМ (2018–2021 гг.) и ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова». Исследование одобрено локальным этическим комитетом ГБУЗ МКНЦ имени А.С. Логинова ДЗМ (протокол № 9 от 17.11.2017 г.).

Для проведения исследования сформировано 6 групп пациентов с РА в соответствии с получаемой противовоспалительной терапией и проведенной вакцинацией против пневмококковой инфекции вакциной Превенар13 (ПКВ13). В I группу входили пациенты с РА ($n = 29$), вакцинированные ПКВ13, ранее не получавшие лечение тофацитинибом (ТОФА), которым был назначен ТОФА в дозе 5 мг 2 раза в сутки; II группа — пациенты ($n = 24$), вакцинированные ПКВ13 и продолжающие терапию препаратом ТОФА 5 мг 2 раза в сутки ($n = 24$), III группа пациентов ($n = 18$) получала вакцинацию ПКВ13 на фоне лечения метотрексатом 15–25 мг/неделю. Невакцинированные пациенты с РА, получавшие одноименные препараты со сходной дозировкой, были включены в три следующие группы: IV группа — пациенты ($n = 26$), ранее не получавшие препарат ТОФА; V группа — пациенты ($n = 29$), продолжающие терапию ТОФА; VI группа пациентов ($n = 25$) получала лечение препаратом МТ.

Критерии включения: пациенты в возрасте 26–69 лет, ранее не получавшие ранее ГИБП; установленный диагноз ревматоидного артрита; наличие письменного добровольного информированного согласия на проведение исследования.

Критерии исключения: отказ пациента от дальнейшего исследования, смена терапии, осложнения проводимой терапии. Из дальнейшего исследования исключены через 3 месяца 17 больных РА: в I группе 4 пациента (3 больных — отказ, у одного больного осложнение РА); в III группе 5 пациентов (4 пациента — отказ, у одного пациента смена МТ из-за непереносимости); в IV группе один пациент; в V группе 2 пациента, в VI группе 5 пациентов.

Вакцинацию ПКВ13 проводили в дельтовидную мышцу внутримышечно в объеме 0,5 мл.

Образцы гепаринизированной крови пациентов исследовали до начала исследования и через 3 и 12 месяцев.

Фагоцитарная активность лейкоцитов (ФАЛ). Поглотительную способность лейкоцитов проводили методом проточной лазерной цитофлуориметрии. В качестве объекта исследования использовали инактивированные нагреванием микробные клетки *Staphylococcus aureus*, меченные флуоресцеинизотиоционатом (ФИТЦ). Смесь, состоящую из гепаринизированной крови и ФИТЦ-меченного стафилококка, инкубировали при 37°C в течение 30 мин. Затем лизировали эритроциты, клетки трижды отмывали раствором Изотона. Полученный образец анализировали на проточном цитофлуориметре «FC-500» (Beckman Coulter) [6].

НСТ-тест. Для проведения спонтанного НСТ-теста взвесь лейкоцитов, выделенных из гепаринизированной крови, наносили на предметные стекла и инкубировали с 0,1% раствором НСТ и фосфатно-солевым буфером при 37°C 30 мин во влажной камере. При постановке стимулированного НСТ-теста к лейкоцитарной взвеси прибавляли частицы латекса размером 1,5 мкм и инкубировали как описано выше. Препараты фиксировали, окрашивали по Романовскому–Гимзе. Оценку результатов проводили методом световой микроскопии с иммерсионным объективом $\times 100$ путем подсчета клеток, содержащих темно-фиолетовые гранулы формазана (формазан-положительные клетки) [5].

Работа выполнена с использованием сертифицированного оборудования Центра коллективного пользования ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова».

Статистический анализ проводили с помощью программы SPSS statistics 26 (IBM, США) с использованием непараметрических критериев хи-квадрат, Манна–Уитни и Вилкоксона при сравнении визитов.

Результаты

В исследовании принимал участие 151 пациент с РА, из них женщин 118 (78,1%). Средний возраст пациентов составил 53,3 года (табл. 1). Группы были сопоставимы по возрасту. Пациенты в группах I и IV, ранее не получавшие лечение ТОФА, характеризовались высокой активностью заболевания. В остальных группах пациентов активность РА была средней.

Показатели фагоцитарной активности лейкоцитов. Фагоцитарная активность гранулоцитов периферической крови больных РА до введения ПКВ13 в большинстве обследуемых групп не отличалась от нормальных значений (95–99%) (табл. 2). Только у пациентов II

Таблица 1. Демографическая характеристика исследуемых больных РА

Table 1. Demographic characteristics of the studied RA patients

Показатели Indicators	Вакцинированные ПКВ13/группы Vaccinated PCV13/groups			Невакцинированные/Группы Unvaccinated/groups		
	I (n = 29)	II (n = 24)	III (n = 18)	IV (n = 26)	V (n = 29)	VI (n = 25)
Мужчины/Женщины, % Men/Women, %	10,3/89,7	33,3/66,7*	22,2/77,8	26,9/73,1	10,3/89,7*	32,0/68,0
Возраст, Ме (Q25%; Q75%) Age, Me (Q25%; Q75%)	53,0 (43,5; 58,0)	55,5 (47,3; 62,8)	51,0 (44,5; 59,3)	53,5 (49,8; 58,3)	54,0 (43,5; 65,5)	53,0 (42,5; 59,0)
DAS28 (СОЭ) DAS28 (ESR)	6,1 (5,2; 6,8)	3,7 (3,1; 4,4)	4,4 (3,8; 4,8)	5,6 (5,1; 6,1)	3,7 (3,2; 4,3)	4,2 (3,3; 4,8)

Примечание. Достоверные различия между одноименными группами у женщин ($p_{II,V}$) = 0,04.

Note. Significant inter-group differences in women ($P_{II,V}$) = 0.04.

и IV групп выявлено незначительное снижение поглотительной способности гранулоцитов: во II группе (пациенты, продолжающие прием ТОФА) — до 94,7% и в IV группе (пациенты, начинающие прием ТОФА) до 94,0%. Через 3 месяца после проведения вакцинации ПКВ13 и продолжения приема базисных препаратов в I, III, V и VI группах фагоцитарная активность оставалась в пределах нормальных значений, а во II и IV группах этот параметр продолжал оставаться сниженным, с тенденцией к снижению в группе больных, длительно получавших ТОФА. Спустя год после вакцинации и начала проведения противовоспалительной терапии медианное значение фагоцитарной активности гранулоцитов у пациентов I, III, V и VI групп оставалось без изменений (95–96%), а у больных из II группы, продолжающих прием ТОФА, наблюдали тенденция к увеличению данного показателя до нормальных значений ($p_{2,3}$ = 0,057).

Фагоцитарная активность моноцитов до начала исследования во всех группах пациентов была в пределах нормы (табл. 2). При этом наблюдали существенные различия между IV и V группами (p = 0,044). У пациентов, продолжающих прием ТОФА, поглотительная способность моноцитов была ниже 70,0 (63,8; 79,0), чем у лиц, только начинающих терапию этим препаратом. Через год от начала исследования у пациентов II группы после вакцинации ПКВ13, проведенной на фоне базисной терапии, наблюдали достоверное увеличение фагоцитарной активности моноцитов с 70,5 (64,5; 80,75) до 79,0 (67,25; 89,23), $p_{1,3}$ = 0,029. В V группе (не вакцинированные, продолжающие прием ТОФА) — фагоцитарная активность моноцитов имела тенденцию к увеличению с 70,0 (63,8; 79,0) до 73,0 (68,0; 82,0), $p_{1,3}$ = 0,067.

Анализ продукции активных форм кислорода нейтрофильными гранулоцитами. До начала исследования, во всех группах пациентов процент формазан-позитивных клеток, а также средний

цитохимический индекс в спонтанном НСТ-тесте, отражающий кислородзависимую бактерицидность нейтрофильных гранулоцитов не отличались от нормальных значений (0,1–0,32) (табл. 2). Спонтанная продукция АФК нейтрофильными гранулоцитами в группах вакцинируемых пациентов (I, II, III группы) не имела различий в динамике наблюдения. У невакцинированных пациентов в V группе, продолжающих прием ТОФА, отмечали снижение спонтанной продукции АФК лейкоцитами ($p_{1,2}$ = 0,017) через 3 месяца от начала исследования, тогда как в IV группе, начинающей прием ТОФА, аналогичное уменьшение отмечали через 12 месяцев ($p_{2,3}$ = 0,019).

Содержание формазан-позитивных клеток в стимулированном латексом НСТ-тесте у пациентов РА до начала вакцинации ПКВ13 было незначительно ниже нормы (38–39%). Через 3 месяца и спустя год от начала исследования наблюдали нарастание продукции АФК лейкоцитами, достоверное в I группе ($p_{1,3}$ = 0,02) и тенденцию к увеличению в III группе, получающих МТ ($p_{1,3}$ = 0,058). В группах невакцинированных пациентов с РА, увеличения содержания формазан-позитивных клеток (%) и среднего цитохимического индекса не отмечали.

Индекс активации лейкоцитов в НСТ-тесте у 76–92% пациентов РА во всех группах был ниже нормы ($\geq 3,0$ у.е.) (табл. 2). Через 3 и 12 месяцев данный показатель увеличивался, но не достигал нормальных значений. Во II группе индекс активации достиг 2,43 (2,20; 9,95), $p_{1,2}$ = 0,029, через 3 месяца. Наиболее выраженным подъем индекса активации лейкоцитов отмечали в группах пациентов, вакцинированных ПКВ13, в I группе ТОФА до 2,8 (2,20; 3,25) ($p_{1,3}$ = 0,022) и II группе продолжающей ТОФА до 2,6 (2,40; 3,05), $p_{1,3}$ < 0,001, через 12 месяцев. Тогда как в VI группе у невакцинированных больных на фоне терапии МТ выявлено снижение индекса активации нейтрофилов до 2,35 (2,05; 2,68) через 12 месяцев $p_{2,3}$ = 0,036 (табл. 2).

Таблица 2. Фагоцитарная активность лейкоцитов периферической крови и НСТ-тест у больных РА, Me ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$)
 Table 2. Phagocytic activity of peripheral blood leukocytes and NBT test in patients with RA, Me ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$)

Показатели Indicators	Сроки исследования Duration of study	Вакцинированные ПКВ13/группы Vaccinated PCV13/groups			Невакцинированные/группы Unvaccinated/groups		
		I – ТОФА начинающие I – TOFA Baseline/naive (n = 29)	II – ТОФА продолжающие II – TOFA Continuous (n = 24)	III – МТХ III – MTX (n = 18)	IV – ТОФА начинающие IV – TOFA Baseline/naive (n = 26)	V – ТОФА продолжающие V – TOFA Continuous (n = 29)	VI – МТХ VI – MTX (n = 25)
ФИ МЦ, % (норма 65–95%) PI of monocytes (Reference 65–95%)	1–0	69,0 (63,0; 84,45)	70,5 (64,5; 80,75)	77,5 (66,75; 86,0)	78,0 (70,0; 84,75)*	70,0 (63,8; 79,0)*	72,0 (64,5; 81,5)
	2–3 мес.	75,0 (63,0; 82,25)	71,7 (65,25; 83,75)	78,0 (67,5; 86,5)	73,0 (64,0; 81,5)	74,0 (66,0; 82,0)	80,5 (66,5; 86,5)
	3–12 мес. P ₁₋₂₋₃	74,0 (64,5; 82,0)	79,0 (67,25; 89,23) (p _{1,3}) = 0,029	80,0 (71,5; 90,0)	78,0 (67,95; 88,45)	73,4 (68,0; 82,0) (p _{1,3}) = 0,067	75,2 (67,0; 84,25)
ФИ ГЦ, % (норма 95–99%) PI of granulocytes (Reference 95–99%)	1–0	96,0 (94,0; 96,5)	94,7 (93,25; 97,0)	96,0 (93,75; 98,0)**	94,0 (89,78; 97,0)	95,0 (90,0; 96,5)	95,0 (90,5; 6,0)**
	2–3 мес.	96,0 (94,0; 97,25)	94,0 (92,0; 96,0)	95,0 (93,5; 97,0)	94,0 (90,7; 96,5)	95,0 (91,0; 96,0)	95,0 (94,0; 97,0)
	3–12 мес. P ₁₋₂₋₃	95,0 (92,5; 96,5) (p _{1,2}) = 0,001 (p _{1,3}) = 0,001	96,0 (94,25; 97,23) (p _{2,3}) = 0,057	96,0 (93,5; 96,5) (p _{1,2}) = 0,004 (p _{1,3}) = 0,019	95,1 (92,35; 97,1) (p _{1,2}) = 0,058 (p _{1,3}) = 0,019	95,0 (92,0; 96,3)	95,0 (92,48; 96,0)
НСТ-тест NBT-test							
% ФПК спонтанного, (норма 5–23%) % FPC spontaneous (Reference 5–23%)	1–0	15,0 (13,0; 26,0)	20,0 (12,75; 23,75)	17,0 (10,0; 22,0)	17,0 (12,0; 19,0)	19,0 (12,5; 23,5)	16,0 (12,0; 18,5)
	2–3 мес.	16,0 (13,0; 19,0)	17,0 (12,5; 23,0)	17,0 (16,5; 20,5)	17,0 (11,5; 21,5)	16,0 (13,0; 19,0)	15,5 (8,5; 20,0)
	3–12 мес. P ₁₋₂₋₃	16,0 (11,5; 21,5)	15,5 (13,25; 20,0)	18,0 (13,5; 21,0)	15,0 (10,5; 18,5) (p _{2,3}) = 0,019	17,0 (14,0; 21,0) (p _{1,2}) = 0,017	18,0 (12,0; 22,75) (p _{2,3}) = 0,066
ЦП НСТ спонтанного, у.е. (норма 0,1–0,32 у.е.) CP NBT spontaneous (Reference 0,1–0,32 c.u.)	1–0	0,22 (0,17; 0,3)	0,25 (0,19; 0,32)	0,24 (0,15; 0,3)	0,2 (0,15; 0,25)	0,24 (0,17; 0,29)	0,18 (0,16; 0,24)
	2–3 мес.	0,2 (0,16; 0,24)	0,21 (0,17; 0,27)	0,22 (0,20; 0,25)	0,21 (0,16; 0,26)	0,21 (0,18; 0,23)	0,2 (0,13; 0,27)
	3–12 мес. P ₁₋₂₋₃	0,19 (0,16; 0,29) (p _{1,3}) = 0,035	0,2 (0,17; 0,26)	0,21 (0,19; 0,26)	0,19 (0,15; 0,25) (p _{2,3}) = 0,055	0,23 (0,18; 0,25) (p _{1,2}) = 0,006 (p _{2,3}) = 0,050	0,22 (0,16; 0,27)
% ФПК в НСТ стимулированного, (норма 40–82%) %FPC in NBT stimulated (Reference 40–82%)	1–0	39,0 (31,0; 45,0)	39,0 (35,0; 46,75)	39,0 (31,25; 46,0)	39,0 (30,75; 47,5)	38,0 (35,5; 49,0)	38,0 (35,5; 44,5)
	2–3 мес.	42,0 (34,0; 46,5)	41,0 (35,25; 48,0)	40,0 (36,0; 47,5)	39,0 (34,0; 50,5)	39,0 (35,0; 48,0)	37,0 (31,0; 46,0)
	3–12 мес. P ₁₋₂₋₃	42,0 (38,0; 48,0) (p _{1,3}) = 0,020	43,5 (38,0; 48,5)	46,0 (41,0; 49,5) (p _{1,3}) = 0,058 (p _{2,3}) = 0,045	41,0 (35,0; 51,5) (p _{1,2}) = 0,058 (p _{2,3}) = 0,045	42,0 (35,0; 49,0)	42,0 (33,0; 49,25)
ЦП НСТ стимулированного, у.е. CP NBT stimulated, c.u.	1–0	0,54 (0,46; 0,63)	0,55 (0,45; 0,63)	0,55 (0,42; 0,67)	0,46 (0,42; 0,56)	0,52 (0,43; 0,61)	0,45 (0,41; 0,6)
	2–3 мес.	0,51 (0,48; 0,64)	0,55 (0,44; 0,68)	0,5 (0,46; 0,58)	0,5 (0,46; 0,66)	0,5 (0,42; 0,57)	0,59 (0,37; 0,7)
	3–12 мес. P ₁₋₂₋₃	0,53 (0,45; 0,62) (p _{1,3}) = 0,009	0,57 (0,49; 0,62)	0,55 (0,51; 0,64) (p _{2,3}) = 0,009	0,51 (0,43; 0,62) (p _{1,2}) = 0,010	0,53 (0,46; 0,61)	0,5 (0,38; 0,6)

Окончание таблицы 2. Фагоцитарная активность лейкоцитов периферической крови и НСТ-тест у больных РА, Me (Q_{0,25}–Q_{0,75})
 Table 2. Phagocytic activity of peripheral blood leukocytes and NBT test in patients with RA, Me (Q_{0,25}–Q_{0,75}) (continued)

Показатели Indicators	Сроки исследования Duration of study	Вакцинированные ПКВ13/группы Vaccinated PCV13/groups			Невакцинированные/группы Unvaccinated/groups		
		I – ТОФА начинающие I – TOFA Baseline/naive (n = 29)	II – ТОФА продолжающие II – TOFA Continuous (n = 24)	III – МТ III – MTX (n = 18)	IV – ТОФА начинающие IV – TOFA Baseline/naive (n = 26)	V – ТОФА продолжающие V – TOFA Continuous (n = 29)	VI – МТ VI – MTX (n = 25)
Индекс активации нейтрофилов, у.е. (норма > 3 у.е.) Neutrophil activation index, c.u. (Reference > 3 s.u.)	1–0	2,3 (1,95; 2,95)	2,25 (2,03; 2,48)	2,45 (2,08; 2,75)	2,4 (2,08; 2,73)	2,2 (2,05; 2,65)	2,4 (2,15; 2,65)
	2–3 мес.	2,6 (2,45; 3,10)	2,43 (2,20; 2,95)	2,4 (2,00; 2,55)	2,4 (2,10; 2,95)	2,5 (2,20; 2,70)	2,6 (2,23; 2,88)
	3–12 мес. P ₁₋₂₋₃	2,8 (2,2; 3,25) (p _{1,3}) = 0,022	2,6 (2,4; 3,05) (p _{1,2}) = 0,029 (p _{1,3}) < 0,001	2,5 (2,4; 2,9)	2,7 (2,2; 3,0)	2,4 (2,2; 2,9)	2,35 (2,05; 2,68) (p _{2,3}) = 0,036

Примечание. ФИ МЦ — фагоцитарный индекс моноцитов; ФИ ГЦ — фагоцитарный индекс гранулоцитов; % ФПК — % формазанпозитивных клеток; ЦП НСТ — цитологический показатель; P — исходно различия: (P_{VI,V})^{*} = 0,044, (P_{III,VI})^{**} = 0,026, P_{1,2,3} — между сроками исследования, уровень значимости достоверности p < 0,05.
 Note. P — baseline differences: (P_{VI,V})^{*} = 0,044, (P_{III,VI})^{**} = 0,026, P_{1,2,3} — between study periods, significance level p < 0,05.

Обсуждение

При РА активированные фагоциты могут инициировать и пролонгировать повреждения синовиальной оболочки суставов, что в конечном итоге приводит к их деструкции. Появление аутоантител сопровождается более тяжелым течением РА [29, 30].

По данным Arleevskaya M.I. и соавт. (2011), гранулоциты у больных с ранней клинической стадией рРА (продолжительность заболевания менее 6 месяцев) и поздней пРА (> 3 лет) показали нормальный уровень спонтанной и стимулированной продукции активных форм кислорода. Фагоцитарная активность лейкоцитов в отношении *S. aureus* была заметно снижена у пациентов с пРА [9].

По данным Лушпаевой Ю.А., Романовой С.Ю. (2009) в период манифестации РА наблюдали снижение фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови, ассоциированное с гипероксидацией липидов клеточных мембран и активностью воспалительного процесса. Показано угнетение фагоцитарной активности и снижение показателей спонтанного и стимулированного НСТ-теста у пациентов с ранним РА. Нормальные показатели НСТ-теста, как спонтанного, так и стимулированного регистрировали в среднем у 40% больных рРА, ниже нормы у 49% и выше — у 11%. Показатели фагоцитарной активности в пределах нормы наблюдали лишь у 4%, фагоцитарное число — у 97%, индекс завершенности фагоцитоза — более чем у половины обследованных. Выявлена прямая корреляционная взаимосвязь между показателями фагоцитарной активности нейтрофилов и маркерами воспалительного процесса — суставным индексом Ричи и содержанием СРБ [4]. Сдругой стороны, de Siqueira M.V. и соавт. (2015) показали, что фагоцитоз и продукция супероксид-анионов не коррелировали ни с одним клиническим параметром при РА [18]. Однако у серопозитивных пациентов с РА с аутоантителами нейтрофилы и моноциты обладали более высокой фагоцитарной активностью и способностью к выработке цитотоксических радикалов кислорода по сравнению с серонегативными пациентами и здоровым контролем [18].

Лушпаева Ю.А., Романова С.Ю. (2009) провели исследование фагоцитарной активности лейкоцитов на фоне лечения метотрексатом, ифликсимабом и ритуксимабом. Через 12 месяцев терапии метотрексатом зарегистрировано снижение показателей фагоцитарной активности, фагоцитарного числа и индекса завершенности фагоцитоза нейтрофилов периферической крови. Проведенный сравнительный анализ эффективности терапии метотрексатом у пациентов с рРА через 12 месяцев терапии про-

демонстрировал значительный клинический противовоспалительный эффект. В динамике терапии метотрексатом отмечали инфекционные осложнения (ОРВИ, ангина, гайморит, острый бронхит, пневмония) [4]. У пациентов РА, получающих ифликсимаб, отмечено снижение фагоцитарной активности и индекса завершенности фагоцитоза, тогда как при терапии ритуксимабом выявлено повышение показателей стимулированного НСТ-теста через 12 месяцев [4]. В течение 12 месяцев у пациентов, получавших ифликсимаб, отмечали частые инфекционные осложнения, ассоциированные с интенсификацией перекисного окисления липидов в мембранах нейтрофилов и снижением фагоцитарной активности клеток. Применение ритуксимаба наряду с выраженным противовоспалительным действием не вызывало развития нежелательных побочных эффектов у больных РА [4].

По данным Jančínová V и соавт. (2017) у пациентов РА наблюдали более выраженное спонтанное внутриклеточное образование активных форм кислорода по сравнению со здоровым контролем. У пациентов с РА, получающих генно-инженерные препараты (адалимумаб, голimumаб, этернацепт, тоцилозумаб), фагоциты продуцировали значительно больше оксидантов во внеклеточное пространство по сравнению с контрольной группой и группой пациентов, получающих метотрексат и сульфасалазин в комбинации глюкокортикостероидными препаратами [24].

Тофацитиниб продемонстрировал значительную эффективность при лечении РА путем блокирования сигнальных путей активации синтеза провоспалительных цитокинов [13, 14, 28].

Исследования влияния вакцинации пациентов с РА конъюгированной пневмококковой вакциной в зависимости от принимаемых иммуносупрессивных фармакопрепаратов ранее не проводили.

У пациентов с РА до начала проведения вакцинации ПКВ13 не выявлено существенных изменений фагоцитарной активности лейкоцитов и резервных возможностей кислородзависимой бактерицидности. Это согласуется с данными Кабиловой А.В. и соавт. (2018), которые отмечали незначительное увеличение фагоцитарного индекса и фагоцитарной активности у пациентов с РА [2].

Фагоцитарная активность лейкоцитов больных РА, включенных в данное исследование, после проведения вакцинации ПКВ13, характеризовалась усилением поглотительной способности моноцитов, участвующих не только в фагоцитарных реакциях, но и выполняющих антигенпрезентирующую функцию. Активация моноцитов способствует запуску каскада иммунологических реакций, ведущих к синтезу специфических (поствакцинальных) антител. Через 3 месяца и через 1 год после вакцинации ПКВ13 наблюдали усиление синтеза факторов кислородзависимой бактерицидности лейкоцитов, способствующей усилению иммунной защиты пациентов при встрече с потенциальными патогенами.

Заключение

У вакцинированных ПКВ13 больных РА, продолжающих прием ТОФА, определена тенденция к незначительному снижению фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов через 12 месяцев. У невакцинированных пациентов, продолжающих терапию ТОФА, наблюдали усиление поглотительной активности моноцитов, как через 3 месяца, так и через 12 месяцев. У вакцинированных ПКВ13 пациентов РА, продолжающих лечение ТОФА, отмечали аналогичные изменения. На фоне терапии метотрексатом у пациентов с РА, вакцинированных ПКВ13 и невакцинированных, существенных изменений фагоцитарной активности лейкоцитов не выявлено.

Список литературы/References

1. Батожаргалова Б.Ц., Костинов М.П., Шмитко А.Д., Лукина Г.В., Муртазалиева Д.А., Кольцова Е.Н., Жилыев Е.В. Иммуногенность и безопасность 13-валентной конъюгированной пневмококковой вакцины у больных ревматоидным артритом // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2024. Т. 23, № 1. С. 77–88. [Batozhargalova B.T., Kostinov M.P., Shmitko A.D., Lukina G.V., Murtazaliev D.A., Koltsova E.N., Zhilyaev E.V. Immunogenicity and safety of 13-valent conjugated pneumococcal vaccine in patients with rheumatoid arthritis. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccine Prophylaxis*, 2024, vol. 23, no. 1, pp. 77–88. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2024-23-1-77-88
2. Кабилова А.В., Каримова Г.Ф., Назарова Л.Ш., Мингазетдинова Л.Н., Бакирова А.Б. Оценка факторов риска в течении ревматоидного артрита и анкилозирующего спондилита // Практическая медицина. 2018. № 1 (112). С. 163–167. [Kabilova A.V., Karimova G.F., Nazarova L.Sh., Mingazetdinova L.N., Bakirov A.B. Estimation of immune inflammatory factors in patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine*, 2018, no. 1 (112), pp. 163–167. (In Russ.)]
3. Костинов М.П., Тарасова А.А. Вакцинация детей с ревматическими заболеваниями // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016. Т. 15, № 1. С. 98–100. [Kostinov M.P., Tarasova A.A. Vaccination of children with rheumatic diseases. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccine Prophylaxis*, 2016, vol. 15, no. 3, pp. 101–105. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2016-15-3-101-105

4. Лушпаева Ю.А., Романова С.Ю. Показатели нейтрофильного фагоцитоза периферической крови у больных ранним ревматоидным артритом // Медицинская наука и образование Урала. 2009. № 2 (57). С. 25–27. [Lushpaeva Yu.A., Romanova S.Yu. Indicators of neutrophil phagocytosis of peripheral blood in patients with early rheumatoid arthritis. *Meditsinskaya nauka i obrazovanie Urala = Medical Science and Education of the Urals*, 2009, no. 2 (57), pp. 25–27. (In Russ.)]
5. Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Ковалёва С.В., Тараканов В.А., Ломтатидзе Л.В., Колесникова Н.В., Русинова Т.В., Евглевский А.А., Малиновская В.В. Нейтрофильные гранулоциты: отражение в зеркале современных представлений. М.: Кэприкорн Паблишинг, 2018. 338 с. [Nesterova I.V., Chudilova G.A., Kovaleva S.V., Tarakanov V.A., Lomtadidze L.V., Kolesnikova N.V., Rusinova T.V., Yevglevsky A.A., Malinovskaya V.V. Neutrophilic granulocytes: reflection in the mirror of modern ideas. *Moscow: Capricorn Publishing House*, 2018. 338 p. (In Russ.)]
6. Олиферук Н.С., Аршинова С.С., Мартынов А.И., Пинегин Б.В. Нормативные параметры фагоцитарной системы человека, определенные с помощью проточной цитофлуориметрии. Пособие для врачей клинической лабораторной диагностики. М., 2009. 44 с. [Oliferuk N.S., Arshinova S.S., Martynov A.I., Pinegin B.V. Standard parameters of the human phagocytic system determined using flow cytometry. A manual for doctors of clinical laboratory diagnostics. *Moscow*, 2009, 44 p. (In Russ.)]
7. Ревматоидный артрит: клинические рекомендации (утв. Министерством здравоохранения РФ (2021)). [Rheumatoid arthritis: Clinical recommendations (approved by the Ministry of Health of the Russian Federation (2021)) (In Russ.)]
8. Arleevskaya M.I., Gabdoulkhakova A.G., Filina Y.V., Miftakhova R.R., Bredberg A., Tsybulkin A.P. A transient peak of infections during onset of rheumatoid arthritis: a 10-year prospective cohort study. *BMJ Open*, 2014, vol. 4, no. 8: e005254. doi: 10.1136/bmjopen-2014-005254
9. Arleevskaya M.I., Gabdoulkhakova A.G., Filina J.V., Zabotin A.I., Tsybulkin A.P. Mononuclear phagocytes in rheumatoid arthritis patients and their relatives — family similarity. *Open Rheumatol J.*, 2011, vol. 5, pp. 36–44. doi: 10.2174/1874312901105010036
10. Baisya R., Katkam S.K., Ks S., Devarasetti P.K., Kutala V.K., Rajasekhar L. Evaluation of NADPH Oxidase (NOX) Activity by nitro Blue Tetrazolium (NBT) Test in SLE Patients. *Mediterr. J. Rheumatol.*, 2023, vol. 34, no. 2, pp. 163–171. doi: 10.31138/mjr.34.2.163
11. Bass A.R., Chakravarty E., Akl E.A., Bingham C.O., Calabrese L., Cappelli L.C., Johnson S.R., Imundo L.F., Winthrop K.L., Arasaratnam R.J., Baden L.R., Berard R., Bridges S.L.Jr., Cheah J.T.L., Curtis J.R., Ferguson P.J., Hakkarinen I., Onel K.B., Schultz G., Sivaraman V., Smith B.J., Sparks J.A., Vogel T.P., Williams E.A., Calabrese C., Cunha J.S., Fontanarosa J., Gillispie-Taylor M.C., Gkrouzman E., Iyer P., Lakin K.S., Legge A., Lo M.S., Lockwood M.M., Sadun R.E., Singh N., Sullivan N., Tam H., Turgunbaev M., Turner A.S., Reston J., 2022rican College of Rheumatology guideline for vaccinations in patients with rheumatic and musculoskeletal diseases. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2023, vol. 75, no. 3, pp. 449–464. doi: 10.1002/acr.25045
12. Boutet M.A., Courties G., Nerviani A., Le Goff B., Apparailly F., Pitzalis C., Blanchard F. Novel insights into macrophage diversity in rheumatoid arthritis synovium. *Autoimmun. Rev.*, 2021, vol. 20, no. 3: 102758. doi: 10.1016/j.autrev.2021.102758
13. Cai W., Tong R., Sun Y., Yao Y., Zhang J. Comparative efficacy of five approved Janus kinase inhibitors as monotherapy and combination therapy in patients with moderate-to-severe active rheumatoid arthritis: a systematic review and network meta-analysis of randomized controlled trials. *Front. Pharmacol.*, 2024, vol. 15: 1387585. doi: 10.3389/fphar.2024.1387585
14. Chen Y., Gong F.Y., Li Z.J., Gong Z., Zhou Z., Ma S.Y., Gao X.M. A study on the risk of fungal infection with tofacitinib (CP-690550), a novel oral agent for rheumatoid arthritis. *Sci. Rep.*, 2017, vol. 7, no. 1: 6779. doi: 10.1038/s41598-017-07261-1
15. Chen Z., Leceta J., Abdul-Sater A.A., Delgado M. Editorial: The innate immune system in rheumatoid arthritis. *Front. Immunol.*, 2022, vol. 13: 1089522. doi: 10.3389/fimmu.2022.1089522
16. Cuda C.M., Pope R.M., Perlman H. The inflammatory role of phagocyte apoptotic pathways in rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2016, vol. 12, no. 9, pp. 543–558. doi: 10.1038/nrrheum.2016.132
17. De Siqueira M.B., da Mota L.M., Couto S.C., Muniz-Junqueira M.I. Enhanced neutrophil phagocytic capacity in rheumatoid arthritis related to the autoantibodies rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptides. *BMC Musculoskelet. Disord.*, 2015, vol. 16: 159. doi: 10.1186/s12891-015-0616-0
18. Degboé Y., Rauwel B., Baron M., Boyer J.F., Ruysen-Witrand A., Constantin A., Davignon J.L. Polarization of rheumatoid macrophages by TNF targeting through an IL-10/STAT3 mechanism. *Front. Immunol.*, 2019, vol. 10: 3. doi: 10.3389/fimmu.2019.00003
19. Di Matteo A., Bathon J.M., Emery P. Rheumatoid arthritis. *Lancet*, 2023, vol. 402, pp. 2019–2033. doi: 10.1016/S0140-6736(23)01525-8
20. Duke J.A., Avci F.Y. Emerging vaccine strategies against the incessant pneumococcal disease. *NPJ Vaccines*, 2023, vol. 8, no. 1: 122. doi: 10.1038/s41541-023-00715-w
21. Fraenkel L., Bathon J.M., England B.R., St Clair E.W., Arayssi T., Carandang K., Deane K.D., Genovese M., Huston K.K., Kerr G., Kremer J., Nakamura M.C., Russell L.A., Singh J.A., Smith B.J., Sparks J.A., Venkatachalam S., Weinblatt M.E., Al-Gibbawi M., Baker J.F., Barbour K.E., Barton J.L., Cappelli L., Chamseddine F., George M., Johnson S.R., Kahale L., Karam B.S., Khamis A.M., Navarro-Millán I., Mirza R., Schwab P., Singh N., Turgunbaev M., Turner A.S., Yaacoub S., Akl E.A., 2021rican College of Rheumatology Guideline for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol.*, 2021, vol. 73, no. 7, pp. 1108–1123. doi: 10.1002/art.41752
22. Furer V., Rondaan C., Heijstek M.W., Agmon-Levin N., van Assen S., Bijl M., Breedveld F.C., D'Amelio R., Dougados M., Kapetanovic M.C., van Laar J.M., de Thurah A., Landewé R.B., Molto A., Müller-Ladner U., Schreiber K., Smolar L., Walker J., Warnatz K., Wulffraat N.M., Elkayam O. 2019 update of EULAR recommendations for vaccination in adult patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases. *Ann. Rheum. Dis.*, 2020, vol. 79, no. 1, pp. 39–52. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-215882
23. Fresneda Alarcon M., McLaren Z., Wright H.L. Neutrophils in the pathogenesis of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: same foe different M.O. *Front. Immunol.*, 2021, vol. 12: 649693. doi: 10.3389/fimmu.2021.649693
24. JančInová V., Nosál R., Payer J., Killinger Z. Increased intracellular and extracellular oxidant production in phagocytes of rheumatic patients treated with biological therapy — whole blood quantification. *Interdiscip. Toxicol.*, 2017, vol. 10, no. 2, pp. 52–55. doi: 10.1515/intox-2017-0008
25. Jang S., Kwon E.J., Lee J.J. Rheumatoid arthritis: pathogenic roles of diverse immune cells. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, vol. 23, no. 2: 905. doi: 10.3390/ijms23020905

26. Kawano M., Nagata S. Efferocytosis and autoimmune disease. *Int. Immunology*, 2018, vol. 30, no. 12, pp. 551–558. doi: 10.1093/intimm/dxy055
27. Mariani F.M., Martelli I., Pistone F., Chericoni E., Puxeddu I., Alunno A. Pathogenesis of rheumatoid arthritis: one year in review 2023. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 2023, vol. 41, no. 9, pp. 1725–1734. doi: 10.55563/clinexprheumatol/sgjk6e
28. Marzaioli V., Canavan M., Floudas A., Wade S.C., Low C., Veale D.J., Fearon U. Monocyte-derived dendritic cell differentiation in inflammatory arthritis is regulated by the JAK/STAT axis via NADPH oxidase regulation. *Front. Immunol.*, 2020, vol. 11: 1406. doi: 10.3389/fimmu.2020.01406
29. McInnes I.B., Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N. Engl. J. Med.*, 2011, vol. 365, no. 23, pp. 2205–2219. doi: 10.1056/NEJMra1004965
30. Scott D.L., Wolfe F., Huizinga T.W. Rheumatoid arthritis. *Lancet*, 2010, vol. 376, pp. 1094–1108. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60826-4
31. Smolen J.S., Landewé R.B.M., Bergstra S.A., Kerschbaumer A., Sepriano A., Aletaha D., Caporali R., Edwards C.J., Hyrich K.L., Pope J.E., de Souza S., Stamm T.A., Takeuchi T., Verschueren P., Winthrop K.L., Balsa A., Bathon J.M., Buch M.H., Burmester G.R., Buttgereit F., Cardiel M.H., Chatzidionysiou K., Codreanu C., Cutolo M., den Broeder A.A., El Aoufy K., Finckh A., Fonseca J.E., Gottenberg J.E., Haavardsholm E.A., Iagnocco A., Lauper K., Li Z., McInnes I.B., Mysler E.F., Nash P., Poor G., Ristic G.G., Rivellese F., Rubbert-Roth A., Schulze-Koops H., Stoilov N., Strangfeld A., Van der Helm-van Mil A., van Duuren E., Vliet Vlieland T.P.M., Westhovens R., van der Heijde D. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2022 update. *Ann. Rheum. Dis.*, 2023, vol. 82, no. 1, pp. 3–18. doi: 10.1136/ard-2022-223356
32. Yang S., Zhao M., Jia S. Macrophage: Key player in the pathogenesis of autoimmune diseases. *Front. Immunol.*, 2023, vol. 14: 1080310. doi: 10.3389/fimmu.2023.1080310

Авторы:

Костинов М.П., заслуженный деятель науки Российской Федерации, член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор, зав. лабораторией вакцинопрофилактики и иммунотерапии аллергических заболеваний ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; зав. кафедрой эпидемиологии и современных технологий вакцинации ИПО ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

Батожаргалова Б.Ц., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории вакцинопрофилактики и иммунотерапии аллергических заболеваний ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;

Бишева И.В., научный сотрудник лаборатории механизмов регуляции иммунитета ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;

Курбатова Е.А., д.м.н., профессор, зав. лабораторией терапевтических вакцин ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;

Шмитко А.Д., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории вакцинопрофилактики и иммунотерапии аллергических заболеваний ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;

Лукина Г.В., д.м.н., профессор, зав. отделом ревматологии ГБУЗ Московский клинический научный центр им. А.С. Логина ДЗМ, Москва, Россия; ведущий научный сотрудник лаборатории эволюции ревматоидного артрита ФГБНУ Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой, Москва, Россия;

Муртазалиева Д.А., врач-ревматолог ГБУЗ Московский клинический научный центр им. А.С. Логина ДЗМ, Москва, Россия;

Сходова С.А., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов регуляции иммунитета ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;

Благовидов Д.А., к.м.н., младший научный сотрудник лаборатории вакцинопрофилактики и иммунотерапии аллергических заболеваний ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия.

Authors:

Kostinov M.P., Honored Scientist of the Russian Federation, RAS Corresponding Member, DSc (Medicine), Professor, Head of the Laboratory for Vaccine Prevention and Immunotherapy of Allergic Diseases, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation; Head of the Department of Epidemiology and Modern Vaccination Technologies, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation;

Batozhargalova B.Ts., DSc (Medicine), Leading Researcher, Laboratory for Vaccine Prevention and Immunotherapy of Allergic Diseases, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;

Bisheva I.V., Researcher, Laboratory of Immunity Regulation Mechanisms, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;

Kurbatova E.A., DSc (Medicine), Professor, Head of the Laboratory Therapeutic Vaccines, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;

Shmitko A.D., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory for Vaccine Prevention and Immunotherapy of Allergic Diseases, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;

Lukina G.V., DSc (Medicine), Professor, Head of the Department of Rheumatology, A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow, Russian Federation; Leading Researcher, Laboratory of Rheumatoid Arthritis Evolution, V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russian Federation;

Murtazalieva D.A., Rheumatologist, A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow, Russian Federation;

Skhodova S.A., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Immunity Regulation Mechanisms, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;

Blagovidov D.A., PhD (Medicine), Junior Researcher, Laboratory for Vaccine Prevention and Immunotherapy of Allergic Diseases, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation.

CYTOKINES AND HIV ASSOCIATED NEUROLOGICAL MANIFESTATIONS: A SYSTEMATIC REVIEW

S. SeyedAlinaghi^a, A.M. Afsahi^b, P. Mirzapour^a, S. Alikarami^c, A. Afzalian^c, P. Matini^d,
S. Mahrokhi^a, Z. Ali^e, A. Pashaei^{a,f}, S. Eslami^c, F. Vahedi^c, P. Paranjkhoo^g, M.A. Habibi^h,
A. Mollaⁱ, A. Dadjouⁱ, S.N. Parikhani^c, E. Mehraeen^j, D. Hackett^k

^a Iranian Institute for Reduction of High Risk Behaviors, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

^b University of California, San Diego (UCSD), California, USA

^c Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

^d Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

^e University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada

^f University of British Columbia, Vancouver, Canada

^g American University of Armenia, Yerevan, Armenia

^h Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran

ⁱ Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

^j Khalkhal University of Medical Sciences, Khalkhal, Iran

^k The University of Sydney, Sydney, New South Wales, Australia

Abstract. *Background.* Cytokines are key players in the immune system's reaction to HIV and play a crucial role in HIV pathogenesis. Dysregulation of cytokines can contribute to the disease's pathogenesis and associated complications, making a comprehensive understanding of their roles crucial for developing efficacious therapeutic interventions against HIV/AIDS. Therefore, the aim of this systematic review is to examine the role of cytokines in HIV associated neurological manifestations and related complications. *Materials and methods.* Databases such as PubMed, Scopus, Web of Science, and Embase were explored for original English literature until September 10, 2022. Eligible articles for data extraction were screened and selected in two steps using some inclusion/ exclusion criteria. This study conforms to the PRISMA checklist and Newcastle-Ottawa Scale (NOS). *Results.* This review included a total of 15 studies. It was identified that cytokines were associated with sleep problems and numerous neurological manifestations. The most common neurological conditions include dementia, seizure, meningitis, cerebral toxoplasmosis, microcephalus, encephalitis, and gliosis. Commonly used cytokines detection methods included PCR, ELISA, Luminex xMAP multiplex platform, and PUREGene DNA Isolation System. Cytokine samples were mostly taken from blood and tissue. *Conclusion.* There is an interconnecting pathway of cytokines, neurological function (mainly dementia), and sleep habits in people living with HIV. Despite this, the mechanism of cytokines influencing sleep problems and neuropathological disorders remains unclear. Further research is warranted to determine the potential mechanisms and impact of cytokines associations in HIV progression.

Key words: HIV, AIDS, cytokines, infection, HIV infection, neuropathological disorder.

Адрес для переписки:

Эсмаэйл 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:

Esmaeil 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., Мирзапур П., Аликарами С., Афзалиан А., Матини П., Махрохи С., Али З., Пашаи А., Эслами С., Вахеди Ф., Паранджху П., Хабиби М.А., Молла А., Даджу А., Парихани С.Н., Мехраин Э., Хакетт Д. Цитокины и ВИЧ-ассоциированные неврологические проявления: систематический обзор // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 112–124. doi: 10.15789/2220-7619-CAH-17533

Citation:

SeyedAlinaghi S., Afsahi A.M., Mirzapour P., Alikarami S., Afzalian A., Matini P., Mahrokhi S., Ali Z., Pashaei A., Eslami S., Vahedi F., Paranjkhoo P., Habibi M.A., Molla A., Dadjou A., Parikhani S.N., Mehraeen E., Hackett D. Cytokines and HIV associated neurological manifestations: a systematic review // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 112–124. doi: 10.15789/2220-7619-CAH-17533

ЦИТОКИНЫ И ВИЧ-АССОЦИИРОВАННЫЕ НЕВРОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ: СИСТЕМАТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

СейедАлиаги С.¹, Афсахи А.М.², Мирзапур П.¹, Аликарами С.³, Афзалиян А.³, Матини П.⁴, Махрохи С.¹, Али З.⁵, Пашаи А.^{1,6}, Эслами С.³, Вахеда Ф.³, Паранджху П.⁷, Хабиби М.А.⁸, Молла А.⁹, Даджу А.⁹, Парихани С.Н.³, Мехраин Э.¹⁰, Хакетт Д.¹¹

¹ Иранский институт по снижению рискованного поведения, Тегеранский университет медицинских наук, Тегеран, Иран

² Калифорнийский университет, Сан-Диего (UCSD), Калифорния, США

³ Тегеранский университет медицинских наук, Тегеран, Иран

⁴ Иранский университет медицинских наук, Тегеран, Иран

⁵ Университет Саскачевана, Саскатун, Канада

⁶ Университет Британской Колумбии, Ванкувер, Канада

⁷ Американский университет Армении, Ереван, Армения

⁸ Университет медицинских наук Кум, Кум, Иран

⁹ Университет медицинских наук Бушер, Бушер, Иран

¹⁰ Университет медицинских наук Халхал, Халхал, Иран

¹¹ Сиднейский университет, Сидней, Новый Южный Уэльс, Австралия

Резюме. Цитокины играют ключевую роль в реакции иммунной системы на ВИЧ и в патогенезе ВИЧ-инфекции. Нарушение регуляции цитокинов сопровождается развитием заболевания и связанных с ним осложнений, что делает решающим понимание их роли в патогенезе ВИЧ для разработки эффективных терапевтических вмешательств против ВИЧ/СПИДа. В этой связи целью настоящего систематического обзора является изучение роли цитокинов в развитии неврологических проявлений, связанных с ВИЧ-инфекцией, и ее осложнений. *Материалы и методы.* Для изучения оригинальной англоязычной литературы, опубликованной до 10 сентября 2022 г., были использованы базы данных PubMed, Scopus, Web of Science и Embase. Подходящие статьи для оценки данных были проверены и отобраны в два этапа с использованием некоторых критериев включения/исключения, в соответствии с контрольным списком PRISMA и шкалой Ньюкасл–Оттава (NOS). *Результаты.* В обзор были включены 15 исследований. Было выявлено, что цитокины ассоциированы с нарушением сна и многочисленными неврологическими проявлениями. Наиболее распространенными неврологическими состояниями являются деменция, судороги, менингит, церебральный токсоплазмоз, микроцефалия, энцефалит и глиоз. Обычно используемые методы обнаружения цитокинов включают ПЦР, ИФА, мультиплексную платформу Luminex xMAP и систему выделения ДНК PUREGene. Содержание цитокинов главным образом оценивалось в образцах крови и тканей. *Заключение.* Существует взаимосвязанная ассоциация между цитокинами, неврологической функцией (в основном деменции) и режимом сна у людей, живущих с ВИЧ. Несмотря на это, механизм влияния цитокинов на сон и развитие нейрпатологических расстройств остается неясным. Необходимы дальнейшие исследования для определения потенциальных механизмов и влияния ассоциаций цитокинов на прогрессирование ВИЧ-инфекции.

Ключевые слова: ВИЧ, СПИД, цитокины, инфекция, ВИЧ-инфекция, нейрпатологическое расстройство.

Introduction

An estimated 38 million individuals worldwide are living with HIV, making it a major public health burden [24, 46]. The implementation of Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART) has drastically improved survival rates [26, 41], however, people living with HIV (PLHIV) face ongoing challenges including immune system dysfunction, heightened vulnerability to opportunistic infections and malignancies, and complications involving both physical and mental health [25, 39].

Understanding the complex interactions between HIV and the immune system is crucial for optimizing treatment strategies [42]. Cytokines, which are signaling molecules released by immune cells, play a central role in modulating immune responses and are key players in the pathogenesis of HIV infection [30]. These cytokines mediate various immune responses that are central to the host's defense against HIV, including the activation and regulation

of T cells. A disturbance in this regulation often leads to immune system dysfunction, driving HIV progression [18].

HIV infection gradually decreases the quantity and ability of CD4⁺ T cells, which are essential for effectively responding to viral infections [27]. The dysregulation of cytokine production, including a reduction in Th1 cytokines (e.g., IFN γ and IL-2) and a rise in Th2 cytokines (e.g., IL-4 and IL-10), significantly contributes to the disease progression. Cytokine signaling aberrations contribute to chronic inflammation, tissue injury, and HIV-associated comorbidities [19]. Proinflammatory cytokines such as IL-6 and TNF further exacerbate immune dysfunction, contributing to chronic inflammation, tissue damage, and comorbid conditions like cardiovascular and neurocognitive disorders [51]. Moreover, even in the presence of ongoing antiretroviral therapy (ART), cytokine signaling abnormalities may sustain viral replication in lymphoid tissues, thereby preserving HIV reservoirs .

Table 1. Risk of bias assessment for the included studies

Reference	Selection Out of 4	Comparability Out of 2	Outcome Out of 3	Total Out of 9
[34]	3	1	2	6
[11]	4	1	2	7
[2]	3	2	3	8
[44]	3	2	3	8
[33]	3	0	3	6
[47]	3	2	2	7
[5]	3	2	3	8
[21]	3	2	2	7
[14]	2	2	3	7
[16]	3	2	3	8
[48]	4	1	3	8
[32]	4	0	2	6
[45]	3	2	2	7
[13]	4	1	3	8
[3]	4	1	3	8

Given the crucial role of cytokines in modulating the immune response in PLHIV, recent research has focused on their potential to serve as therapeutic targets [41]. Cytokines such as IL-10 and TGF- β , which have anti-inflammatory properties, can mitigate HIV-related inflammation and viral replication [18]. However, excessive production of these cytokines can also inhibit the immune system's ability to fight off the virus, thus allowing it to persist in the body despite treatment [18].

In addition to their role in immune regulation, cytokines are also implicated in HIV-associated neurological complications, including mental health disorders and neurocognitive decline [40]. HIV infection has been shown to affect cognitive function and mental health, leading to complications such as dementia, sleep disturbances, and other neurological deficits [48]. These issues arise in part from the interaction between proinflammatory cytokines and the central nervous system (CNS), as well as their contribution to chronic inflammation, which exacerbates neurocognitive impairments [40]. Despite recent attention to the role of cytokines on HIV, there is still a lack of a comprehensive study that thoroughly focuses on the interplay of cytokine systems and HIV-related neurological comorbidities in English or Russian. This systematic review, therefore, addresses this gap by exploring the linkage between cytokine dysregulation and HIV-related neurological conditions.

This review aims to systematically assess the roles of various cytokines in the pathogenesis of HIV infection, including their impact on immune function and mental health. By reviewing the available literature, this study aims to identify potential therapeutic

targets for the management of HIV-related complications, with a focus on neurocognitive and mental health disorders.

Materials and methods

A thorough examination of the current literature regarding the roles of various cytokines in HIV infection was conducted. To ensure reliable and authentic results The Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) checklist was followed. Additionally, the Newcastle-Ottawa Scale (NOS) was used to assess risk of bias (Table 1).

Data sources. Four online databases were explored including PubMed, Scopus, Web of Science, and Embase up until September 10, 2022 using keywords and their combinations. The search strategy employed is as follows:

A. "Cytokines" OR "cytokine" OR "Cytokine" [Title/Abstract]

B. "HIV" OR "Human immunodeficiency virus" [Title/Abstract]

C. [A] AND [B]

Study selection. Study screening and selection was completed through a two-step process. The initial step consisted of screening of articles based on title and abstract, which was complete by four research members. In the second step, five investigators reviewed and evaluated the full texts of the articles. Inclusion criteria were original articles in English that investigated cytokines in PLHIV. Studies involving non-human data (e.g., animals and/or *in vitro* investigations), unpublished, lacking accessible full texts, case series and reports, conference papers, and editorial letters were excluded.

Data extraction. Data extraction was conducted for studies that fulfilled the inclusion criteria. Five researchers extracted the essential data from the full texts. Other researchers checked duplications and other irrelevant data in the selected articles. Data extraction consisted of neurological manifestations associated with cytokines, detection methods and samples origin of cytokines, name of cytokine and cell source of cytokines production, and serum level of cytokines.

Quality assessment. The Newcastle–Ottawa Scale (NOS) was used to evaluate the selected studies' risk of bias. This assessment tool consists of three aspects with the maximum possible scores of 4, 2, and 3 for selection, comparability, and exposure/outcome, respectively. The maximum obtainable score for each study is 9.

Results

Study characteristics. The online database search retrieved 4441 articles. Following the screening of the obtained studies, 798 duplicates were eliminated. Subsequently, the titles and abstracts of the remained 3643 articles were examined and 2853 records were

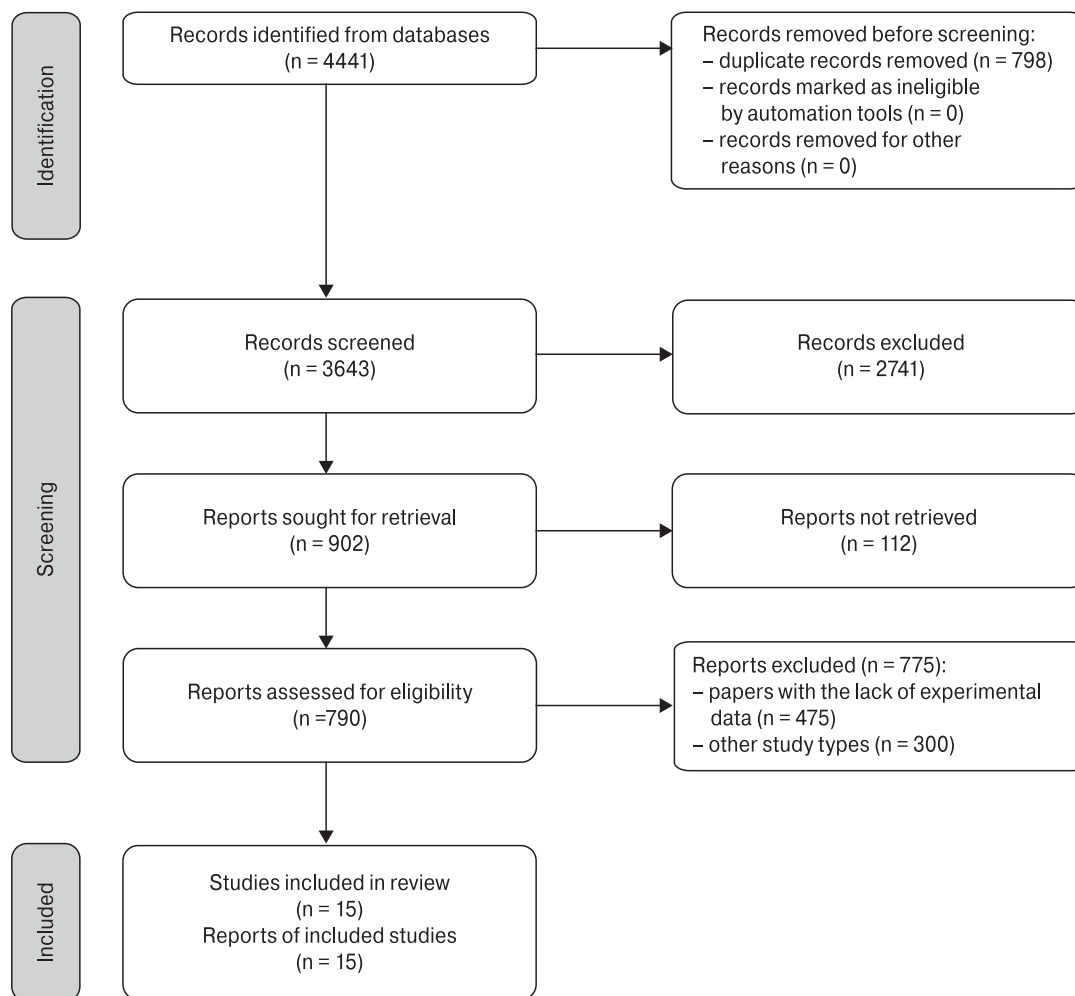


Figure 1. PRISMA flow diagram of study retrieval process

excluded. In the full-text evaluation of the 790 studies, 775 articles did not meet the inclusion criteria. Ultimately, 15 articles were included (Fig. 1).

Quality assessment. The details of the quality assessment of the selected studies are shown in Table 1. All the included studies had scores ranging from 6 to 9 in the NOS scale, demonstrating moderate to high quality of evidence.

The included studies were carried out in five countries, including the USA (n = 12), Germany (n = 1), Switzerland (n = 1), and Italy (n = 1). The year of publication for the included studies ranged from 1989 to 2018. The types of studies included were case-control (n = 5), cross-sectional (n = 5), cohort (n = 4), and interventional (n = 1).

This systematic review included studies regarding cytokine involvement in HIV-associated neurological complications. The findings demonstrate the major role of cytokines in neuroinflammation and HIV neuropathogenesis across varied populations and methodologies and serves cytokines as both diagnostic markers and therapeutic targets in addressing HIV-associated neurological complications.

Key neurological manifestations and cytokine associations. In the review of studies, it was found that cytokines are related to conditions such as sleep problems, dementia, seizures, meningitis, cerebral toxoplasmosis, microcephaly, encephalitis and gliosis, of which sleep problems are the most common. For example, Foster et al. demonstrated associations between higher levels of pro-inflammatory cytokines (e.g., $\text{IFN}\gamma$, IL-12, and $\text{TNF}\alpha$) and altered sleep patterns, such as increased sleep duration and efficiency, yet poorer neurocognitive test performance. Byun et al. and Lee et al. discussed SNPs in cytokine-related genes e.g., IL1B, IL2, IL17A, IL1R2, and $\text{TNF}\alpha$ linked to sleep disturbances.

Neuroinflammatory cytokines, such as $\text{TNF}\alpha$, iNOS, MIP-1 α , and MIP-1 β , were found to predominate in brain regions of individuals with HIV-associated dementia, as reported by Nuovo et al. Elevated IL-6 and IL-16 levels, noted in Gongvatana et al., correlated with brain structural abnormalities. Other findings emphasized that cytokines (e.g., IL-8 and MCP-1) remain elevated in monocyte cultures, even after cognitive improvement through cART.

Table 2. Summary of findings

Reference	Country	Type of study	Population	Mean age±SD	Neurological manifestation	Detection methods of cytokines	Sample of cytokines detection	Evaluated cytokines and their cell sources	Serum level of cytokines	Main findings
[34]	USA	Case-Control	7 HIV+ and 5 HIV- controls	N/A	4 of 7 cases had symptoms: 2 had long-standing dementia 1 had severe motor and developmental skills retardation 1 had a 2-year history of seizure	RT in situ PCR from CNS biopsy of deceased participants	Cerebrum, cerebellum, and brain stem	TNF- α , iNOS, MIP-1 α , MIP-1 β . Mostly microglial cells/macrophages or astrocytes, and occasionally neurons also expressed iNOS, MIP-1 α and MIP-1 β	N/A	Cytokine transcription was not found in the patients who did not have CNS-related presentations. TNF- α , iNOS, MIP-1 α , MIP-1 β predominantly found in regions with a high density of virus-infected cells and less predominant in the cerebellum and midbrain of individuals with AIDS-associated dementia where viral-infected cells were less frequent. The primary contributors to AIDS dementia were extensive viral infection affecting microglia, neurons, and astrocytes, along with cytokine secretion by proximate uninfected cells
[11]	USA	Cohort	38 HIV+ and 35 HIV- controls	HIV+ cases: 13 (\pm 2.5) HIV- controls: 13 (\pm 3.2)	HIV-infected cases had worse working memory, higher mental fatigue scores, more self-reported issues with socio-emotional, behavioral, and executive function, higher total sleep time at night, daytime sleep, and sleep efficacy	Flow cytometry for both plasma and intracellular cytokine levels	Blood; plasma and intracellular cytokines	IL-10, IL-12, TNF- α , and IFN- γ Lymphocytes	Lower TNF- α production and CD69 activation marker expression in stimulated CD4+ and CD8+ T cells. Higher levels of unstimulated IFN- γ and TNF- α in both CD4+ and CD8+ T cells	Elevated levels of pro-inflammatory cytokines (IFN- γ , IL-12, and TNF- α) were linked to variations in sleep duration, which in turn correlated with reduced performance on neurodevelopmental and neurocognitive assessments in HIV-infected patients
[2]	USA	Cohort	61 HIV+ cases including: 28 with HAND and 33 with NC	HAND: 34.0 years NC: 35.3 years	N/A	Multiplex assay (Luminex)	Blood	Fractalkine (CX3CL1), IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IP-10, MCP-1, and TNF- α . Cultured mononuclear cells	At baseline and even after one year of cART, cultured cells from HAND individuals exhibited significantly increased levels of IL-8 and MCP-1 compared to NC patients	During the one-year cART treatment, the cognitive status of 18 individuals transitioned from HAND to NC; however, the levels of IL-8 and MCP-1 produced by their monocytes remained elevated compared to those with NC. The levels of IL-8 and MCP-1 in CD14+ cultured cells did not show a correlation with the levels found in plasma or CSF. This research highlights a connection between monocyte-related neuropathogenesis in HIV patients

Reference	Country	Type of study	Population	Mean age±SD	Neurological manifestation	Detection methods of cytokines	Sample of cytokines detection	Evaluated cytokines and their cell sources	Serum level of cytokines	Main findings
[44]	USA	Case-Control	5 HIV+ with ANI, 9 HIV+ with MND/ HAD 5 HIV- with ALS 9 HIV- normal controls	Ranged between 31 to 57	N/A	Double-label immunochemistry	Occipital lobe brain cells	OPN Mainly expressed by resident macrophages/ microglia, also by astrocytes, and unexpectedly by neurons	N/A	Levels of OPN in microglial cells from individuals with HIV+ANI and MND/HAD were higher than those in HIV-negative controls and similar to the expression observed in ALS. Within neurons, the HIV+ANI group exhibited the highest levels of OPN expression indicating that although HIV-infected macrophages are the primary source of OPN, resident CNS cells also produce this inflammatory cytokine at notable levels. In addition, astrocytes from individuals with HIV+ MND/HAD showed significantly elevated OPN levels compared to those observed in ALS samples. The persistent elevation of OPN levels, which correlates with the severity of impairment and is higher than in uninfected individuals, suggests that OPN remains consistently present in the brain parenchyma of patients with HAND
[33]	Germany	Cohort	33 HIV+ males	43.6±10.8	Neuropsychological Performance	Solid-phase protein array	Blood and CSF	IFN γ , IL-1 α , IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-12, CCL16, CXCL2, TGF- β , TIMP-1, ALCAM/CD166, CCL28, CNTF, and MMP-2	N/A	Most cytokines demonstrated a positive correlation with the duration of HIV infection, regardless of the type of received ART or whether having AIDS or non-AIDS conditions. In the Digit-Symbol Test, HIV patients were able to decode fewer symbols in 90 seconds when primarily inflammatory cytokines were present. Regarding basal ganglia movement control, contraction time analysis, a quicker contraction was observed with the neuroprotective and anti-inflammatory cytokines CNTF and IL-4, while a slower contraction was associated with MMP-2 and ALCAM. Additionally, MMP-2 correlated with diminished performance in the Grooved-Pegboard test (psychomotor speed). Rey-Osterrieth figure test (constructive apraxia), IL-12 was linked to decreased performance, indicating constructive apraxia in the CSF
[47]	USA	Cross-sectional	579 North Americans with high risk of HIV-1 including: 319 HIV+, 258 HIV-	N/A	N/A	PCR-based SNP Genotyping	Blood	IL-2, IL-4, IL-4R, IL-6, IL-10, IL-12 β , MCP-1, CCL5, SDF-1 α , IFN γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-1R1, IL-1RA, and TGF- β 1 genes. Peripheral blood mononuclear cells	N/A	HIV-1-positive individuals showed significant differences compared to ethnically matched HIV-1-negative controls regarding several SNPs located at the IL-4, IL-4R, IL-6, IL-10, CCL5, and CXCL12 (SDF1) loci. The homozygous IL-4 -590T/T genotype was linked to greater CD4+ counts in adolescents infected with HIV-1 who were not undergoing ART and were free of AIDS. These findings suggest that genetic variations in IL-4 and IL-10 may be involved in the progression of HIV infection

Table 2. Summary of findings (continued)

Reference	Country	Type of study	Population	Mean age \pm SD	Neurological manifestation	Detection methods of cytokines	Sample of cytokines detection	Evaluated cytokines and their cell sources	Serum level of cytokines	Main findings
[5]	USA	Cross-sectional	257 HIV+ adults	44.8 \pm 8.6	Daytime napping	Luminex xMAP multiplex platform PUREGene DNA Isolation System	Blood	IFN γ , IFN γ R1, IL-1 β , IL-1R, IL-1R2, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, NF- κ B1, NF- κ B2, and TNF α	Higher IL-1 β and IL-2 were observed in participants with longer daytime napping	Prolonged daytime napping was linked to 12 single nucleotide polymorphisms (SNPs) across seven genes: 1) IFN γ rs2069728; 2) IL-1 β with rs1143642, rs1143627, and rs16944; 3) IL-2 rs2069763; 4) IL-6 with rs4719714, rs1554606, and rs2069845; 5) IL-17A with rs3819024 and rs8193036; 6) NF- κ B1 rs4648110; and 7) NF- κ B2 rs1056890
[21]	USA	Cross-sectional	289 adults with HIV/AIDS including 193 men, 73 women, and 23 transgenders	44.9 \pm 8.4	Poor sleep maintenance	Luminex xMAP multiplex platform PUREGene DNA Isolation System	Blood	IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-10, IL-13, and TNF α	TNF α plasma levels were lower in participants on ART, with CD4+ T-cell counts \geq 200 cells/mm 3 , and with undetectable viral loads. Similar reductions were observed for IL-1 β and the IL-6/IL-10 ratio among participants with undetectable viral loads.	The most significant associations between inflammatory markers and WASO were observed with CRP and TNF α . A higher WASO% was linked to the SNPs IL-1R2 rs11674595 and TNF α rs1041981, whereas a lower WASO% was associated with IL-2 rs2069776. Both IL-1R2 rs11674595 and TNF α rs1041981 were found to be associated with shorter sleep duration
[14]	USA	Cross-sectional	307 adults with HIV/AIDS including 212 men, 72 women, and 23 transgenders	44.9 \pm 8.3	Sleep onset insomnia	Luminex xMAP multiplex platform PUREGene DNA Isolation System	Blood	IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-10, IL-13, and TNF α	Plasma levels of IL-13 were significantly associated with SOI after adjustment. Other cytokine levels of IL-1 β , IL-2, IL-6, and TNF α did not differ substantially between sleep groups.	After adjustment, four SNPs were significantly associated with SOI: IL-1 β rs1143642, IL-6 rs4719714, NF- κ B1 rs4648110, TNF α rs2857602

Reference	Country	Type of study	Population	Mean age±SD	Neurological manifestation	Detection methods of cytokines	Sample of cytokines detection	Evaluated cytokines and their cell sources	Serum level of cytokines	Main findings
[16]	USA	Cohort	74 medically stable HIV+ adults	45±9.66	N/A	multiplex bead array immunoassay (Luminex)	Blood	IFN γ , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-16, IL-18, IP-10, MCP-1, MIP-1 β , SDF-1 α , TNF α , and TRAIL.		Higher levels of IFN γ , MCP-1, and TNF α were associated with increased volumes of the amygdala, putamen, WM, and GM, and pallidum. Elevated levels of IL-1 β , IL-6, IL-16, IL-18, IP-10, MIP-1 β , and SDF-1 α were correlated with reduced volumes in the hippocampus, pallidum, thalamus, putamen, WM, and GM, and amygdala as well as an increase in ventricular volume. IL-6 and IL-16 exhibited a strong linkage with brain volume metrics after controlling for other variables
[48]	USA	Interventional	Human astrocytes (primary and A172 cell line)	N/A	N/A	ELISA, Western Blot, RT-PCR	Brain	CXCL10 from A172 astrocytes Protein from both primary human astrocytes and A172 astrocytes	The combination of HIV-1 and the cytokine mix resulted in a notable increase in CXCL10 RNA in the treated cells	Astrocytes may be synergistically induced to produce CXCL10 at the RNA and protein levels by HIV-1, IFN γ , and TNF α , which can worsen the pathophysiology of HIV-associated dementia. Possible causes of this induction include signaling pathways such as JAK/STAT, MAPK, and PI3-K
[32]	USA	Case-Control	12 cART-treated donors and 35 healthy donors	47±8.68 (cART) 34.9±13.8 (healthy)	Neuroinflammation	AlphaLISA for cytokine production from Supernatant and lysates	Peripheral blood mononuclear cells	IL-1 β , IL-6, IL-18, CCL2, CXCL8, CXCL9, and CXCL10	N/A	In both healthy and under cART donors, dopamine treatment of human macrophages enhances the production of cytokines including IL-1 β , IL-6, IL-18, CCL2, CXCL8, CXCL9, and CXCL10. This suggests that Dopamine modulates cytokines, promoting inflammation in both chronic HIV infected individuals under viral suppression by cART and in healthy ones
[45]	USA	Case-control	7 HIV +, 11 HIV- controls	Controls ranged between 22–66	SAH, meningitis, dementia	IHC	Brain	IL-1 β , S100 β	N/A	Elevated levels of IL-1 α and S100 β plays a crucial role in neuropathogenesis of AIDS-related dementia by glial activation
[13]	Switzerland	Cross sectional	38 HIV-1 seropositive patients	N/A	5 had AIDS dementia complex, 9 CM, 6 CT, 1 AS, 1 progressive diffuse leukoencephalopathy, 1 microcephalus	Elisa, bioassay, and immunoassay	CSF and Serum	IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF α	N/A	IL-6 was frequently correlated with IL-1 β and sIL2R in CSF, and with the synthesis of intrathecal IgG. IL-1 β and IL-6 were often found respectively in the CSF of 58% and 42% of HIV-1 patients, including those who were asymptomatic. TNF α and IL-2 were not detectable in the CSF

Table 2. Summary of findings (continued)

Reference	Country	Type of study	Population	Mean age \pm SD	Neurological manifestation	Detection methods of cytokines	Sample of cytokines detection	Evaluated cytokines and their cell sources	Serum level of cytokines	Main findings
[3]	Italy	Case-control	59 participants including, 36 asymptomatic HIV-1 Positive, 8 AIDS patients with HIV-encephalitis, 10 AIDS patients without neuropathological changes, 5 normal controls	N/A	meningitis, microglia infiltrate, gliosis hypoxic changes	IHC and PCR	Brain	TNF α , IL-1 α , IL-4 and IL-6	N/A	Cytokines were predominantly identified within WM even at an early stage, indicating that their presence may already initiate a series of events resulting in brain injury

Note. Abbreviations: ALS: Amyotrophic Lateral Sclerosis, ANI: Asymptomatic Neurocognitive Impairment, ALCAM: Activated Leukocyte Cell Adhesion Molecule, APP: Amyloid Precursor Protein, ART: Antiretroviral Therapy, cART: Combination Antiretroviral Therapy, CM: Cryptococcal Meningitis, CNS: Central Nervous System, CNTF: Ciliary Neurotrophic Factor, CSF: Cerebrospinal Fluid, CT: Cerebral Toxoplasmosis, CXCL10: C-X-C Motif Chemokine Ligand 10, ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, GM: Gray Matter, HAND: HIV-Associated Neurocognitive Disorders, IFN γ : Interferon Gamma, IL: Interleukin, iNOS: Inducible Nitric Oxide Synthase, IP-10: Interferon Gamma-Induced Protein 10, MIP: Macrophage Inflammatory Protein, MMP: Matrix Metalloproteinase, NC: Neurocognitively Normal, NFKB: Nuclear Factor Kappa B, OPN: Osteopontin, PCR: Polymerase Chain Reaction, PLHIV: People Living with HIV, SNP: Single Nucleotide Polymorphism, SOI: Sleep Onset Insomnia, TNF α : Tumor Necrosis Factor Alpha, WASO: Wake After Sleep Onset, WM: White Matter.

Recurrence of IL-1 β , IL-6, and TNF α in blood, cerebrospinal fluid (CSF), and brain tissues linked these markers to disease severity. From other results obtained from the review of studies, basal ganglia movement control showed better performance in the presence of neuroprotective cytokines (CNTF and IL-4) and in the presence of inflammatory cytokines Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) while ALCAM got worse. Slow psychomotor speed was also observed in the presence of MMP-2. Nolan et al. explored dopamine's role in cytokine modulation, presenting pathways for chronic neuroinflammation management. Elevated CXCL10 signified HIV's effects on neuronal functionality through inflammation exacerbation demonstrated by Williams et al.

Detection methods and sample sources. The most commonly used detection methods were PCR, ELISA, Luminex xMAP multiplex platforms, and the PUREGene DNA Isolation System. Cytokines were primarily detected in blood, cerebrospinal fluid (CSF), and brain tissues. In addition, specific cytokines like CXCL10 were highly expressed in astrocytes in HIV dementia. Full details of the included studies are provided in Table 2.

Discussion

Since HIV-1 is a neurotropic virus, it can enter the CNS early in the infection process, resulting in neurologic disease as the only clinical manifestation of infection. The major findings of this study were that expression of cytokines including IFN γ , IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, TNF α , and MMP-2 was correlated with HIV-related neurological issues, particularly dementia and sleep duration problems. Viral activation, inflammation, and tissue damage were found to be modulated by cytokine production in HIV pathophysiology.

1. First of all, the most imperative factor, Interleukin (IL), plays a vital role in the sleep pattern of PLHIV. Like other articles, this review confirmed that higher levels of the pro-inflammatory cytokines (IFN γ , IL-12, and TNF α) were linked to changes in sleep duration with a trend of higher total sleep time at night, daytime sleep, daytime napping, and sleep efficacy. For instance, Foster and colleagues reported a substantial direct and indirect connection between the production of intracellular cytokine and sleep duration and efficiency in HIV infected children [11]. Sleep disturbance was mostly related with short sleep duration and sleep onset insomnia; in agreement with studies, such as Gutierrez et al., where 73% of patients reported suffering from poor sleep quality and more than half experienced insomnia diagnosis criteria [17].

2. This study also shows that cytokines were responsible for poorer performance of HIV-infected individuals on neurodevelopment and neurocognitive tests. HIV-infected cases had worse working memory-mental (fatigue test scores) and had more

self-reported problems with socio-emotional, behavioral, and executive function; which was mentioned in other studies like, Cohen's comparison between HIV-infected children versus healthy controls matched with socioeconomic status [7].

3. In addition, these cytokines played a crucial role in a number of brain infections, such as SAH and Meningitis, HIV encephalitis, cryptococcal meningitis (CM), cerebral toxoplasmosis (CT), aseptic meningitis (AM), progressive diffuse leukoencephalopathy, and microcephalus (Gallo et al., 1989). In a study by Wolf et al., the importance of IL-12 activity and its interaction with other cytokines, such as IL-4 and IL-10, has illuminated to use for AIDS vaccine adjuvants to make direct immune response [22]. Moreover, other findings also recommend that IL-10 participates in different immunomodulatory roles in CNS diseases [37].

4. Additionally, the presence of cytokines may induce the sequence of events resulting in brain injury. For example, glial activation with elevated expression of IL-1 α and β -APP may be important in the neuropathogenesis of HIV-related dementia. A study by Mustafa et al. describes pathogenetic hypotheses for dementia in HIV patients [28]. Another study in the US, also proclaimed that higher levels of some cytokines lead to indirect mechanisms of brain dysfunction, such as HIV dementia [15].

Various inflammatory cytokines can cause or worsen HIV-related dementia. Massive viral replication in infected cells and cytokine secretion are the main causes of this phenomenon [34]. Also, it is mentioned that HIV-1 in collaboration with the cytokines IFN γ and TNF α can synergistically promote CXCL10 in human astrocytes aggravating AIDS dementia [49]. On the other hand, dopamine treatment in healthy and cART-treated donors promotes the production of inflammatory cytokines such as CXCL10 [32] which may worsen the situation. TNF is also associated with a series of events leading to brain injury in meningitis [40], and higher volumes of the putamen, amygdala, pallidum, GM, and WM [16]. Glial activation with elevated expression of IL1- α and β -APP may contribute to AIDS dementia [45]. The presence of neuroprotective cytokines IL-4 and CNTF helped basal ganglia movement, whereas slow contraction speed was observed in the presence of inflammatory cytokines ALCAM and MMP-2 [33]. Higher levels of the pro-inflammatory cytokines (IFN γ , IL-12, and TNF α) were associated with changes in sleep duration which itself was linked to poorer performance on neurodevelopment and neurocognitive tests in HIV-infected individuals [11]. Twelve SNPs from IFNG, IL1B, IL2, IL6, IL17A, NFKB1, and NFKB2 genes are related to long daytime napping [5]. Also, a positive feedback loop of NFKB2 production with IL-1 β , IL-6, and TNF α may cause extended cytokine production by peripheral blood monocytes, human fetal astrocytes, and THP-1 and U373 cells [29]. SNPs in IL1R2, TNF,

and IL2 are related to poor sleep maintenance and shifted WASO. Different TNF SNPs have unprincipled influences on WASO [21]. OPN is released by infiltrating macrophages and resident astrocytes and rises with HAND intensity. A high level of IFNG is directly related to changes in sleep duration and poor performance in neurocognitive tests [11], lower marks in digit-symbol decoding tests [33], higher volumes of the putamen, pallidum, amygdala, gray matter, and white matter [3].

In addition to the contribution of cytokines to the neurological presentations of PLHIV, cytokine alteration patterns have also been observed in neurological complications associated with other RNA viruses. Several studies have suggested that cytokine storm is involved in the neurologic presentations of COVID-19, as higher levels of IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, and IFN γ induced protein-10 (IP-10) have been identified in the CSF or serums of patients with virus-related encephalopathy [4, 10]. In addition, Espíndola and colleagues revealed that IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, chemokine (C-X-C motif) ligand 8 (CXCL8), and CXCL10 were elevated in COVID-19 patients with myelitis, encephalitis, meningoencephalitis, and acute disseminated encephalomyelitis (ADEM) [9]. Increased IL-6 levels have also been linked to disturbances in memory, cognition, and spatial learning in individuals with chronic hepatitis C virus (HCV) [1]. Identifying the cytokine cascade involved in the pathophysiology of neurological manifestations of viral infections may provide new therapeutic targets not only for HIV but also for other viral infections and improve patients' outcomes.

The results of the present review should be taken into account, with some limitations that must be considered. There was a modest number of included studies with relatively few participants and a lack of reporting of neurological changes in some studies.

Conclusion

In summary, previous studies demonstrated that polymorphisms in IL1R2, IL2, and TNF α genes were associated with changes in WASO% and sleep duration and elevated plasma levels of IL-13 along with polymorphism in IL1B, IL6, IL13, NFKB1, and TNF α genes was detected in SOI. Thus, we suggest that there is an interconnecting pathway of cytokines, neurological function (mainly dementia), and sleep habits in PLHIV. Despite this, the mechanism of cytokines influencing sleep problems and neuropathological disorders remains unclear, and further research is needed into these potential mechanisms. Further research is also needed in this area to determine whether or how these associations can affect HIV progression. The prevention of pro-inflammatory cytokine production could be achieved through better adherence to antiretroviral therapy. Yet, anti-inflammatory medications may be thera-

apeutically effective for decreasing sleep onset latency or higher sleep duration among HIV-positive adults due to their association with cytokine polymorphisms and sleeping problems.

Conflict of interest

The authors approve that they have no conflict of interest.

References

- Adinolfi L.E., Nevola R., Lus G., Restivo L., Guerrera B., Romano C., Zampino R., Rinaldi L., Sellitto A., Giordano M., Marrone A. Chronic hepatitis C virus infection and neurological and psychiatric disorders: an overview. *World J. Gastroenterol.*, 2015, vol. 21, no. 8, pp. 2269–2280. doi: 10.3748/wjg.v21.i8.2269
- Agsalda-Garcia M.A., Sithinamsuwan P., Valcour V.G., Chalermchai T., Tipsuk S., Kuroda J., Nakamura C., Ananworanich J., Zhang G., Schuetz A., Slike B.M., Shiramizu B.; SEARCH 011 Study Group. Brief report: CD14⁺ enriched peripheral cells secrete cytokines unique to HIV-associated neurocognitive disorders. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.*, 2017, vol. 74, no. 4, pp. 454–458. doi: 10.1097/QAI.0000000000001259
- An S.F., Ciardi A., Giometto B., Scaravilli T., Gray F., Scaravilli F. Investigation on the expression of major histocompatibility complex class II and cytokines and detection of HIV-1 DNA within brains of asymptomatic and symptomatic HIV-1-positive patients. *Acta. Neuropathol.*, 1996, vol. 91, no. 5, pp. 494–503. doi: 10.1007/s004010050457
- Benameur K., Agarwal A., Auld S.C., Butters M.P., Webster A.S., Ozturk T., Howell J.C., Bassit L.C., Velasquez A., Schinazi R.F., Mullins M.E., Hu W.T. Encephalopathy and encephalitis associated with cerebrospinal fluid cytokine alterations and coronavirus disease, Atlanta, Georgia, USA, 2020. *Emerg. Infect. Dis.*, 2020, vol. 26, no. 9, pp. 2016–2021. doi: 10.3201/eid2609.202122
- Byun E., Gay C.L., Portillo C.J., Pullinger C.R., Aouizerat B.E., Lee K.A. Cytokine polymorphisms are associated with daytime napping in adults living with HIV. *Sleep Med.*, 2017, vol. 32, pp. 162–170. doi: 10.1016/j.sleep.2016.12.021
- Catalfamo M., Le Saout C., Lane H.C. The role of cytokines in the pathogenesis and treatment of HIV infection. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2012, vol. 23, no. 4–5, pp. 207–214. doi: 10.1016/j.cytogfr.2012.05.007
- Cohen S., Ter Stege J.A., Geurtsen G.J., Scherpier H.J., Kuijpers T.W., Reiss P., Schmand B., Pajkrt D. Poorer cognitive performance in perinatally HIV-infected children versus healthy socioeconomically matched controls. *Clin. Infect. Dis.*, 2015, vol. 60, no. 7, pp. 1111–1119. doi: 10.1093/cid/ciu1144
- Deeks S.G., Tracy R., Douek D.C. Systemic effects of inflammation on health during chronic HIV infection. *Immunity*, 2013, vol. 39, no. 4, pp. 633–645. doi: 10.1016/j.immuni.2013.10.001
- Espindola O.M., Gomes Y.C.P., Brandão C.O., Torres R.C., Siqueira M., Soares C.N., Lima M.A.S.D., Leite A.C.C.B., Venturotti C.O., Carvalho A.J.C., Torezani G., Araujo A.Q.C., Silva M.T.T. Inflammatory cytokine patterns associated with neurological diseases in coronavirus disease 2019. *Ann. Neurol.*, 2021, vol. 89, no. 5, pp. 1041–1045. doi: 10.1002/ana.26041
- Farhadian S., Glick L.R., Vogels C.B.F., Thomas J., Chiarella J., Casanovas-Massana A., Zhou J., Odio C., Vijayakumar P., Geng B., Fournier J., Bermejo S., Fauver J.R., Alpert T., Wyllie A.L., Turcotte C., Steinle M., Paczkowski P., Dela Cruz C., Wilen C., Ko A.I., MacKay S., Grubaugh N.D., Spudich S., Barakat L.A. Acute encephalopathy with elevated CSF inflammatory markers as the initial presentation of COVID-19. *BMC Neurol.*, 2020, vol. 20, no. 1: 248. doi: 10.1186/s12883-020-01812-2
- Foster S.B., Lu M., Glaze D.G., Reuben J.M., Harris L.L., Cohen E.N., Lee B.N., Zhao E., Paul M.E., Schwarzwald H., McMullen-Jackson C., Clark C., Armstrong F.D., Brouwers P.Y., Miller T.L., Colin A.A., Scott G.B., Shahzeidi S., Willen E.J., Asthana D., Lipshultz S.E., Thompson B.W., Shearer W.T. Associations of cytokines, sleep patterns, and neurocognitive function in youth with HIV infection. *Clin. Immunol.*, 2012, vol. 144, no. 1, pp. 13–23. doi: 10.1016/j.clim.2012.04.004
- Gallo P., Sivieri S., Rinaldi L., Yan X.B., Lolli F., De Rossi A., Tavolato B. Intrathecal synthesis of interleukin-10 (IL-10) in viral and inflammatory diseases of the central nervous system. *J. Neurol. Sci.*, 1994, vol. 126, no. 1, pp. 49–53. doi: 10.1016/0022-510x(94)90093-0
- Gallo P., Frei K., Rordorf C., Lazdins J., Tavolato B., Fontana A. Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection of the central nervous system: an evaluation of cytokines in cerebrospinal fluid. *J. Neuroimmunol.*, 1989, vol. 23, no. 2, pp. 109–16. doi: 10.1016/0165-5728(89)90029-5
- Gay C.L., Zak R.S., Lerdal A., Pullinger C.R., Aouizerat B.E., Lee K.A. Cytokine polymorphisms and plasma levels are associated with sleep onset insomnia in adults living with HIV/AIDS. *Brain Behav. Immun.*, 2015, vol. 47, pp. 58–65. doi: 10.1016/j.bbi.2014.11.018
- Glass J.D., Wesselingh S.L., Selnes O.A., McArthur J.C. Clinical-neuropathologic correlation in HIV-associated dementia. *Neurology*, 1993, vol. 43, no. 11, pp. 2230–2237. doi: 10.1212/wnl.43.11.2230
- Gongvatana A., Correia S., Dunsiger S., Gauthier L., Devlin K.N., Ross S., Navia B., Tashima K.T., DeLaMonte S., Cohen R.A. Plasma cytokine levels are related to brain volumes in HIV-infected individuals. *J. Neuroimmune Pharmacol.*, 2014, vol. 9, no. 5, pp. 740–750. doi: 10.1007/s11481-014-9567-8
- Gutierrez J., Tedaldi E.M., Armon C., Patel V., Hart R., Buchacz K. Sleep disturbances in HIV-infected patients associated with depression and high risk of obstructive sleep apnea. *SAGE Open Med.*, 2019, no. 7: 2050312119842268. doi: 10.1177/2050312119842268
- Jiang Y., Yang M., Sun X., Chen X., Ma M., Yin X., Qian S., Zhang Z., Fu Y., Liu J., Han X., Xu J., Shang H. IL-10+ NK and TGF- β + NK cells play negative regulatory roles in HIV infection. *BMC Infect. Dis.*, 2018, vol. 18, no. 1: 80. doi: 10.1186/s12879-018-2991-2
- Kaur R., Dhakad M.S., Goyal R., Bhalla P., Dewan R. Study of TH1/TH2 cytokine profiles in HIV/AIDS patients in a tertiary care hospital in India. *J. Med. Microbiol. Diagn.* 2016, vol. 5. doi: 10.4172/2161-0703.1000214
- Kedzierska K., Crowe S.M. Cytokines and HIV-1: interactions and clinical implications. *Antivir. Chem. Chemother.*, 2001, vol. 12, no. 3, pp. 133–150. doi: 10.1177/095632020101200301
- Lee K.A., Gay C., Pullinger C.R., Hennessy M.D., Zak R.S., Aouizerat B.E. Cytokine polymorphisms are associated with poor sleep maintenance in adults living with human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome. *Sleep*, 2014, vol. 37, no. 3, pp. 453–463. doi: 10.5665/sleep.3474

22. Li S.S., Kochar N.K., Elizaga M., Hay C.M., Wilson G.J., Cohen K.W., De Rosa S.C., Xu R., Ota-Setlik A., Morris D., Finak G., Allen M., Tieu H.V., Frank I., Sobieszczyk M.E., Hannaman D., Gottardo R., Gilbert P.B., Tomaras G.D., Corey L., Clarke D.K., Egan M.A., Eldridge J.H., McElrath M.J., Frahm N.; NIAID HIV Vaccine Trials Network. DNA priming increases frequency of T-cell responses to a vesicular stomatitis virus HIV vaccine with specific enhancement of CD8⁺ T-cell responses by interleukin-12 plasmid DNA. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2017, vol. 24, no. 11: e00263-17. doi: 10.1128/CVI.00263-17
23. Luckheeram R.V., Zhou R., Verma A.D., Xia B. CD4⁺T cells: differentiation and functions. *Clin. Dev. Immunol.*, 2012, no. 2012: 925135. doi: 10.1155/2012/925135
24. Mehraeen E., Safdari R., Seyedalinaghi S.A., Mohammadzadeh N., Arji G. Identifying and validating requirements of a mobile-based self-management system for people living with HIV. *Stud. Health Technol. Inform.*, 2018, vol. 248, pp. 140–147.
25. Mehraeen E., Safdari R., Mohammadzadeh N., Seyedalinaghi S.A., Forootan S., Mohraz M. Mobile-based applications and functionalities for self-management of people living with HIV. *Stud. Health Technol. Inform.*, 2018, vol. 248, pp. 172–179.
26. Mehraeen E., Safdari R., SeyedAlinaghi S., Mohammadzadeh N. Exploring and prioritization of mobile-based self-management strategies for HIV Care. *Infect. Disord. Drug. Targets*, 2019, vol. 19, no. 3, pp. 288–296. doi: 10.2174/1871526518666181022113900
27. Mirzapour P., Motlagh F., SeyedAlinaghi S., Mehraeen E. Comparison of the effectiveness of positive thinking training and acceptance and commitment therapy on quality of life and resilience of people living with HIV. *HIV & AIDS Review*. 2022, vol. 21, no. 1, pp. 50–57. doi: 10.5114/hivar.2021.112404
28. Mustafa M., Musselman D., Jayaweera D., da Fonseca Ferreira A., Marzouka G., Dong C. HIV-associated neurocognitive disorder (HAND) and Alzheimer's disease pathogenesis: future directions for diagnosis and treatment. *Int. J. Mol. Sci.*, 2024, vol. 25, no. 20: 11170. doi: 10.3390/ijms252011170
29. Nath A., Conant K., Chen P., Scott C., Major E.O. Transient exposure to HIV-1 Tat protein results in cytokine production in macrophages and astrocytes. A hit and run phenomenon. *J. Biol. Chem.*, 1999, vol. 274, no. 24, pp. 17098–17102. doi: 10.1074/jbc.274.24.17098
30. Ngcobo S., Molatlhegi R.P., Osman F., Ngcapu S., Samsunder N., Garrett N.J., Abdool Karim S.S., Abdool Karim Q., McKinnon L.R., Sivro A. Pre-infection plasma cytokines and chemokines as predictors of HIV disease progression. *Sci. Rep.*, 2022, vol. 12, no. 1: 2437. doi: 10.1038/s41598-022-06532-w
31. Niakan S., Mehraeen E., Noori T., Gozali E. Web and mobile based HIV prevention and intervention programs pros and cons — a review. *Stud. Health Technol. Inform.*, 2017, vol. 236, pp. 319–327.
32. Nolan R.A., Muir R., Runner K., Haddad E.K., Gaskill P.J. Role of macrophage dopamine receptors in mediating cytokine production: implications for neuroinflammation in the context of HIV-associated neurocognitive disorders. *J. Neuroimmune Pharmacol.*, 2019, vol. 14, no. 1, pp. 134–156. doi: 10.1007/s11481-018-9825-2
33. Nolting T., Lindecke A., Hartung H.P., Koutsilieri E., Maschke M., Husstedt I.W., Sopper S., Stüve O., Arendt G.; German Competence Network HIV/AIDS. Cytokine levels in CSF and neuropsychological performance in HIV patients. *J. Neurovirol.*, 2012, vol. 18, no. 3, pp. 157–161. doi: 10.1007/s13365-012-0091-4
34. Nuovo G.J., Alfieri M.L. AIDS dementia is associated with massive, activated HIV-1 infection and concomitant expression of several cytokines. *Mol. Med.*, 1996, vol. 2, no. 3, pp. 358–366.
35. Okoye A.A., Picker L.J. CD4(+) T-cell depletion in HIV infection: mechanisms of immunological failure. *Immunol. Rev.*, 2013, vol. 254, no. 1, pp. 54–64. doi: 10.1111/imr.12066
36. Pelle M.T., Bazille C., Gray F. Neuropathology and HIV dementia. *Handb. Clin. Neurol.*, 2008, vol. 89, pp. 807–818. doi: 10.1016/S0072-9752[07]01270-5
37. Porro C., Cianciulli A., Panaro M.A. The Regulatory Role of IL-10 in neurodegenerative diseases. *Biomolecules*, 2020, vol. 10, no. 7: 1017. doi: 10.3390/biom10071017
38. Reuter M.A., Pombo C., Betts M.R. Cytokine production and dysregulation in HIV pathogenesis: lessons for development of therapeutics and vaccines. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2012, vol. 23, no. 4–5, pp. 181–191. doi: 10.1016/j.cytogfr.2012.05.005
39. Rubinstein P.G., Aboulafla D.M., Zloza A. Malignancies in HIV/AIDS: from epidemiology to therapeutic challenges. *AIDS*, 2014, vol. 28, no. 4, pp. 453–465. doi: 10.1097/QAD.0000000000000071
40. Ruhanya V., Jacobs G.B., Paul R., Joska J., Seedat S., Nyandoro G., Engelbrecht S., Glashoff R.H. Plasma cytokine levels as predictors of global and domain-specific human immunodeficiency virus-associated neurocognitive impairment in treatment-naïve individuals. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2021, vol. 41, no. 4, pp. 153–160. doi: 10.1089/jir.2020.0251
41. SeyedAlinaghi S., Karimi A., Barzegary A., Pashaei Z., Zargari G., Kianzad S., MohsseniPour M., Mirzapour P., Fakhfour A., Mehraeen E., Dadras O. Prevalence and reasons of loss to follow-up in HIV clinics: a systematic review of current evidence. *HIV & AIDS Review*, 2022, vol. 21, no. 3, pp. 179–190. doi: 10.5114/hivar.2022.117210
42. Shahmohamadi E., SeyedAlinaghi S., Karimi A., Behnezhad F., Mehraeen E., Dadras O. HIV/HTLV-1 co-infection: a systematic review of current evidence. *HIV & AIDS Review*, 2021, vol. 20, no. 3, pp. 158–165. doi: 10.5114/hivar.2021.108835
43. Siliciano J.D., Siliciano R.F. Recent developments in the effort to cure HIV infection: going beyond N = 1. *J. Clin. Invest.*, 2016, vol. 126, no. 2, pp. 409–414. doi: 10.1172/JCI86047
44. Silva K., Hope-Lucas C., White T., Hairston T.K., Rameau T., Brown A. Cortical neurons are a prominent source of the proinflammatory cytokine osteopontin in HIV-associated neurocognitive disorders. *J. Neurovirol.*, 2015, vol. 21, no. 2, pp. 174–185. doi: 10.1007/s13365-015-0317-3
45. Stanley L.C., Mrak R.E., Woody R.C., Perrot L.J., Zhang S., Marshak D.R., Nelson S.J., Griffin W.S. Glial cytokines as neuropathogenic factors in HIV infection: pathogenic similarities to Alzheimer's disease. *J. Neuropathol Exp Neurol.*, 1994, vol. 53, no. 3, pp. 231–238. doi: 10.1097/00005072-199405000-00003
46. Tian X., Chen J., Wang X., Xie Y., Zhang X., Han D., Fu H., Yin W., Wu N. Global, regional, and national HIV/AIDS disease burden levels and trends in 1990–2019: A systematic analysis for the global burden of disease 2019 study. *Front. Public Health*, 2023, no. 11: 1068664. doi: 10.3389/fpubh.2023.1068664
47. Wang C., Song W., Lobashevsky E., Wilson C.M., Douglas S.D., Mytilineos J., Schoenbaum E.E., Tang J., Kaslow R.A. Cytokine and chemokine gene polymorphisms among ethnically diverse North Americans with HIV-1 infection. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.*, 2004, vol. 35, no. 5, pp. 446–454. doi: 10.1097/00126334-200404150-00002

48. Watkins C.C., Treisman G.J. Cognitive impairment in patients with AIDS — prevalence and severity. *HIV AIDS (Auckl.)*, 2015, vol. 7, pp. 35–47. doi: 10.2147/HIV.S39665
49. Williams R., Dhillon N.K., Hegde S.T., Yao H., Peng F., Callen S., Chebloune Y., Davis R.L., Buch S.J. Proinflammatory cytokines and HIV-1 synergistically enhance CXCL10 expression in human astrocytes. *Glia*, 2009, vol. 57, no. 7, pp. 734–743. doi: 10.1002/glia.20801
50. Wolf S.F., Sieburth D., Sypek J. Interleukin 12: a key modulator of immune function. *Stem Cells*, 1994, vol. 12, no. 2, pp. 154–168. doi: 10.1002/stem.5530120203
51. Zicari S., Sessa L., Cotugno N., Ruggiero A., Morrocchi E., Concato C., Rocca S., Zangari P., Manno E.C., Palma P. Immune activation, inflammation, and non-AIDS co-morbidities in HIV-infected patients under long-term ART. *Viruses*, 2019, vol. 11, no. 3: 200. doi: 10.3390/v11030200

Авторы:

СейедАлиаги С., д.м.н., магистр философии, доктор философии, доцент, Иранский исследовательский центр ВИЧ/СПИДа, Иранский институт снижения поведения высокого риска, Тегеранский университет медицинских наук, Тегеран, Иран;

Афсахи А.М., доктор философии, кафедра радиологии, медицинский факультет Калифорнийского университета, Сан-Диего, Калифорния, США;

Мирзапур П., научный сотрудник, Иранский исследовательский центр по ВИЧ/СПИД, Иранский институт снижения рискованного поведения, Тегеранский университет медицинских наук, Тегеран, Иран;

Аликарами С., студент, Медицинская школа, Тегеранский университет медицинских наук, Тегеран, Иран;

Афзалиян А., врач, медицинский факультет Тегеранского университета медицинских наук, Тегеран, Иран;

Матини П., студент, Медицинский факультет, Иранский университет медицинских наук, Тегеран, Иран;

Махрохи С., научный сотрудник, Иранский исследовательский центр по ВИЧ/СПИД, Тегеранский медицинский университет, Тегеран, Иран;

Али З., научный сотрудник, Университет Саскачевана, Саскатун, Канада;

Пашаи А., аспирант, факультет сестринского дела Университета Британской Колумбии, г. Ванкувер, Канада;

Эслами С., студент, Школа медицины, Тегеранский университет медицинских наук, Тегеран, Иран;

Вахеди Ф., студент, Школа медицины, Тегеранский университет медицинских наук, Тегеран, Иран;

Паранджху П., магистр общественного здравоохранения, научный сотрудник Турпанджянского колледжа медицинских наук Американского университета Армении, Ереван;

Хабиби М.А., студент, Центр развития клинических исследований, Университет медицинских наук Кума, Кум, Иран;

Молла А., студент медицинского факультета Бушерского университета медицинских наук, г. Бушер, Иран;

Даджу А., студент, Медицинский факультет, Бушерский университет медицинских наук, Бушер, Иран;

Парихани С.Н., бакалавр сестринского дела, медицинский факультет Тегеранского университета медицинских наук, Тегеран, Иран;

Мехраин Э., кандидат наук, ассистент кафедры медицинских информационных технологий Халхальского медицинского университета, г. Халхал, Иран;

Хакетт Д., кандидат наук (спортивная медицина), преподаватель спортивной медицины факультета медицины и здравоохранения Школы медицинских наук Сиднейского университета, г. Сидней, Новый Южный Уэльс, Австралия.

Authors:

SeyedAlinaghi S., MD, MPhil, PhD, Research Fellowship, Associate Professor, Iranian Research Center for HIV/AIDS, Iranian Institute for Reduction of High-Risk Behaviors, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran;

Afsahi A.M., MD, Department of Radiology, School of Medicine, University of California, San Diego (UCSD), California, USA;

Mirzapour P., Researcher, Iranian Research Center for HIV/AIDS, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran;

Alikarami S., MD, Student, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran;

Afzalian A., MD, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran;

Matini P., MD, Student, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran;

Mahrokhi S., MD, Researcher, Iranian Research Center for HIV/AIDS, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran;

Ali Z., MD, Researcher, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada;

Pashaei A., PhD Student, School of Nursing, University of British Columbia, Vancouver, Canada;

Eslami S., MD, Student, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran;

Vahedi F., MD, Student, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran;

Paranjkhoo P., MD, MPH, Researcher, Turpanjian College of Health Sciences, American University of Armenia, Yerevan, Armenia;

Habibi M.A., MD, Student, Clinical Research Development Center, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran;

Molla A., MD Student, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran;

Dadjou A., Student, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran;

Parikhani S.N., BS in Nursing, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran;

Mehraeen E., PhD, Assistant Professor, Department of Health Information Technology, Khalkhal University of Medical Sciences, Khalkhal, Iran;

Hackett D., PhD (Exercise and Sport Science), Lecturer in Discipline of Exercise and Sport Science, Sydney School of Health Sciences, Faculty of Medicine and Health, The University of Sydney, Sydney, New South Wales, Australia.

Поступила в редакцию 14.11.2023
Отправлена на доработку 29.12.2024
Принята к печати 20.01.2025

Received 14.11.2023
Revision received 29.12.2024
Accepted 20.01.2025

SEROPREVALENCE, RISK ASSOCIATIONS, AND TESTING COST OF SCREENING FOR HCV, HBV, AND HIV INFECTIONS AMONG A GROUP OF PRE-OPERATIVE EGYPTIAN PATIENTS

H.W.Z. Hanna, R.M.H. Shahin, L.A. Samy

Cairo University, Cairo, Egypt

Abstract. *Background.* Routine pre-operative testing for Human Immunodeficiency Virus (HIV) and other blood-borne viruses, Hepatitis B Virus, Hepatitis C Virus (HBV, HCV) has been stated as a strategy to reduce the risk of healthcare workers' infection by preventing and reducing their infection. However, the argument that screening is essential or not is strong. This study aims to determine the incidence of HBV, HCV, and HIV infections identified during pre-operative screening in a cohort of Egyptian individuals, along with the associated risk factors and the subsequent testing costs. *Materials and methods.* This study comprised 138 patients, with 92 (66.7%) males and 46 (33.3%) females. All patients scheduled for surgical procedures underwent testing for HCV Ab, HBsAg, and HIV Ag/Ab by chemiluminescent microparticle immunoassay conducted with the "ARCHITECT i2000SR Immunoassay" (Abbot Japan CO., Ltd, Tokyo, Japan). Among the participants, 23 out of 138 (16.7%) tested positive for HCV, while 5 out of 138 (3.3%) showed equivocal results for HCV, and 110 out of 138 (79.7%) tested negative for HCV. Additionally, 2 out of 138 (1.4%) were positive for HBsAg, while 136 out of 138 (98.6%) tested negative for HBsAg. Furthermore, 1 out of 138 (0.7%) was found to be HIV-positive, while 137 out of 138 (99.3%) tested negative for HIV. *Results.* The prevalence of each infection detected through pre-operative testing of HCV, HBV and HIV and a questionnaire was compared. Furthermore, we calculated the screening cost per confirmed infection by assessing the incidence of infections linked to different risk factors, ages, genders, and levels of HBV vaccination. *Conclusions* Age markedly impacted HCV and HBV rates. There was no link between viral infections and gender. The expenses associated with each affirmative result were 1763 LE for HCV, 5520 LE for HBV, and 22 080 LE for HIV. While self-assessment through questionnaires can be partially efficacious, it lacks sufficient screening accuracy.

Key words: HCV, HBV, HIV, pre-operative testing, screening cost, viral infections.

СЕРОРАСПРОСТРАНЕННОСТЬ, АССОЦИИИ РИСКА И СТОИМОСТЬ СКРИНИНГА НА ИНФЕКЦИИ ВГС, ВГВ И ВИЧ У ПРЕДОПЕРАЦИОННЫХ ПАЦИЕНТОВ В ЕГИПТЕ

Ханна Х.У.З., Шахин Р.М.Х., Сами Л.А.

Каирский университет, Каир, Египет

Резюме. Плановое предоперационное тестирование на вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) и другие вирусы, передающиеся гематогенно, такие как вирус гепатита В, вирус гепатита С (ВГВ, ВГС), было предложено как стратегия снижения риска инфицирования работников здравоохранения путем профилактики и снижения их инфицирования. Однако существенным остается вопрос о необходимости проведения подобно-

Адрес для переписки:

Хани Уильям З. Ханна
Тел.: +0201221404847.
E-mail: Hanywilliam@kasralainy.edu.eg

Contacts:

Hany William Z. Hanna
Phone: +0201221404847.
E-mail: Hanywilliam@kasralainy.edu.eg

Для цитирования:

Ханна Х.У.З., Шахин Р.М.Х., Сами Л.А. Серораспространенность, ассоциации риска и стоимость скрининга на инфекции ВГС, ВГВ и ВИЧ у предоперационных пациентов в Египте // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 125–133. doi: 10.15789/2220-7619-SRA-17671

Citation:

Hanna H.W.Z., Shahin R.M.H., Samy L.A. Seroprevalence, risk associations, and testing cost of screening for HCV, HBV, and HIV infections among a group of pre-operative Egyptian patients // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 125–133. doi: 10.15789/2220-7619-SRA-17671

го скрининга. Настоящее исследование направлено на определение заболеваемости инфекциями ВГС, ВГВ и ВИЧ, выявленными во время предоперационного скрининга в группе пациентов в Египте, а также связанных с ними факторов риска и последующих затрат на тестирование. *Материалы и методы.* В исследование включены 138 пациентов, из которых 92 (66,7%) мужчины и 46 (33,3%) женщины. Все пациенты, которым были назначены хирургические манипуляции, прошли тестирование на антитела к вирусу гепатита С, HBsAg и антитела к ВИЧ Ag/Ab с помощью хемилюминесцентного иммуноанализа на микрочастицах, на приборе «ARCHITECT i2000SR» (Abbot Japan CO., Ltd, Токио, Япония). Среди участников 23 из 138 (16,7%) дали положительный результат на вирус гепатита С, в то время как 5 из 138 (3,3%) показали сомнительные результаты на вирус гепатита С, а 110 из 138 (79,7%) дали отрицательный результат на вирус гепатита С. Кроме того, 2 из 138 (1,4%) дали положительный результат на HBsAg, в то время как 136 из 138 (98,6%) дали отрицательный результат на HBsAg. Кроме того, 1 из 138 (0,7%) оказался ВИЧ-положительным, в то время как 137 из 138 (99,3%) дали отрицательный результат на ВИЧ. *Результаты.* Проведено сравнение распространенности каждой инфекции, выявленной с помощью предоперационного тестирования на ВГС, ВГВ и ВИЧ и анкетирования. Кроме того, были рассчитаны стоимость скрининга на подтвержденную инфекцию, оценив частоту инфекций, связанных с различными факторами риска, возрастом, полом и охватом вакцинации против ВГВ. *Выводы.* Возраст заметно влиял на показатели распространенности ВГС и ВГВ инфекции. Связи между вирусными инфекциями и полом не установлено. Расходы, связанные с каждым положительным результатом, составили 1763, 5520 и 22 080 египетских фунтов для ВГС, ВГВ и ВИЧ соответственно. Хотя самооценка при анкетировании может быть частично эффективной, она не обеспечивает достаточной точности скрининга.

Ключевые слова: ВГС, ВГВ, ВИЧ, предоперационное тестирование, стоимость скрининга, вирусные инфекции.

Introduction

In recent years, Egypt has been estimated to be one of the countries with the highest HCV incidence globally. Anti-HCV testing revealed that 6% of individuals aged 1–59 years had a positive result, and 4% were determined to be suffering from an active infection with higher prevalence in males among most age groups except in children [1, 13]. In past years, Egypt was considered one of the highest countries in HCV prevalence but starting 2018/2019, Egypt started applying screening, diagnosis and treating HCV patients to achieve HCV control and eliminating infection by 2030 [1, 26]. HBV infection in Egypt is a significant public health issue [8]. According to research, the estimated national prevalence was 3.67% [95% CI: 3: 4.39]. With a history of HBV immunization during infancy, children under 20 had the lowest prevalence (0.69%). Pregnant women, blood donors, and healthcare professionals had combined prevalence rates of HBV infection of 2.95%, 1.8%, and 1.1%, respectively. The largest prevalence was seen in patients with hemolytic anemia and hemodialysis, cancer patients, patients with HCC, and patients with chronic liver disease (6.34%, 25.5%, 18.6%, and 34%, respectively). Research comparing the prevalence of HBV in urban and rural areas found that the rates were similar, at 2.43% and 2.15%, respectively [8].

HIV prevalence rates in Egypt are estimated to be 0.1 percent in the general population. Nevertheless, United Nations agencies such as UNAIDS and UNICEF, along with stakeholders within the Egyptian National AIDS Program (NAP), express concerns regarding a potentially significant increase [10]. HIV-positive individuals have been identified in an increasing number of studies

conducted globally [12, 33]. The prevalence of HIV among the general population remains low in Egypt. That is supported by data from HIV testing services (HTS) provided to pregnant women. However, Egypt continued to witness an increasing trend of HIV new infection and incidence rate, which is reflecting a rapidly evolving disease spread. The incidence rate has increased by five folds between 2010 and 2019. In 2019, men (mainly young men aged between 15 and 24 years) had the highest HIV new infections compared to women. There was a rapid increase in the estimated number of adults and children living with HIV in the country during the period 2015 and 2020. UNAIDS Estimated around 24 000 People Living with HIV by end of 2020 in Egypt. Programmatic data on HIV testing and surveillance continue to indicate that specific population groups are increasing risks of new HIV infections. People who inject drugs (PWID) and other men who engage in sex with men (MSM) are at higher risk of HIV infection than other population groups. Despite the focus on PWIDs and MSM, data from HIV testing and assessments indicate the significance of other population groups at risk of HIV infection due to specific risk factors [6].

From the previous data, preventing and limiting viral infection spread and transmission is crucial, especially among medical health workers (HCW) and staff. According to estimates from the World Health Organization (WHO), over 3 million healthcare workers sustain injuries annually from contaminated edges with at least one form of HIV (~170 000 exposures), hepatitis B (~2 000 000 exposures), or hepatitis C (~900 000 exposures). The only available method of prevention for HCV currently is the use of normal precautions along with rigorous attention to post-exposure prophylactic measures. This is because there is currently no immunization against HCV [24].

As for HBV infection, HCW are at increased risk of hepatitis B virus (HBV) infection because of their frequent exposure to blood and other body fluids. Once infected, HCW may transmit HBV to their patients [14, 19, 28].

Globally, Europe (0.6–1.2%) and several Asian nations (India, Iran, Turkey, and the United Arab Emirates, for example) were reported to have low rates of hepatitis B infection among HCW [3, 15, 21, 27]. Nonetheless, some Asian nations (up to 9.85%) and African nations (2.3–11.8%) had significantly greater prevalence [16, 20]. Vietnam had the highest incidence in Asia.

In HCW in Cameroon, Mauritania, Sierra Leone, and Tanzania, an alarmingly high incidence rate of > 8.7% of HBsAg has been recorded.

In Egypt, a study showed that 0.4% of HCW were positive for HBsAg and 15.6 for anti-HBc [17].

As for HCV infection, HCV infection prevalence among Egyptian HCW was estimated to be around 8% [7, 25], another study reported that, out of 1000 studied HCWs, 90 cases (9%) were positive for hepatitis C antibody (HCV Ab) and 53.70% of all HCW exposed to needle sticks injury (NSI) [6].

As for HIV, prevalence rates in Egypt are estimated to be 0.1 percent in the general population.

Pre-operative monitoring for HIV and the hepatitis virus is now pervasive in medical facilities. A significant concern for the economy's well-being and clinical management is the administration of non-essential and irregular pre-operative blood tests before elective surgery.

However, the argument that screening is essential or not is strong. Routine pre-operative HIV and other blood-borne viruses (HCV and HBV) checking is defined as an approach to reduce the risk of healthcare workers' infection by preventing and reducing their infection. Moreover, after a sharp injury, the surgeon and healthcare workers would know whether to begin post-exposure prophylaxis immediately. Furthermore, it is critical to determine whether or not to increase the use of personal protective equipment (PPE) as an additional precaution throughout operations. Additionally, it assists surgeons in organizing their surgery schedule and prioritizing patients in the correct order. However, this aids surgeons in determining the necessary environmental sterilization and apparatus to be utilized after each procedure [17].

Regarding patients, it has been proposed that regular pre-operative testing for HIV, HBV, and HCV could be advantageous by enabling the identification of undetected cases and the timely management of those cases before manifesting liver cancer, cirrhosis, or AIDS [12, 29, 32].

Research has indicated that a significant portion of the concerns surrounding the spread of infections could be mitigated by implementing universal precautions instead of universal screening; this rep-

resents the primary critique of the universal screening approach. However, the maximum significance of universal precautions is preventing blood contact through barrier protection. However, the risk of gaining infection is higher with needle stick injury (NSI), where barrier precautions are unavailing [2].

Despite specific precautions to prevent infection as wearing protective gloves, goggles and cloth, providing sinks for hands washing, providing appropriate treatment and prophylactic IVIgG and raising the awareness of HCW on how to deal after exposure, still the risk of gaining infection is higher with needle stick injury (NSI) and exposure to injury with sharp objects.

This research investigates the impact of pre-operative screening on HIV, HCV, and HBV infection rates in Egyptian individuals, evaluating risk correlations and checking costs, self-reported positivity rates, and hepatitis incidence by gender and age.

Materials and methods

The Faculty of Medicine Ethics Committee at Cairo University has approved the research (#N-280-2023). The study corresponded with the principles of the Declaration of Helsinki. All participants provided informed consent before enrollment.

The study was conducted on 138 patients undergoing elective operation in King Fahd Unit Al-Kasr Al-ainy Hospitals, Cairo University. Immunocompromised patients and patients under corticosteroids or immunosuppressant medications were excluded.

Patients were subjected to a questionnaire discussing their entire history, kind of upcoming elective operation, job, HBV vaccination state, risk factors including previous operation, drugs, blood transfusion, organ transplantation, previous endoscopy or catheter, tooth manipulation, professional risk, and sharing personal tools. Clinicians in the King Fahd unit in Cairo University hospitals performed clinical examinations of patients, data of the patients are discussed in Table 1 in [29].

A peripheral venous blood sample was collected to detect HCV antibodies, HBsAg and HIV antigen/antibody using a chemiluminescent microparticle immunoassay conducted with the "ARCHITECT i2000SR Immunoassay" (Abbott Japan CO., Ltd, Tokyo, Japan), kits used for HCV ab are ARCHITECT, Lot (57289BE00), for HBsAg Lot (59411FZ00) and for HIV antigen/antibody Lot (60457BE00).

All patients whose findings for HIV Ag/Ab > 1.0 S/CO, HBsAg > 1.0 S/CO) was reported as positive for HIV and HBV, respectively.

For HCV Ab, patients whose findings were < 1.0 S/CO was reported as negative and from 1 to 5 S/CO was reported equivocal and positive > 5 S/CO.

Statistical methods. Data analysis was conducted using SPSS version 21. Qualitative data were present-

ed using numbers and percentages, while quantitative data were presented using means and standard deviations. Significance testing included parametric and non-parametric tests: chi-square with Fisher's exact test for qualitative data, Student's t-test and ANOVA for parametric normally distributed data, and the Bonferroni test for post hoc analysis. The significance level was set at a p-value ≤ 0.05 .

Cost analysis. In the context of testing cost analysis, the cost associated with identifying patients with cleared or active viral loads was determined by multiplying the test cost by the number of patients and then dividing the result by the number of positive cases. This process enabled the computation of the testing expense.

Results

A total of 138 patients participated in this study, comprising 92 (66.7%) males and 46 (33.3%) females. The mean age was 50.20, with a standard deviation of 17.05 (with 10 years old minimum age and 87 years old maximum age). Data regarding previous HBV vaccinations, upcoming operations, occupations, and infection risk factors are presented in Table 1.

Viral screening test counts and positivity rates. All patients scheduled for upcoming surgical procedures underwent testing for HCV, HBV, and HIV. Among the 138 patients, 23 (16.7%) tested positive for HCV, while 5 (3.3%) showed equivocal results for HCV, and 110 (79.7%) tested negative for HCV. Additionally, 2 (1.4%) tested positive for HBsAg, while 136 (98.6%) tested negative. Furthermore, 1 (0.7%) patient was found to be HIV-positive, while 137 (99.3%) were negative for HIV. These findings are summarized in Table 2.

Investigating self-reported positivity rate of patients. All HCV cases known to be infected tested seropositive, whereas 12.9% of cases known not to be infected tested seropositive and 3.7% tested equivocal, with a significance level of p-value < 0.001 , as shown in Table 3.

Regarding HBV infection, 75% of known infections tested negative for HBsAg, while 0.7% of cases known not to be infected tested positive for HBsAg, with a significance level of p-value < 0.001 , as illustrated in Table 4.

As for HIV infection, no statistically significant difference was detected (Table 5).

Association between age, gender, HBV vaccination state, and different risk factors for HCV infection. A statistically significant difference was observed regarding HCV infection status and age, with a higher prevalence noted in older age groups (p-value = 0.018), as indicated in Table 6.

Statistically significant difference between positive cases in young age and negative cases in older age by P value 0.035. No statistically significant difference between age and HIV infection.

A statistically significant difference was observed between HCV-positive cases vaccinated with the HBV vaccine (36.4%) compared to those not vaccinated (12.9%), with a p-value of 0.008. However, no statistically significant differences were detected between gender, occupation, various risk factors, and HCV infection.

Association between age, gender, HBV vaccination state, and different risk factors with HBV infection. A statistically significant difference was found regarding HBV infection status and age, with a higher prevalence observed in younger age groups (p-value = 0.035). Additionally, a statistically significant difference was detected between positive HBsAg cases and previous blood transfusions (p-value = 0.026). However, no other statistically significant differences were observed between gender, occupation, HBV vaccination status, or any other listed risk factors, as shown in Table 7.

Association between age, gender, HBV vaccination state, and different risk factors for HIV infection. No statistically significant differences were detected between HIV infection state and age, gender, job, HBV vaccination state, and other risk factors.

Cost analysis. All screening tests for HBV, HCV and HIV cost: 56 442 LE, as for HBV cost was 16 560 LE; HCV cost was 17 802 LE and HIV cost was 22 080 LE. A total of 138 patients were screened, cases with positive results for all viral infections cost was: 4132 LE. HBV positive cases cost 360 LE; HCV positive cases cost 2967 and 645 LE for equivocal while For HIV positive cases the cost was 160 LE.

Cost analysis for all screening test was 56 442/27 positive cases = 2090.4 LE (with equivocal HCV results = 56 442/32 = 1763 LE) for HBV = 16 560/3 positive cases = 5520 LE/positive case. For HCV = 17 802/23 positive cases = 774 LE/ positive cases (HCV with equivocal 17 802/28 = 635.8 LE per non-negative case) and for HIV = 22 080/1 = 22 080 LE per positive case. So, HCV is the most efficient screening among all, followed by HBV.

Discussion

In this study, the prevalence of HBV, HCV, and HIV in a group of Egyptian patients scheduled to undergo operations at King Fahd Unit Cairo University was investigated. The respective prevalence rates for HCV, HBV, and HIV were 16.7%, 1.4%, and 0.7%. Age was a crucial determinant influencing HCV and HBV exclusively; gender had no discernible effect on HCV, HBV, or HIV. The self-reported positivity rates of HCV are 100%, as all known infections are seropositive, but 12.9% of those known not to be infected are seropositive, and 3.7% are equivocal. In the case of HBV, 75% of individuals known to be infected are HBsAg negative. For patients with a history of infection, HBsAg negative cases should undergo investigation for HB core total and HBsAb to assess their HBV infection status. However, for screening purposes

Table 1. Demographic characteristics of the patients

		Frequency (N)	Percent (%)	
Gender	male	92	66.7	
	female	46	33.3	
HB vaccine	no	116	84.1	
	yes	22	15.9	
Job	no or housewife	45	32.6	
	employee	14	10.1	
	skillful worker	17	12.3	
	worker	20	14.5	
	retired	22	15.9	
	student	10	7.2	
	farmer	8	5.8	
	health care worker	2	1.4	
	Total	138	100.0	
Upcoming operation	stones	36	26.1	
	endoscopy	68	49.3	
	stint	6	4.3	
	biopsy	1	.7	
	open surgery	26	18.8	
	renal donation	1	.7	
	Total	138	100.0	
Risk factors for infection	Drugs	no	113	81.9
		smoking	21	15.2
		cannabinoids	2	1.4
		tramadol	1	.7
		past history	1	.7
	Previous operation	yes	107	77.5
	Blood transfusion	yes	24	17.4
	Organ transplantation	no	138	100.0
	Previous endoscopy catheter	yes	59	42.8
	Tooth manipulation	yes	106	76.8
	Professional risk	yes	106	76.8
	Sharing personal tools	yes	10	7.2
	Total		138	100.0

Table 2. HCV Ab, HBsAg and HIV Ag/Ab results

	HCV Ab (n = 138)		HBsAg (n = 138)		HIV Ag/Ab (n = 138)	
Positive	23	16.7	2	1.4	1	0.7
Negative	110	79.7	136	98.6	137	99.3
Equivocal	5	3.3	-	-	-	-

Table 3. Investigating self-reported positivity rate of patients (HCV)

			HCV Ab result			Total	P value
			Negative	Positive	Equivocal		
Known HCV	no	Count	110	17	5	132	0.001
		% within HCV Ab	83.3%	12.9%	3.7%	100.0%	
	yes	Count	0	6	0	6	
		% within HCV Ab	0.0%	100.0%	0.0%	100.0%	
Total	Count	110	23	5	138		
	% within HCV Ab	79.7%	16.7%	3.6%	100.0%		

es, a positive history is sufficient to warrant precautions. 0.7% of known not to be HBV-infected cases are HBsAg positive, and for HIV, the only positive case did not know about the presence of infection. Despite the small number of HIV-positive cases, it is essential to know the patient’s condition before entering the operation to protect the surgeons and medical staff from the danger of virus transmission because of the threat it poses to their lives and the future of medical staff.

The corresponding prevalence rates for HCV, HBV, and HIV were 16.7%, 1.4%, and 0.7%. Ahmed A Dahab et al. [11] reported concordant rates for HCV, HBV (12.4%) (0.2%), respectively with higher HCV rates. As for HIV, Amgad Ali et al. [5] reported a rate of (0.15%), these results support higher HCV rate of infection compared to HBV rate of infection and lower HIV rates in Egypt. Takata et al. reported lower

rates of HCV infections (5.8%) and higher HBV rates (2.1%) in Japan compared to the current study [22]. Another study by Shintaro Sukegawa et al. [30] in Japan demonstrated lower rates for HCV (0.76%), HBV (0.39%), and HIV (0.07%) compared to the current findings. Another study in India by Manjul Mohan et al. [23] reported rates of HBV infections (2.09%), Hepatitis C virus infection rate (1.77%) with higher HBV rates compared to our results, HIV sero-positivity was found to be (0.25%) which is concordant with our study. Moreover, Akhtar Khan and Taranum Siddiqui [18] reported in Pakistan 1.8% subjects were found to be Hepatitis B positive, 1.2% subjects were found to be Hepatitis C positive with higher HBV rates compared to our results.

The outcomes of this work exhibit that gender does not have a significant impact on HBV, HCV, or

Table 4. Investigating self-reported positivity rate of patients (HBV)

			HBsAg results		Total	P value
			Negative	Positive		
Known HBV	no	Count	133	1	134	0.001
		% within HBsAg	99.3%	0.7%	100.0%	
	yes	Count	3	1	4	
		% within HBsAg	75.0%	25.0%	100.0%	
Total		Count	136	2	138	
		% within HBsAg	98.6%	1.4%	100.0%	

Table 5. Investigating self-reported positivity rate of patients (HIV)

			HIV Ag/Ab result		Total	P value
			Negative	Positive		
Known HIV	no	Count	137	1	138	Cannot be calculated
		% within HIVAg/Ab	100.0%	100.0%	100.0%	
Total		Count	137	1	138	
		% within HIVAg/Ab	100.0%	100.0%	100.0%	

Note. Odds ratio and p value can't be calculated.

Table 6. Association between age and HCV infection state

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	P value
					Lower Bound	Upper Bound			
Negative	110	48.109	16.2827	1.5525	45.032	51.186	10.0	87.0	0.015
Positive	23	58.783	17.7839	3.7082	51.092	66.473	19.0	80.0	
Equivocal	5	56.800	19.8671	8.8848	32.132	81.468	22.0	70.0	
Total	138	50.203	17.0504	1.4514	47.333	53.073	10.0	87.0	

Table 7. Association between age and both HBV and HIV infection state

HBsAg result	N	Mean	Std. Deviation	P value
Positive	2	25.000	8.4853	0.035
Negative	136	50.574	16.8802	
HIV Ag/Ab result	N	Mean	Std. Deviation	P value
Positive	1	59.000		0.606
Negative	137	50.139	17.0963	

HIV. However, these results contradict Amgad Ali et al. [5] reporting a higher HIV prevalence among males in Egypt. Moreover, Shintaro Sukegawa et al. [30], Tanaka et al. [31] and Manjul Mohan et al. [23] demonstrated that gender and age do have a significant influence on hepatitis, with younger men being more susceptible, these results contradict the current study results. These researchers attributed this to the higher prevalence of sexual activity among youth compared to older adults. Akhtar Khan and Taranum Siddiqui reported that Hepatitis B positive cases 61.5% were males and 38.4% were females with higher male rates contradicting our study while 1.2% subjects were found to be Hepatitis C positive, out of these 50% were males and 50% were females, this result agree with the current study result [18].

In the current work, a statistically substantial difference was detected regarding the HBV state of infection and age being higher in younger ages with a p-value of 0.035. This finding aligns with the results of Shintaro Sukegawa et al. [30], Tanaka et al. and Manjul Mohan et al. [12, 23].

For HCV, a statistically significant difference was detected regarding the state of infection and age being higher in older age with a p-value of 0.018. However, this result contrasts with Shintaro Sukegawa et al. and Tanaka et al. [12], as infection was more prevalent at a younger age. This difference may be related to the Egyptian government's effort and plan to eliminate the transmission of the virus, and this plan started years ago. As for HIV, there is no statistically significant difference between age and infection rate, these results contradict Amgad Ali et al. who reported high HIV prevalence among young persons and males, with high HIV prevalence among unemployed persons, manual workers and single persons [5].

This study detected a relationship between HBsAg-positive cases and previous blood transfusions, which are major risk factors for transmission. However, this agrees with the survey conducted by Candotti and Pierre [4].

Binkaa et al. [9] mentioned intravenous drug addiction as a significant risk factor for HBV, HCV, and HIV infection, but in the current study, there were no statistically significant differences between drug addiction and infections. However, this is due to the restriction of the type of addiction to oral tramadol and cannabinoids.

All screening tests incurred a cost of 56 442 LE. Specifically, HBV screening costs 16 560 LE, HCV screening costs 17 802 LE, and HIV screening costs 22 080 LE.

References

1. Abdel-Gawad M., Nour M., El-Raey F., Nagdy H., Almansoury Y., El-Kassas M. Gender differences in prevalence of hepatitis C virus infection in Egypt: a systematic review and meta-analysis. *Sci. Rep.*, 2023, vol. 13, no. 1: 2499. doi: 10.1038/s41598-023-29262-z
2. Ahmed R., Bhattacharya S. Universal screening versus universal precautions in the context of preoperative screening for HIV, HBV, HCV in India. *Indian J. Med. Microbiol.*, 2013, vol. 31, no. 3, pp. 219–225. doi: 10.4103/0255-0857.115623

In this study, the cost analysis showed that out of 138 screened patients, the total cost for cases with positive results for all viral infections was 4132 LE.

HBV-positive cases cost 360 LE; HCV-positive cases cost 2967 LE and 645 LE for equivocal, while for HIV-positive cases, the cost was 160 LE. Cost analysis for all screening tests was 56 442/27 positive cases = 2090.4 LE (with equivocal HCV results = 56 442/32 = 1763 LE) for HBV = 16 560/3 positive cases = 5520 LE/positive case. HCV = 17 802/23 positive cases = 774 LE/ positive case (HCV with equivocal 17 802/28 = 635.8 LE per non-negative case), HIV = 22 080/1 = 22 080 LE per positive case. However, this data indicates that HCV is the most efficient screening, followed by HBV.

Sukegawa et al [30] determined that the aggregate expenditure for HCV, HBV, and HIV screening amounted to 16 630 950 yen (\$138 591.3), 13 904 960 yen (\$116 174.7), and 14 274 400 yen (\$118 953.3), correspondingly. Screenings were conducted on 15 839, 15 842, and 12 745 cases, respectively, with HCV, HBV, and HIV infections. The cost per positive outcome for HBV (total HBV testing expense: 13 940 960 yen/62 positive cases), HCV (total HCV testing expense: 16 630 950 yen/153 positive cases), and HIV (HIV screening total expense: 14 274 400 yen/10 positive cases) was 224 854.2 yen (\$1873.8), 108 699.0 yen (\$905.8), and 1 427 440 yen (\$11 895.3), respectively. This result is in substantial agreement with the current findings, as it suggests that while the expense per positive outcome was beneficial for hepatitis, it was comparatively less effective for HIV.

Conclusion

In conclusion, our study investigated the prevalence of HBV, HCV, and HIV in patients scheduled for surgical operation in King Fahd unit Al-Kasr Al-ainy hospital Cairo University. The prevalence of HBV, HCV, and HIV was 1.4, 16.7, and 0.7%, respectively. Patients-assessment using questionnaires may be effective to some extent, but the screening accuracy was inadequate. Age was a significant factor affecting HBV and HCV, while gender does not affect infection state. The cost per positive result was useful for hepatitis, but less useful for HIV.

The current study should be expanded to include a larger sample size. Additionally, it is advisable to compare the cost per test with the cost of universal precautions. However, the current study did not include this comparison due to challenges in collecting data and determining the exact cost of these precautions.

3. Al-Amad S.H. Prevalence of hepatitis B, C, and HIV among patients attending a teaching dental hospital. A 7-year retrospective study from the United Arab Emirates. *Saudi Med J.*, 2018, vol. 39, no. 5, pp. 500–505. doi: 10.15537/smj.2018.5.22116
4. Allain J.P., Candotti D. Diagnostic algorithm for HBV safe transfusion. *Blood Transfus.*, 2009, vol. 7, no. 3, pp. 174–182. doi: 10.2450/2008.0062-08
5. Alzahaby A.A., Ghazy A.M., Abdelrazik O.M., Salem G.M. The prevalence of HIV infection among blood donors and patients undergoing surgical procedures in Alhussien university hospital. *Al-Azhar Int. Med. J.*, 2023, vol. 4, no. 7: 41.
6. Ameen S.G., Rageh I.M., Essa E., Mohammed Farid El Zamek E. Prevalence of hepatitis C antibodies among health care workers at Benha Hospitals. *Egypt. Benha Med. J.*, 2020, vol. 37, no. 3, pp. 477–487. doi: 10.21608/bmfj.2020.103528
7. Anwar W.A., El Gaafary M., Girgis S.A., Rafik M., Hussein W.M., Sos D., Mossad I.M., Fontanet A., Temime L. Hepatitis C virus infection and risk factors among patients and health-care workers of Ain Shams University hospitals, Cairo, Egypt. *PLoS One*, 2021, vol. 16, no. 2: e0246836. doi: 10.1371/journal.pone.0246836
8. Azzam A., Khaled H., Elbohy O.A., Mohamed S.A., Mohamed S.M.H., Abdelkader A.H., Ezzat A.A., Elmowafy A.O.I., El-Emam O.A., Awadalla M., Refaey N., Rizk S.M.A. Seroprevalence of hepatitis B virus surface antigen (HBsAg) in Egypt (2000–2022): a systematic review with meta-analysis. *BMC Infect. Dis.*, 2023, vol. 23, no. 1: 151. doi: 10.1186/s12879-023-08110-5
9. Binka M., Butt Z.A., McKee G., Darvishian M., Cook D., Wong S., Yu A., Alvarez M., Samji H., Wong J., Krajden M., Janjua N.Z. Differences in risk factors for hepatitis B, hepatitis C, and human immunodeficiency virus infection by ethnicity: a large population-based cohort study in British Columbia, Canada. *Int. J. Infect. Dis.*, 2021, vol. 106, pp. 246–253. doi: 10.1016/j.ijid.2021.03.061
10. Boutros S., Skordis J. HIV/AIDS surveillance in Egypt: current status and future challenges. *East Mediterr Health J.*, 2010, vol. 16, no. 3, pp. 251–258.
11. Dahab A.A., Youssef M.M., Eid H.M., Elsadi K.W. Reporting the undiagnosed cases of hepatitis B and hepatitis C viruses among patients undergoing elective eye surgery in a specialized eye hospital in Egypt. *J. Ophthalmol.*, 2019, no. 2019: 3985865. doi: 10.1155/2019/3985865
12. Gerberding J.L. Does knowledge of human immunodeficiency virus infection decrease the frequency of occupational exposure to blood? *Am. J. Med.*, 1991, vol. 91, no. 3B, pp. 308S–311S. doi: 10.1016/0002-9343(91)90387-d
13. Hassan E.E., Eltomy E.M., Abuzeid Khalefa M. The Impact of contraceptive use on women health: a study of rural area, Minia, Egypt. *Medico-legal Update*, 2021, vol. 21, no. 3.
14. Hebo H.J., Gameda D.H., Abdusemed K.A. Hepatitis B and C viral infection: prevalence, knowledge, attitude, practice, and occupational exposure among healthcare workers of Jimma University Medical Center, Southwest Ethiopia. *Scientific World Journal*, 2019, no. 2019: 9482607. doi: 10.1155/2019/9482607
15. Hiva S., Negar K., Mohammad-Reza P., Gholam-Reza G., Mohsen A., Ali-Asghar N.G., Mohammed-Jafar S. High level of vaccination and protection against hepatitis B with low rate of HCV infection markers among hospital health care personnel in north of Iran: a cross-sectional study. *BMC Public Health*, 2020, vol. 20, no. 1: 920. doi: 10.1186/s12889-020-09032-6
16. Ijoma U.N., Meka I.A., Omotowo B., Nwagha T.U., Obienu O., Onodugo O.D., Onyekonwu C.L., Okoli E.V., Ndu A.C., Ugwu E.O. Sero-prevalence of Hepatitis B virus infection: a cross-sectional study of a large population of health care workers in Nigeria. *Niger J. Clin. Pract.*, 2021, vol. 24, no. 1, pp. 38–44. doi: 10.4103/njcp.njcp_671_19
17. Karim H.M.R., Mistry T. Influence of workplace, location and experience on preoperative routine viral screening tests: a post-hoc observation from an online survey. *The Ulutas Med. J.*, 2020, vol. 6, no. 2, pp. 74–79. doi: 10.5455/umj.20200311082916
18. Khan A.J., Siddiqui T.R. Prevalence and Importance of hepatitis B & C screening in cases undergoing elective eye surgery. *Pakistan J. Ophthalmol.*, 2007, vol. 23, no. 01.
19. Mabunda N., Vieira L., Chelene I., Maueia C., Zicai A.F., Duajá A., Chale F., Chambal L., Vubil A., Augusto O. Prevalence of hepatitis B virus and immunity status among healthcare workers in Beira City, Mozambique. *PLoS One*, 2022, vol. 17, no. 10: e0276283. doi: 10.1371/journal.pone.0276283
20. Machange R.E., Mosha D., Pyuza J.J., Nyombi B.B., Shao E.R. Seroprevalence and knowledge of hepatitis B virus infection among laboratoryworkers at Kilimanjaro Christian Medical Centre in Moshi, Tanzania. *East Afr. Health Res. J.* 2017, vol. 1, no. 2, pp. 80–85. doi: 10.24248/EHRJ-D-16-00362
21. Mercan Başpınar M. Screening of hepatitis A and B seropositivity among Turkish healthcare providers admitted to occupational health services. *Int. J. Clin. Pract.*, 2022, no. 2022: 6065335. doi: 10.1155/2022/6065335
22. Ministry of health and population. Egypt health issues survey 2015. *El-Zanaty and Associates Cairo, Egypt The DHS Program ICF International Rockville, Maryland, USA.*
23. Mohan M., Sharma M., Pandey C.P., Agarwal A. Preoperative Screening of HIV, HBV, HCV essential for surgical team and patients both — a research study in department of surgery, tertiary care institute of north india, rohilkhand medical college and hospital, Bareilly (U.P.) India. *Int. J. Contemp. Med. Res.*, 2018. doi: 10.21276/ijcmr.2018.5.7.22
24. Monif G.R., Sebastian F., Baker D.A. Infectious diseases in obstetrics and gynecology. *CRC Press*, 2008. doi: 10.3109/9781439801994
25. Munier A., Marzouk D., Abravanel F., El-Daly M., Taylor S., Mamdouh R., Eldin W.S., El-Arab H.E., Sos D.G., Momen M., Okasha O., Le Foulter L., El-Hosini M., Izopet J., Rafik M., Albert M., Abdel-Hamid M., Mohamed M.K., Delarocque-Astagneau E., Fontanet A. Frequent transient hepatitis C viremia without seroconversion among healthcare workers in Cairo, Egypt. *PLoS One*. 2013, vol. 8, no. 2: e57835. doi: 10.1371/journal.pone.0057835
26. Naguib G.G., Farid A., Hassan M., Elshafie A., Shazly Y.E., Shaker M.K., Ezzat H., Safwat E., Ahmed O.A., Dabbous H., Sherief A.F., Hassany M., Elserafy M., Elsayed M.H. Direct-acting antiviral regimens in Egyptian patients with chronic hepatitis C virus infection: a real-world single-center experience. *Arab J. Gastroenterol.*, 2021, vol. 22, no. 4, pp. 285–291. doi: 10.1016/j.ajg.2021.06.001
27. Nayyar C., Saksena R., Manchanda V. Prevalence of transfusion-transmitted viral pathogens among health-care workers and risk mitigation programme in a paediatric tertiary care hospital. *Indian J. Med. Microbiol.*, 2017, vol. 35, no. 2, pp. 296–298. doi: 10.4103/ijmm.IJMM_15_133

28. Nikolopoulou G.B., Tzoutzas I., Tsakris A., Maltezou H.C. Hepatitis B in healthcare personnel: an update on the global landscape. *Viruses*, 2023, vol. 15, no. 12: 2454. doi: 10.3390/v15122454
29. Scully C., Greenspan J.S. Human immunodeficiency virus (HIV) transmission in dentistry. *J. Dent. Res.*, 2006, vol. 85, no. 9, pp. 794–800. doi: 10.1177/154405910608500903
30. Sukegawa S., Sukegawa Y., Hasegawa K., Ono S., Nakamura T., Fujimura A., Fujisawa A., Nakano K., Takabatake K., Kawai H., Mukainaka Y., Nagatsuka H., Furuki Y. The effectiveness of pre-operative screening tests in determining viral infections in patients undergoing oral and maxillofacial surgery. *Healthcare (Basel)*, 2022, vol. 10, no. 7: 1348. doi: 10.3390/healthcare10071348
31. Tanaka E., Alter H.J., Nakatsuji Y., Shih J.W., Kim J.P., Matsumoto A., Kobayashi M., Kiyosawa K. Effect of hepatitis G virus infection on chronic hepatitis C. *Ann. Intern. Med.*, 1996, vol. 125, no. 9, pp. 740–743. doi: 10.7326/0003-4819-125-9-199611010-00007
32. Tarantola A., Abiteboul D., Rachline A. Infection risks following accidental exposure to blood or body fluids in health care workers: a review of pathogens transmitted in published cases. *Am. J. Infect. Control*, 2006, vol. 34, no. 6, pp. 367–375. doi: 10.1016/j.ajic.2004.11.011
33. Tatar M., Keeshin S.W., Mailliard M., Wilson F.A. Cost-effectiveness of universal and targeted hepatitis C virus screening in the United States. *JAMA Netw Open*, 2020, vol. 3, no. 9: e2015756. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.15756

Авторы:

Ханна Х.У.З., врач клинической и химической патологии, преподаватель клинической и химической патологии, Каср Аль Айни — медицинский факультет, Каирский университет, Каир, Египет;

Шахин Р.М.Х., врач, профессор клинической и химической патологии, Каср Аль Айни — медицинский факультет, Каирский университет, Каир, Египет;

Сами Л.А., врач, преподаватель клинической и химической патологии, Каср Аль Айни — медицинский факультет, Каирский университет, Каир, Египет.

Authors:

Hanna H.W.Z., MD of Clinical and Chemical Pathology, Lecturer of Clinical and Chemical Pathology, Kasr Al Ainy, Faculty of Medicine, Cairo University, Cairo, Egypt;

Shahin R.M.H., MD and Professor of Clinical and Chemical Pathology, Kasr Al Ainy, Faculty of Medicine, Cairo University, Cairo, Egypt;

Samy L.A., MD and Lecturer of Clinical and Chemical Pathology, Kasr Al Ainy, Faculty of Medicine, Cairo University, Cairo, Egypt.

Поступила в редакцию 26.05.2024
Отправлена на доработку 16.08.2024
Принята к печати 02.09.2024

Received 26.05.2024
Revision received 16.08.2024
Accepted 02.09.2024

ОЦЕНКА ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИН ПРОТИВ ГРИППА И COVID-19 В СЕЗОНЫ 2020–2021, 2021–2022, 2022–2023 В НОВОСИБИРСКЕ

Т.А. Сароян¹, О.Г. Курская¹, М.В. Соломатина¹, К.А. Шаршов¹, Шестопапов А.М.¹, М.К. Ерофеева², М.А. Стукова², Ж.В. Бузицкая², Д.А. Лиознов^{2,3}

¹ Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины (ФИЦ ФТМ), г. Новосибирск, Россия

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

³ ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Вакцинация является стратегически обоснованным способом защиты от управляемых инфекций, способствуя не только предотвращению развития заболевания и тяжелых осложнений, но также снижая экономические потери государства, траты на более дорогостоящее лечение и реабилитацию больных. Целью исследования была оценка эпидемиологической эффективности отечественных вакцин против гриппа и COVID-19 в эпидемиологические сезоны 2020–2021, 2021–2022 и 2022–2023 гг. в Новосибирске. *Материалы и методы.* Эпидемиологическая эффективность отечественных вакцин от против гриппа и COVID-19 была изучена в проспективных когортных исследованиях. Для участия в исследовании всего отобрано 9000 человек мужского и женского пола в соответствии с критериями включения в исследование, с дальнейшим взятием носоглоточных образцов для верификации возбудителя инфекций. Вакцинацию проводили в предэпидемические периоды в течение трех сезонов: с сентября по декабрь в 2020, 2021 и 2022 гг. *Результаты.* В первый период исследования (сезон 2020–2021 гг.) в НСО не было зарегистрировано ни одного случая заболевания, вызванного вирусом гриппа. В связи с этим не представлялось возможным провести сравнительную оценку эпидемиологического эффекта противогриппозных вакцин. Во второй период исследования (сезон 2021–2022 гг.) заболеваемость гриппом среди невакцинированных составила 2,6%, среди привитых случаев гриппа не выявлено, что также не позволило провести оценку профилактического эффекта вакцинации. За исследуемый период заболеваемость среди невакцинированных от COVID-19 составила 21,9%, среди привитых — 3,1%. При оценке эффективности отечественных вакцин от COVID-19 в указанный период было показано, что ИЭ составил 7,06, КЭ = 85,8%. В третий период исследования (сезон 2022–2023 гг.), заболеваемость гриппом составила 8,8% среди невакцинированных исследуемых, и 0,3% среди привитых. ИЭ составил 29,3, КЭ = 96,6%. Заболеваемость COVID-19 среди невакцинированных от COVID-19 составила 3,6%, среди привитых — 0,25. ИЭ составил 14,4, КЭ = 93,1%. *Выводы.* При анализе эпидемиологической эффективности вакцин от COVID-19 было выявлено, что в сезоны 2021–2022 и 2022–2023 гг. вакцинированные против COVID-19 взрослые люди болели в 7,1–14,4 раз реже непривитых, показатель защищенности составил от 85,8% до 93,1%. В ходе исследования обнаружены значительные изменения этиологической

Адрес для переписки:

Сароян Тереза Араевна
630117, Россия, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2,
Федеральный исследовательский центр фундаментальной
и трансляционной медицины.
Тел.: 8 (383) 274-94-23. E-mail: tataroian@frcftm.ru

Contacts:

Teresa A. Saroyan
630117, Russian Federation, Novosibirsk, Timakov str., 2,
Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine.
Phone: +7 (383) 274-94-23. E-mail: tataroian@frcftm.ru

Для цитирования:

Сароян Т.А., Курская О.Г., Соломатина М.В., Шаршов К.А., Шестопапов А.М., Ерофеева М.К., Стукова М.А., Бузицкая Ж.В., Лиознов Д.А. Оценка эпидемиологической эффективности вакцин против гриппа и COVID-19 в сезоны 2020–2021, 2021–2022, 2022–2023 в Новосибирске // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 134–142. doi: 10.15789/2220-7619-AOI-17672

Citation:

Saroyan T.A., Kurskaya O.G., Solomatina M.V., Sharshov K.A., Shestopalov A.M., Erofeeva M.K., Stukova M.A., Buzitskaya Zh.V., Lioznov D.A. Assessment of influenza and COVID-19 vaccine epidemiologic efficacy in the 2020–2021, 2021–2022, 2022–2023 seasons in Novosibirsk // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 134–142. doi: 10.15789/2220-7619-AOI-17672

Сбор образцов выполнен при поддержке гранта РФФ № 23-64-00005 ПЦР за счет государственного задания № 122012400086-2.
Sample collection was supported by Russian Science Foundation grant No. 23-64-00005 PCR under state assignment No. 122012400086-2.

структуры ОРВИ у заболевших во время пандемии COVID-19. Полученные результаты могут свидетельствовать об утрате доминирующей роли SARS-CoV-2 в структуре ОРВИ в 2023 г. и постепенном возвращении в активную циркуляцию вирусов гриппа и других возбудителей ОРВИ.

Ключевые слова: вакцинация, эпидемиологическая эффективность вакцин, индекс эффективности, коэффициент эффективности, грипп, SARS-CoV-2, проспективное когортное исследование.

ASSESSMENT OF INFLUENZA AND COVID-19 VACCINE EPIDEMIOLOGIC EFFICACY IN THE 2020–2021, 2021–2022, 2022–2023 SEASONS IN NOVOSIBIRSK

Saroyan T.A.^a, Kurskaya O.G.^a, Solomatina M.V.^a, Sharshov K.A.^a, Shestopalov A.M.^a, Erofeeva M.K.^b, Stukova M.A.^b, Buzitskaya Zh.V.^b, Lioznov D.A.^{b,c}

^a Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine (FRC FTM), Novosibirsk, Russian Federation

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

^c Pavlov First St. Petersburg State Medical University (Pavlov University), St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Vaccination prevents the development of disease and severe complications, as well as reducing economic losses and expenditure on costly treatments and rehabilitation. Goal. The goal of this study is to assess the epidemiological effectiveness of domestic influenza and COVID-19 vaccines during the epidemic seasons 2020–2021, 2021–2022, and 2022–2023 in Novosibirsk. *Materials and methods.* We conducted prospective cohort studies to evaluate the effectiveness of domestic influenza and COVID-19 vaccines. A total of 9000 men and women were selected to participate in the study based on inclusion criteria. Nasopharyngeal samples were collected to verify the presence of relevant causative agents. Vaccines were administered during pre-epidemic seasons from September to December in 2020, 2021, and 2022. *Results.* During the first period (2020–2021), no cases of influenza disease were reported in the Novosibirsk district, so it was impossible to compare the effectiveness of influenza vaccines. However, during the second period (2021–2022), influenza incidence among unvaccinated individuals was 2.6%. No cases were detected among vaccinated individuals, which also not allowed to assess vaccination preventive effect. During the study period, COVID-19 incidence was 21.9% and 3.1% among unvaccinated vs. vaccinated people, respectively. When evaluating the effectiveness of domestic COVID-19 vaccines during this period, the incidence of infection (IE) was 7.06 and the clinical effectiveness (CE) was 85.8%. In the third period of the study (the 2022–2023 season), influenza incidence was 8.8% among unvaccinated subjects and 0.3% among vaccinated subjects. The incidence of COVID-19 infection among unvaccinated and vaccinated subjects was 3.6% and 0.25%, respectively. *Conclusion.* When analyzing the epidemiological effectiveness of COVID-19 vaccines, it was found that adults vaccinated against COVID-19 in the 2021–2022 and 2022–2023 seasons were 7.1–14.4 times less likely to become infected. The protection rate ranged from 85.8% to 93.1%, indicating the effectiveness of the vaccines. The study also revealed significant changes in the etiological pattern of acute respiratory viral infections during the COVID-19 pandemic. These results may indicate a loss of the dominant role for SARS-CoV-2 in acute respiratory infections in 2023 and a gradual return to the active circulation of other viruses, such as influenza and other pathogens.

Key words: vaccination, epidemiologic efficacy of vaccines, efficacy index, efficacy ratio, influenza, SARS-CoV-2, prospective cohort study.

Введение

Грипп и острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) занимают лидирующее место по частоте и количеству заболеваний. Во время эпидемических вспышек гриппа в мире ежегодно регистрируют до 5 млн тяжелых случаев заболевания и до 500 000 летальных исходов [4]. Появление нового варианта коронавируса SARS-CoV-2 в декабре 2019 г. и его быстрое распространение привело к катастрофическим последствиям — развитию пандемии. По состоянию на 31 марта 2024 г. зарегистрировано более 774 млн случаев заболевания по всему миру; подтверждено более 7 млн летальных исходов [13], что характеризует пандемию COVID-19 как одну из самых смертоносных в истории человечества [11].

Вакцинация является стратегически обоснованным способом защиты от вирусных и бактериальных инфекций, способствуя предотвращению развития заболевания и тяжелых ослож-

нений как у детей, так и у взрослых, включая пожилых людей и другие группы риска с сопутствующей хронической патологией.

Эффективность вакцинопрофилактики гриппа подтверждена многочисленными исследованиями по таким критериям, как снижение заболеваемости, доли госпитализированных пациентов и смертности [3, 6]. В обеспечении адекватной защиты от гриппа наиболее важным фактором является совпадение штаммового состава вакцины с циркулирующими в эпидемическом сезоне вирусами, что позволяет снизить заболеваемость гриппом на 90%, в целом ОРВИ на 56% и на 45% — число госпитализаций, связанных с осложнениями после перенесенного заболевания [1, 2, 6, 7]. В настоящее время в России зарегистрированы и применяются отечественные трех- и четырехвалентные инактивированные гриппозные вакцины (ИГВ): расщепленные (сплит) вакцины (Ультрикс, Ультрикс Квадри, ФлюМ, ФлюМ тетра) и субъединичные (Гриппол, Гриппол Плюс, Гриппол Квадривалент, Совигрипп) [2, 3].

Многочисленными исследованиями подтверждена хорошая переносимость, низкая реактогенность и высокий профиль безопасности как расщепленных, так и субъединичных вакцин [2, 6].

В Российской Федерации для вакцинации против COVID-19 взрослых лиц зарегистрированы следующие типы вакцин: инактивированная цельновирионная вакцина КовиВак, вакцины на основе аденовекторов (Гам-КОВИД-Вак — Спутник V) Спутник Лайт), рекомбинантная белковая вакцина ЭпиВакКорона. Быстрая разработка и внедрение отечественных вакцин против COVID-19 позволили в короткие сроки сократить заболеваемость, число тяжелых случаев заболевания и смертельных исходов, связанных с COVID-19 [8, 12].

Вместе с тем многие аспекты массовой вакцинации населения в условиях сочетанной циркуляции вирусов гриппа и SARS-CoV-2, обладающих высоким потенциалом генетической изменчивости, требуют ежегодной оценки эффективности вакцинации против данных возбудителей.

Цель — оценка эпидемиологической эффективности отечественных вакцин против гриппа и COVID-19 в эпидемические сезоны 2020–2021, 2021–2022 и 2022–2023 гг. в Новосибирске.

Материалы и методы

Эпидемиологическая эффективность отечественных вакцин от против гриппа и COVID-19 была изучена в проспективных когортных исследованиях на базе ФГБНУ «ФИЦ ФТМ» в рамках выполнения Государственного задания ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России «Долгосрочная оценка коллективного иммунитета и эффективности специфической профилактики населения в условиях динамической циркуляции возбудителей COVID-19 и гриппа в Российской Федерации». Проведение исследований одобрено Комитетом по биомедицинской этике при ФИЦ ФТМ (протокол № 4-2019, № 8-2020, № 10-2021, № 8-2022).

Отбор пациентов. Клиническими базами для проведения исследования явились две медицинских организации Новосибирской области (НСО): ГБУЗ НСО «ГКП № 14», клиника ФИЦ ФТМ. В исследовании приняли участие 9000 человек. Критериями включения участников в исследования являлись:

1. Здоровые люди мужского и женского пола в возрасте от 18 лет и старше.

2. Наличие подписанного добровольного информированного согласия на участие в исследовании.

Вакцинацию проводили в предэпидемические периоды в течение трех сезонов: с сентября по декабрь 2020, 2021 и 2022 гг. В сезон 2020–2021 гг. исследуемые были привиты вакцинами «Ультрикс Квадри», «Совигрипп» и «Гриппол Плюс» в рамках Национального календаря про-

филактических прививок. В сезоны 2021–2022 и 2022–2023 гг. исследуемые привиты вакцинами от COVID-19: «ЭпиВакКорона», «КовиВак», «Спутник Лайт» и «Гам-КОВИД-Вак» и противогриппозной вакциной «Ультрикс Квадри».

В период наблюдения осуществляли сбор данных о заболеваемости участниками острыми респираторными вирусными инфекциями, информацию о которых вносили в индивидуальные регистрационные карты (ИРК).

Взятие образцов. С целью этиологической верификации возбудителя гриппоподобного заболевания проводили забор биологических образцов у всех участников исследования, обратившихся за помощью в медицинские организации по поводу респираторных заболеваний. Биологический материал из верхних дыхательных путей (мазки из полости носа, носоглотки) использовали для проведения ПЦР-диагностики на грипп, COVID-19 и ОРВИ на базе ФИЦ ФТМ. Взятие образцов осуществляли не ранее 12 часов и не позднее 4 суток от начала заболевания в случае острой инфекции верхних дыхательных путей или не позднее 7 суток — в случае острой инфекции нижних дыхательных путей. За весь период наблюдения было взято и исследовано 870 носоглоточных мазков.

При заборе носоглоточного мазка заполняли направление на исследование, где отражалась следующая информация: дата забора, номер ИРК, возраст, пол, сведения о вакцинации против гриппа и COVID-19, дата начала заболевания, тяжесть заболевания, клинический диагноз, эпидемический анамнез, противовирусная терапия, наличие сопутствующих хронических заболеваний.

Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени. ПЦР для выявления генетического материала вируса гриппа типа А (в том числе субтипа А(H1N1)pdm09) и В, а также нового коронавируса SARS-CoV-2 проводили с помощью набора реагентов «АмплиПрайм SARS-CoV-2/Flu(A/B/H1pdm09)» («НекстБио», Россия) с последующим субтипированием вируса гриппа А с помощью набора реагентов «АмплиСенс Influenza virus A-тип-FL» (ИнтерЛабСервис, Россия). Выявление генетического материала вирусов, вызывающих острые респираторные заболевания (респираторно-синцитиальный вирус, риновирусы, метапневмовирус, вирусы парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов, коронавирусы, аденовирусы групп В, С и Е, бокавирус) проводили с использованием набора реагентов «АмплиСенс ОРВИ-скрин-FL» (ИнтерЛабСервис, Россия).

Оценка эффективности вакцин. Для оценки эпидемиологической эффективности вакцинации проводили активное наблюдение за вакцинированными и невакцинированными участниками исследования с целью выявления случаев гриппоподобных заболеваний и заболеваний, вызванных SARS-CoV-2, в период эпидемичес-

кого подъема заболеваемости ОРВИ и гриппом. Профилактическую эффективность определяли по двум показателям — индекс эффективности (ИЭ) и коэффициент эффективности (КЭ):

$$\text{ИЭ} = b/a \text{ (1)}, \text{ КЭ} = 100\% \times (b - a)/b(2),$$

где a — заболеваемость среди вакцинированных, b — заболеваемость среди невакцинированных.

Статистический анализ. Для создания базы данных и графической обработки результатов применена программа MS Excel 2016. Статистический анализ выполнен с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 и программного модуля «Анализ данных» программы MS Excel 2016. Средние выборочные значения количественных признаков представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее арифметическое, а m — стандартное отклонение. Для статистической обработки полученных данных использованы параметрические и непараметрические методы статистики, выбор которых обусловлен характером распределения изучаемых признаков и видом анализируемых материалов: для количественных — критерий Стьюдента или дисперсионный анализ; для качественных и порядковых — критерии Манна–Уитни и Хи-квадрат. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

В эпидемический сезон 2020–2021 гг. под наблюдением находились 3000 человек мужского и женского пола, которые были распределены на 4 группы (табл. 1); в сезоны 2021–2022, 2022–2023 гг. — 6000 человек, которые были распределены на 6 групп (табл. 2).

Вакцинацию проводили в соответствии с инструкциями по применению исследуемых вакцин.

Оценка профилактической эффективности вакцин против гриппа и COVID-19

Сезон 2020–2021 гг. За исследуемый период заболеваемость ОРВИ негриппозной этиологии среди невакцинированных участников исследования составила 83,4%, в группе вакцинированных — 19,3%. Оценка полученных результатов наблюдения показала, что заболеваемость ОРВИ в группе привитых была в 4,32 раза ниже по срав-

нению с невакцинированными лицами ($p < 0,05$, $\chi^2 = 4,03$). ИЭ составил 4,32; КЭ — 76,85%. Случаев заболеваний гриппом в сезон 2020–2021 г. отмечено не было.

Сезон 2021–2022 гг. Заболеваемость гриппом у невакцинированных участников исследования составила 2,6%; среди вакцинированных случаев гриппа выявлено не было.

За исследуемый период заболеваемость COVID-19 среди невакцинированных лиц составила 21,9%, в группе вакцинированных — 3,1%. ИЭ составил 7,06; КЭ — 85,8%. Оценка полученных результатов наблюдения показала, что заболеваемость COVID-19 в группе привитых была в 7,06 раз ниже по сравнению с вакцинированными лицами ($p < 0,05$, $\chi^2 = 10,63$). Значимых различий между группами в отношении заболеваемости ОРВИ обнаружено не было (табл. 4).

Сезон 2022–2023 гг. Заболеваемость гриппом среди невакцинированных участников исследования составила 8,8%; среди вакцинированных — 0,3%. ИЭ составил 29,3; КЭ — 96,6%. Оценка полученных результатов наблюдения показала, что заболеваемость гриппом в группе привитых была 29,3 раз ниже по сравнению с невакцинированными лицами ($p < 0,05$; $\chi^2 = 3,92$).

За исследуемый период заболеваемость COVID-19 среди невакцинированных от COVID-19 составила 3,6%, среди вакцинированных — 0,25%. ИЭ составил 14,4; КЭ — 93,1%. Значимых различий между группами по заболеваемости ОРВИ и COVID-19 обнаружено не было (табл. 5).

Этиологическая структура заболеваемости

Все полученные образцы были исследованы на наличие генетического материала вирусов гриппа типа А и В, респираторно-синцитиального вируса, риновируса, метапневмовируса, вируса парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов, сезонных коронавирусов штаммов ОС 43, НКУ-1, NL-63, 229Е, аденовируса групп В, С и Е, бокавируса, нового коронавируса SARS-CoV-2.

Сезон 2020–2021 гг. В период предполагаемого эпидемического подъема заболеваемости гриппом и ОРВИ на территории НСО, с 28.10.2020 по 30.04.2021, у заболевших участников исследования были взяты носоглоточные мазки для этиологической расшифровки заболевания.

Таблица 1. Характеристика исследуемых групп в эпидемический сезон 2020–2021 гг.

Table 1. Characteristics of the study groups during the epidemic season of 2020–2021

Группа Group	Количество исследуемых (n) The number of subjects studied (n)	Вакцины Vaccines	
		Наименование Name	Производитель Manufacturer
1	700	Ультрикс® Квадри/Ultrix® Quadri	ООО «ФОРТ», Россия/FORT, Russia
2	700	Совигрипп®/Sovigripp®	АО «НПО «Микроген», Россия/NPO Microgen, Russia
3	600	Гриппол® Плюс/Grippol® Plus	«НПО Петровакс Фарм», Россия/NPO Petrovax Pharm, Russia
4	1000	Непривитые/Unvaccinated	—

Таблица 2. Характеристика исследуемых групп в эпидемические сезоны 2021–2022, 2022–2023 гг.

Table 2. Characteristics of the studied groups in the epidemic seasons 2021–2022, 2022–2023

Группа Group	Количество исследуемых (n) The number of subjects studied (n)	Вакцины Vaccines	
		Наименование Name	Производитель Manufacturer
1	1563	Ультрикс® Квадри Ultrix® Quadri	ООО «ФОРТ», Россия FORT, Russia
2	548	ЭпиВакКорона EpiVacCorona	ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Россия State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Russia
3	850	КовиВак CoviVac	ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН», Россия Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products, Russia
4	910	Спутник Лайт Sputnik Light	ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Russia
5	987	Гам-КОВИД-Вак Gam-COVID-Vac	ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Russia
6	1142	Непривитые Unvaccinated	–

Всего в исследуемый период были взяты мазки у 181 заболевшего, находящегося под наблюдением: 35 мазков от вакцинированных и 146 — от непривитых лиц.

Возрастной диапазон пациентов составил 18–74 года, причем от пожилых людей в возрасте старше 60 лет было получено 3 образца, что составило 1,7% (3/181) от общего количества проб. 58/181 (32,0%) образцов было получено от мужчин и 123/181 (68,0%) образцов — от женщин. Среди всех исследованных образцов 45,3% (80/181) оказались положительными на наличие генетического материала хотя бы одного респираторного вируса.

У наблюдаемых участников исследования в период с октября 2020 г. по апрель 2021 г. не было выявлено ни одного случая заболевания, вызванного вирусом гриппа. Среди возбудите-

лей ОРВИ негриппозной этиологии чаще всего выявляли риновирус — в 21,0% (38/181) случаев и вирус SARS-CoV-2 — в 12,7% (23/181) случаев. Следующими по частоте встречаемости были метапневмовирус и сезонные коронавирусы, составив 6,6% (12/181) и 4,9% (9/181) случаев соответственно. Процент детекции заболеваний, вызванных вирусами парагриппа и аденовирусами, составил 3,3% (6/181) и 0,6% (1/181) соответственно. Случаев инфекции, вызванной респираторно-синцитиальным вирусом и бокавирусом, зарегистрировано не было.

Среди невакцинированных пациентов (n = 146) доля проб, ПЦР-положительных хотя бы на один вирус, составила 42,5% (62/146), доля ПЦР-отрицательных проб — 57,5% (84/146). Среди вакцинированных от гриппа пациентов (n = 35) 51,4% (18/35) проб были ПЦР-положительными хотя бы на один вирус, 49,6% (17/35) не были верифицированы.

Частота выявления случаев коинфекции составила 6,1% (11/181): от невакцинированных пациентов была выявлена в 6,2% (9/146) случаев, среди вакцинированных — в 5,7% (2/35) случаев. Наиболее часто встречались комбинации из следующих вирусов: HMPV+HRV+HCoV — 5 раз, HMPV+HPIV+HCoV — 3 раза, HMPV+HCoV+HBoV — 2 раза и SARS-CoV-2+HRV — 1 раз.

Сезон 2021–2022 гг. В период предполагаемого эпидемического подъема заболеваемости гриппом и ОРВИ на территории НСО, с 24.11.2021 по 01.05.2022 у заболевших участников исследования были взяты носоглоточные мазки для этиологической расшифровки заболевания. Всего в исследуемый период было взято 399 мазков: 208 мазков были получены от невакцинированных участников исследования и 191 мазок — от привитых лиц, из них 59 человек были вакцинированы от гриппа, 40 человек от гриппа и COVID-19, 92 человека вакцинированы от COVID-19.

Таблица 3. Заболеваемость среди вакцинированных и невакцинированных участников исследования в сезон 2020–2021 гг.

Table 3. Comparison of morbidity rates between vaccinated and unvaccinated participants in the 2020–2021 season

	Привитые от гриппа Vaccinated against influenza	Непривитые Unvaccinated
Заболеваемость гриппом* The incidence of influenza*	–	–
Заболеваемость ОРВИ* The incidence of SARS*	19,3**	83,4**
Заболеваемость COVID-19* The incidence of COVID-19*	5,5	7,2

Примечание. * — % от числа обследованных пациентов;
** — достоверные различия (p < 0,05).

Note. * — % of the number of examined patients;
** — significant differences (p < 0.05).

Таблица 4. Заболеваемость среди вакцинированных и невакцинированных участников исследования в сезон 2021–2022 гг.

Table 4. Comparison of morbidity rates between vaccinated and unvaccinated participants in the 2021–2022 season

	Привитые от гриппа Vaccinated against influenza	Непривитые Unvaccinated	Привитые от SARS-CoV-2 Vaccinated against SARS-CoV-2	Непривитые Unvaccinated
Заболеваемость гриппом* The incidence of influenza*	–	2,6	1,5	2
Заболеваемость ОРВИ* The incidence of SARS*	3,2	5,0	3,5	4,7
Заболеваемость COVID-19* The incidence of COVID-19*	21,3	19,3	3,1**	21,9**

Примечание. * — % от числа обследованных пациентов; ** — достоверные различия ($p < 0,05$).Note. * — % of the number of examined patients; ** — significant differences ($p < 0.05$).

Возрастной диапазон пациентов составил 18–90 лет; от пожилых людей в возрасте старше 60 лет было получено 69 образцов, что составило 17,3% (69/399) от общего количества образцов; 165/399 (41,3%) образцов было получено от мужчин и 234/399 (58,6%) образцов — от женщин.

47,6% (190/399) образцов были ПЦР-негативны на наличие генетического материала респираторных вирусов и 52,4% (209/399) являлись положительными.

Среди возбудителей ОРВИ чаще всего выявляли новый коронавирус SARS-CoV-2 — в 40,6% (162/399) случаев и вирусы гриппа — в 3,5% (14/399) случаев. Следующим по частоте встречаемости стал риновирус, составив 3,0% (12/399) случаев. Процент детекции заболеваний, вызванных сезонными коронавирусами и респираторно-синцитиальным вирусом составил 1,7% (7/399) каждый, вирусами парагриппа и бокавирусом — 1,2% (5/399) и 0,5% (2/399), соответственно. Случаев инфекции, вызванной аденовирусом и метапневмовирусом, не было зарегистрировано. При этом среди невакцинированных пациентов ($n = 208$) доля проб, ПЦР-положительных хотя бы на один вирус ОРВИ, составила 58,2% (121/208), доля ПЦР-отрицательных проб — 41,8% (109/208). 46,1% (88/191) проб пациентов, вакцинированных от гриппа и COVID-19 ($n = 191$), были ПЦР-положительными хотя бы на один вирус ОРВИ, а 53,9% (81/191) были отрицательны. Частота выявления случаев коинфекции составила 2,0% (8/399): от невакцинированных пациентов в 2,4% (5/208) случаев, от вакци-

нированных — в 1,6% (3/191) случаев. Наиболее часто встречались комбинации из следующих вирусов: SARS-CoV-2+HCoV — 2 раза, SARS-CoV-2+HRSV — 3 раза, SARS-CoV-2+HInflV — 2 раза и SARS-CoV-2+HRSV+HRV — 1 раз.

Сезон 2022–2023 гг. В период предполагаемого эпидемического подъема заболеваемости гриппом и ОРВИ на территории НСО, с 30.11.2021 по 01.05.2022 у заболевших участников исследования были взяты носоглоточные мазки для этиологической расшифровки. Всего в исследуемый период было взято 290 мазков, 173 образца у невакцинированных участников исследования и 117 мазков у вакцинированных участников исследования, из них 30 человек были вакцинированы от гриппа, 22 человека — от гриппа и COVID-19, 65 человек — от COVID-19. Возрастной диапазон пациентов составил 18–77 лет, от пожилых людей в возрасте старше 60 лет было получено 37 образцов, что составило 12,7% (37/290) от общего количества проб. 88/399 (30,4%) образцов было получено от мужчин и 202/290 (69,6%) образцов — от женщин.

52,1% (151/290) образцов были отрицательными на генетический материал респираторных вирусов и 47,9% (139/290) — положительными.

В исследуемый период вирусы гриппа являлись доминирующим этиологическим агентом и составили 21,3% (62/290) случаев. Среди возбудителей ОРВИ негриппозной этиологии чаще всего выявляли новый коронавирус SARS-CoV-2 — в 8,9% (26/290) случаев. Следующим по частоте встречаемости стал риновирус, со-

Таблица 5. Заболеваемость среди вакцинированных и невакцинированных участников исследования в сезон 2022–2023 гг.

Table 5. Comparison of morbidity rates between vaccinated and unvaccinated participants in the 2022–2023 season

	Привитые от гриппа Vaccinated against influenza	Непривитые Unvaccinated	Привитые от SARS-CoV-2 Vaccinated against SARS-CoV-2	Непривитые Unvaccinated
Заболеваемость гриппом* The incidence of influenza*	0,3*	8,8*	8,2	13,1
Заболеваемость ОРВИ* The incidence of SARS*	2,4	6,5	1,7	7,2
Заболеваемость COVID-19* The incidence of COVID-19*	3,1	5,8	0,25	3,6

Примечание. * — % от числа обследованных пациентов; ** — достоверные различия ($p < 0,05$).Note. * — % of the number of examined patients; ** — significant differences ($p < 0.05$).

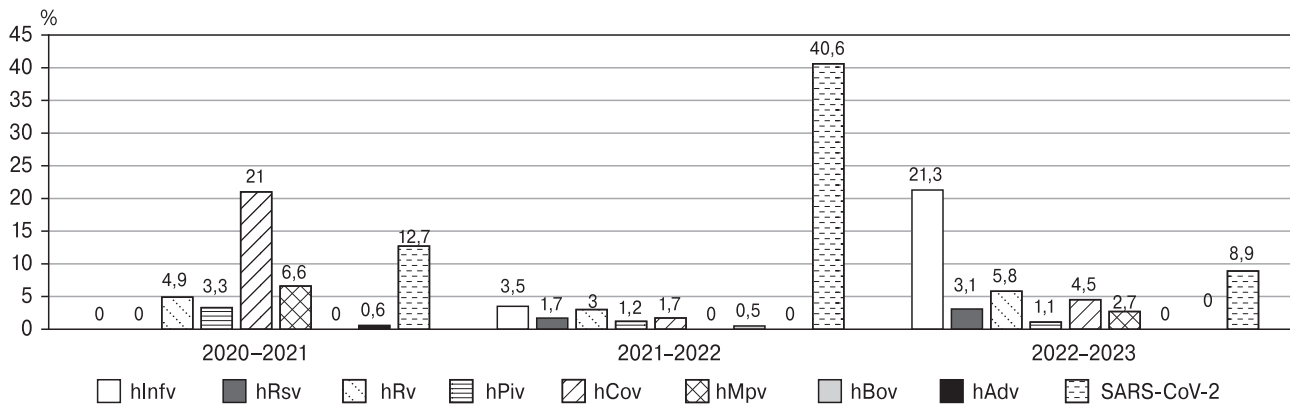


Рисунок. Этиологическая структура респираторных вирусов у исследуемых пациентов (сезоны 2020–2021, 2021–2022, 2022–2023)

Figure. The etiological pattern of respiratory viruses in the patients during the seasons 2020–2021, 2021–2022, and 2022–2023

ставив 5,8% (17/290). Процент детекции заболеваний, вызванных сезонными коронавирусами и респираторно-синцитиальным вирусом, составил 4,5% (13/290) и 3,1% (9/290) соответственно; метапневмовирусом и вирусами парагриппа — 2,7% (8/290) и 1,1% (3/290) случаев соответственно. Случаев инфекции, вызванной аденовирусами и бокавирусом, не было зарегистрировано. При этом среди невакцинированных пациентов ($n = 173$) доля проб, ПЦР-положительных хотя бы на один вирус ОРВИ, составила 63% (109/173), доля ПЦР-отрицательных проб — 37% (64/173). Среди вакцинированных от гриппа и COVID-19 пациентов ($n = 117$) 25,6% (30/117) проб были ПЦР-положительным хотя бы на один вирус ОРВИ, а 74,4% (87/117) дали ПЦР-отрицательный результат. Частота выявления случаев коинфекции составила 5,2% (15/290): от невакцинированных пациентов в 6,3% (11/173) случаев, от вакцинированных — в 3,4% (4/117) случаев. Наиболее часто встречались комбинации из следующих вирусов: SARS-CoV-2+hRv — 5 раз, SARS-CoV-2+hInfv — 6 раз, hInfv+hPiv+hRv — 3 раза и hMpv+hRv — 1 раз. Этиологическая структура респираторных вирусов у исследуемых пациентов (сезоны 2020–2023 гг.) представлена на рисунке.

Обсуждение

В эпидемический сезон 2020–2021 гг. случаев заболеваемости гриппом не отмечено, что согласуется с данными литературы и, вероятно, явилось следствием соблюдения санитарно-профилактических мер, предпринятых в связи с пандемией COVID-19 [5, 10]. Также ни в одной из групп исследования не были зарегистрированы случаи заболеваний, вызванных респираторно-синцитиальным вирусом и бокавирусом.

Сезонное распространение респираторных вирусов может зависеть от многих факторов, что определяет необходимость дальнейшего изуче-

ния особенностей их циркуляции и возникновения заболеваний, вызванных респираторными вирусами с целью прогнозирования возможных эпидемий. При сравнительном анализе заболеваемости ОРВИ негриппозной этиологии было выявлено, что заболеваемость среди участников исследования составила 19,3% в группе вакцинированных, 83,4% в группе невакцинированных. Оценка полученных результатов показала, что заболеваемость ОРВИ среди вакцинированных участников исследования была в 4,32 раза ниже по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$, $\chi^2 = 4,03$). Индекс эпидемиологической эффективности (ИЭ) составил 4,32; коэффициент эффективности (КЭ) — 76,85%.

В сезон 2021–2022 гг. заболеваемость гриппом в группе невакцинированных составила 2,6, среди вакцинированных случаев гриппа выявлено не было. Такой низкий показатель заболеваемости также согласуется с литературными источниками, и вероятно связан с превентивными мерами, направленными на профилактику заболеваемости COVID-19 [9].

За исследуемый период заболеваемость COVID-19 среди невакцинированных составила 21,9, среди вакцинированных — 3,1. При оценке эффективности отечественных вакцин против COVID-19 в указанный период было показано, что ИЭ составил 7,06; КЭ — 85,8%. Оценка полученных результатов показала, что заболеваемость COVID-19 среди вакцинированных участников исследования была в 7,06 раз ниже по сравнению с контролем ($p < 0,05$, $\chi^2 = 10,63$). В сезон 2022–2023 гг. доминирующими инфекционными агентами стали вирус гриппа и SARS-CoV-2, что сопоставимо с данными за сезон 2019–2020 гг., полученными нами ранее в других исследованиях [10]. Показатель заболеваемости гриппом составил 8,8 среди невакцинированных исследуемых и 0,3 среди привитых (ИЭ 29,3; КЭ — 96,6%). Оценка полученных результатов наблюдения показала, что вакцинация приво-

дит к достоверному снижению заболеваемости гриппом (в 29,3 раз) ($p < 0,05$; $\chi^2 = 3,92$).

За исследуемый период заболеваемость COVID-19 среди привитых от COVID-19 составила 3,6, среди вакцинированных этот показатель составил 0,25 (ИЭ 14,4; КЭ — 93,1%). Разницы между группами в заболеваемости ОРВИ и COVID-19 обнаружено не было.

Заключение

Проведенное исследование по оценке эпидемиологической эффективности отечественных вакцин при иммунизации взрослого населения в течение трех эпидемических сезонов подтвердило высокую эффективность специфической профилактики в предупреждении случаев заболевания гриппом и COVID-19. Вакцинация против гриппа привела к снижению заболеваемости среди привитых в сезон 2022–2023 гг. в 29,3 раза по сравнению с участниками исследования, не получившими вакцину. При анализе эпидемиологической эффективности вакцин от COVID-19 было выявлено, что в сезоны 2021–2022 и 2022–2023 гг. вакцинированные против

COVID-19 взрослые люди болели в 7,1–14,4 раз реже непривитых, показатель защищенности составил от 85,8% до 93,1%. В ходе исследования обнаружены значительные изменения этиологической структуры ОРВИ у заболевших во время пандемии COVID-19. Доминирующим вирусом в сезон 2020–2021 гг., помимо SARS-CoV-2, был риновирус; вирусы гриппа и РС вирусы не были обнаружены. В сезон 2021–2022 гг. отмечено существенное преобладание в структуре ОРВИ вируса SARS-CoV-2, однако в циркуляции в 3,5% были обнаружены и вирусы гриппа. В сезон 2022–2023 гг. вирусы гриппа преобладали и были детектированы в 21,3% случаев, следующим по частоте встречаемости был вирус SARS-CoV-2 — в 8,9% случаев. Процент детекции заболеваний, вызванных риновирусом, сезонными коронавирусами, респираторно-синцитиальным вирусом, метапневмовирусом и вирусами парагриппа составил от 1,1% до 5,8% случаев. Полученные результаты могут свидетельствовать об утрате доминирующей роли SARS-CoV-2 в структуре ОРВИ в 2023 г. и постепенном возвращении в активную циркуляцию вирусов гриппа и других возбудителей ОРВИ.

Список литературы/References

- Ерофеева М.К., Максакова В.Л., Шахланская Е.В., Стукова М.А. Возможности современной вакцинопрофилактики гриппа // Поликлиника. 2020. Т. 1, № 2. С. 52–56. [Erofeeva M.K., Maksakova V.L., Shakhlan'skaya E.V., Stukova M.A. Opportunities of modern influenza vaccine prophylaxis. *Poliklinika = Polyclinic*, 2020, vol. 1, no. 2, pp. 52–56. (In Russ.)]
- Ерофеева М.К., Стукова М.А., Шахланская Е.В., Бузицкая Ж.В., Максакова В.Л., Крайнова Т.И., Писарева М.М., Попов А.Б., Позднякова М.Г., Лиознов Д.А. Оценка профилактической эффективности гриппозных вакцин // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2021. Т. 20, № 5. С. 52–60. [Erofeeva M.K., Stukova M.A., Shakhlan'skaya E.V., Buzitskaya Zh.V., Maksakova V.L., Krainova T.I., Pisareva M.M., Popov A.B., Pozdnjakova M.G., Lioznov D.A. Evaluation of the preventive effectiveness of influenza vaccines in the epidemic season 2019–2020 in St. Petersburg. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccine Prophylaxis*, 2021, vol. 20, no. 5, pp. 52–60. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2021-20-5-52-60-52-60
- Капля-Бубенец В. Четырехвалентные вакцины: путь к снижению бремени гриппа // Ремедиум. 2018. № 7–8. С. 42–43. [Kaplya-Bubenets V. Quadrivalent vaccines: a way to reduce the burden of influenza. *Remedium = Remedium*, 2018, no. 7–8, pp. 42–43. (In Russ.)] doi: 10.21518/1561-5936-2018-7-8-42-43
- Ларина В.Н., Захарова М.И., Бенеvская В.Ф., Голоvко М.Г., Соловьев С.С. Острые респираторные вирусные инфекции и грипп: этиология, диагностика и алгоритм лечения // Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. 2019. № 9. С. 18–23. [Larina V.N., Zakharova M.I., Benev'skaya V.F., Golovko M.G., Solov'ev S.S. Acute respiratory viral infections and influenza: etiology, diagnosis and treatment algorithm. *Russkii meditsinskii zhurnal. Meditsinskoe obozrenie = Russian Medical Journal. Medical Review*, 2019, no. 9, pp. 18–23. (In Russ.)]
- О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Новосибирской области в 2021 гг.: Государственный доклад. 272 с. [On the state of sanitary and epidemiologic well-being of the population in the Novosibirsk region in 2021: state report. 272 p. (In Russ.)]
- Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Фролова Н.В., Михеев В.Н., Рыжиков А.Б., Ильичева Т.Н., Домкина А.М., Михеева И.В., Салтыкова Т.С. Влияние ежегодной иммунизации населения против гриппа на заболеваемость этой инфекцией в Российской Федерации // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016. № 1 (86). С. 48–55. [Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Miheev V.N., Ryzhikov A.B., Ilicheva T.N., Domkina A.M., Mikheeva I.V., Saltykova T.S., Saltykova T.S. The Impact Annual Immunization against Flu on Morbidity of Flu in the Russian Federation. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccine Prophylaxis*, 2016, vol. 15, no. 1, pp. 48–55. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2016-15-1-48-55
- Романенко В.В., Осипова И.В., Лиознов Д.А., Анкудинова А.В., Чебыкина Т.В. Результаты клинических исследований по оценке безопасности и эффективности полимер-субъединичной адьювантной гриппозной вакцины при сочетанном использовании иммуномодулятора у лиц 60 лет и старше // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016. Т. 4, № 71. С. 64–70. [Romanenko V.V., Osipova I.V., Lioznov D.A., Martsevich S.Yu., Ankudinova A.V., Chebykina T.V. Clinical study of safety and efficacy of a polymer-subunit adjuvanted influenza vaccine applied in combination with an immune modulator in people aged 60 and over. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccine Prophylaxis*, 2016, vol. 15, no. 5, pp. 63–71. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2016-15-5-63-71
- Johnson A.G., Linde L., Ali A.R., DeSantis A., Shi M., Adam C., Armstrong B., Armstrong B., Asbell M., Auche S., Bayoumi N.S., Bingay B., Chasse M., Christofferson S., Cima M., Cueto K., Cunningham S., Delgadillo J., Dorabawila V., Drenzek C., Dupervil B., Durant T., Fleischauer A., Hamilton R., Harrington P., Hicks L., Hodis J.D., Hoefler D., Horrocks S., Hoskins M., Husain S., Ingram L.A., Jara A., Jones A., Kanishka F.N.U., Kaur R., Khan S.I., Kirkendall S., Lauro P., Lyons S.,

- Mansfield J., Markelz A., Masarik J. 3rd, McCormick D., Mendoza E., Morris K.J., Omoike E., Patel K., Pike M.A., Pilishvili T., Praetorius K., Reed I.G., Severson R.L., Sigalo N., Stanislawski E., Stich S., Tilakaratne B.P., Turner K.A., Wiedeman C., Zaldivar A., Silk B.J., Scobie H.M. COVID-19 incidence and mortality among unvaccinated and vaccinated persons aged ≥ 12 years by receipt of bivalent booster doses and time since vaccination — 24 U.S. Jurisdictions, October 3, 2021 — December 24, 2022. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.*, 2023, vol. 72, no. 6, pp. 145–152. doi: 10.15585/mmwr.mm7206a3
9. 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
 10. Kurskaya O.G., Prokopyeva E.A., Sobolev I.A., Solomatina M.V., Saroyan T.A., Dubovitskiy N.A., Derko A.A., Nokhova A.R., Anoshina A.V., Leonova N.V., Simkina O.A., Komissarova T.V., Shestopalov A.M., Sharshov K.A. Changes in the etiology of acute respiratory infections among children in Novosibirsk, Russia, between 2019 and 2022: the impact of the SARS-CoV-2 virus. *Viruses*, 2023, vol. 15, no. 4: 934. doi: 10.3390/v15040934
 11. Poorolajal J. The global pandemics are getting more frequent and severe. *J. Res. Health Sci.*, 2021, vol. 21, no. 1: e00502. doi: 10.34172/jrhs.2021.40
 12. Scobie H.M., Johnson A.G., Suthar A.B., Severson R., Alden N.B., Balter S., Bertolino D., Blythe D., Brady S., Cadwell B., Cheng I., Davidson S., Delgadillo J., Devinney K., Duchin J., Duwell M., Fisher R., Fleischauer A., Grant A., Griffin J., Haddix M., Hand J., Hanson M., Hawkins E., Herlihy R.K., Hicks L., Holtzman C., Hoskins M., Hyun J., Kaur R., Kay M., Kidrowski H., Kim C., Komatsu K., Kugeler K., Lewis M., Lyons B.C., Lyons S., Lynfield R., McCaffrey K., McMullen C., Milroy L., Meyer S., Nolen L., Patel M.R., Pogojans S., Reese H.E., Saupe A., Sell J., Sokol T., Sosin D., Stanislawski E., Stevens K., Vest H., White K., Wilson E., MacNeil A., Ritchey M.D., Silk B.J. Monitoring incidence of COVID-19 cases, hospitalizations, and deaths, by vaccination status — 13 U.S. Jurisdictions, April 4–July 17, 2021. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.*, 2021, vol. 70, no. 37, pp. 1284–1290. doi: 10.15585/mmwr.mm7037e1
 13. WHO. Coronavirus (COVID-19) dashboard. URL: <https://covid19.who.int> (09.08.2023)

Авторы:

Сароян Т.А., младший научный сотрудник лаборатории респираторных вирусных инфекций Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины, г. Новосибирск, Россия;

Курская О.Г., к.м.н., руководитель лаборатории респираторных вирусных инфекций, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и биоразнообразия вирусов, Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины, г. Новосибирск, Россия;

Соломатина М.В., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и биоразнообразия вирусов Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины, г. Новосибирск, Россия;

Шаршов К.А., к.б.н., руководитель лаборатории молекулярной эпидемиологии и биоразнообразия вирусов Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины, г. Новосибирск, Россия;

Шестопалов А.М., д.б.н., профессор, директор НИИ вирусологии Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины, г. Новосибирск, Россия;

Ерофеева М.К., д.м.н., зав. лабораторией испытаний новых средств защиты от вирусных инфекций ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

Стукова М.А., к.м.н., руководитель лаборатории векторных вакцин ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

Бузицкая Ж.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории векторных вакцин ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

Люзнов Д.А., д.м.н., профессор, директор ФГБУ НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия; зав. кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Saroyan T.A., Junior Researcher, Laboratory of Respiratory Viral Infections, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation;

Kurskaya O.G., PhD (Medicine), Head of the Laboratory of Respiratory Viral Infections; Senior Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology and Biodiversity of Viruses, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation;

Solomatina M.V., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology and Biodiversity of Viruses, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation;

Sharshov K.A., PhD (Biology), Head of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Biodiversity of Viruses, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation;

Shestopalov A.M., DSc (Biology), Professor, Director of the Institute of Virology, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation;

Erofeeva M.K., DSc (Medicine), Head of the Laboratory of Trials of Novel Remedies for Antiviral Protection, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Stukova M.A., PhD (Medicine), Head of the Laboratory of Vector Vaccines, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Buzitskaya Zh.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Vector Vaccines, Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation;

Lioznov D.A., DSc (Medicine), Professor, Director of Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russian Federation; Head of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТАБИЛЬНОЙ И ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ ТУБЕРКУЛЕМ ЛЕГКИХ

Н.Е. Гималдинова¹, Л.А. Любовцева¹, А.В. Сергеев^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, Россия

² Республиканское бюро судебно-медицинской экспертизы Минздрава Чувашии, г. Чебоксары, Россия

Резюме. Цель исследования — определить ведущее звено реагирования местной иммунной и нейроэндокринной систем в легких, пораженных туберкулезом. *Материалы и методы.* Исследовано 60 случаев туберкулема стабильного и прогрессирующего течения. Исследование проводили в 2 зонах: капсуле туберкулема и прилежащих к ней областях. Группой сравнения служили резецированные участки верхних долей правого легкого, взятые у 10 мужчин, погибших в ДТП, не болевших туберкулезом. Эта группа была названа «условно здоровые». Для оценки иммунного ответа использовали иммуногистохимический метод с использованием моноклональных антител к CD8 и CD4. Содержание катехоламинов в структурах легких определяли люминесцентно-гистохимическим методом Фалька–Хилларпа. *Результаты.* При оценке локализации экспрессии изучаемых маркеров в легких в группе «условно здоровые» число CD4⁺- и CD8⁺-клеток определялось преимущественно в интерстициальном пространстве. Число CD4⁺-клеток в данной исследуемой группе преобладало над CD8⁺-клетками. В стабильной туберкулезе было выявлено большее число лимфоцитов в капсуле с преобладанием Т-киллеров над Т-хелперами. В перифокальной зоне стабильной туберкулема число иммунных клеток было уменьшенным по сравнению с группой «условно здоровые», но при этом определялись зоны, где CD4⁺-лимфоциты образовывали контакты с интерстициальными макрофагами. В капсуле прогрессирующей туберкулема число CD4⁺- и CD8⁺-клеток было увеличено, но Т-киллеров было больше, чем Т-хелперов. В перифокальной зоне отмечалось снижение числа CD4⁺ Т-лимфоцитов при одновременном увеличении CD8⁺-клеток. Отмечено увеличение количества внутриальвеолярных и интерстициальных макрофагов, которые местами образовывали контакты с CD4⁺-лимфоцитами. Цитотоксические лимфоциты часто концентрировались вокруг кровеносных сосудов. При изучении содержания катехоламинов было выявлено повышение их в тучных клетках во всех исследуемых зонах туберкулема стабильного и прогрессирующего течения. В макрофагах уровень катехоламинов при стабильном течении заболевания снижался, а при прогрессирующем — резко увеличивался. *Заключение.* Регулирование фаз течения туберкулезного воспаления осуществлялось разными клеточными взаимодействиями, и, очевидно, зависело от концентрации микобактерий в легочной ткани и содержания катехоламинов в макрофагах.

Ключевые слова: катехоламины, туберкулема, CD4-лимфоциты, CD8-лимфоциты, иммунорегуляторный индекс, макрофаги, тучные клетки, микобактерии.

Адрес для переписки:

Гималдинова Наталья Евгеньевна
428031, Россия, г. Чебоксары, Московский пр., 15,
ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет
имени И.Н. Ульянова.
Тел.: 8 927 852-34-16.
E-mail: ngimaldinova@yandex.ru

Contacts:

Natalia E. Gimaldinova
428031, Russian Federation, Cheboksary, Moskovsky pr., 15,
Chuvash State University named after I.N. Ulyanov.
Phone: +7 927 852-34-16.
E-mail: ngimaldinova@yandex.ru

Для цитирования:

Гималдинова Н.Е., Любовцева Л.А., Сергеев А.В. Сравнительная морфологическая характеристика стабильной и прогрессирующей туберкулема легких // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 143–151. doi: 10.15789/2220-7619-CMC-17638

Citation:

Gimaldinova N.E., Lyubovtseva L.A., Sergeev A.V. Comparative morphological characteristics for stable and progressive pulmonary tuberculoma // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 143–151. doi: 10.15789/2220-7619-CMC-17638

COMPARATIVE MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS FOR STABLE AND PROGRESSIVE PULMONARY TUBERCULOMA

Gimaldinova N.E.^a, Lyubovtseva L.A.^a, Sergeev A.V.^{a,b}

^a Chuvash State University named after I.N. Ulyanov, Cheboksary, Russian Federation

^b Republican Bureau of Forensic Medical Examination of the Ministry of Health of Chuvashia, Cheboksary, Russian Federation

Abstract. The objective of the study was to identify a leading link in local and lung neuroendocrine immune during tuberculoma. *Materials and methods.* 60 cases of stable and progressive tuberculoma were studied. The study was conducted in 2 anatomical zones: tuberculoma capsule and adjacent areas. A comparison (apparently healthy) group contained resected samples of the upper lobes in the right lung collected from 10 men died in an accident lacking tuberculosis over lifespan. An immunohistochemistry with monoclonal antibodies against CD8 and CD4 markers was used to assess local immune response. Lung catecholamine level was analyzed by the Falk–Hillarp luminescent histochemical method. *Results.* When assessing localized lung expression of the studied markers in “apparently healthy” group, the number of CD4⁺ and CD8⁺ cells was observed mainly in the interstitial space: the former prevailed over the latter. In stable tuberculoma, higher lymphocyte number in the capsule was revealed that dominated by T-killers vs T-helpers. In the perifocal zone of stable tuberculoma vs apparently healthy group, the number of immune cells decreased, but at the same time zones where CD4⁺ lymphocytes form contacts with interstitial macrophages were detected. In the capsule of progressive tuberculoma, the number of CD4⁺ and CD8⁺ cells increased, containing more T-killers than T-helpers. In the perifocal zone, there is a decrease in CD4⁺ T lymphocyte number paralleled with increase in CD8⁺ cells. The number of intraalveolar and interstitial macrophages sometimes contacting CD4⁺ lymphocytes increases. Cytotoxic lymphocytes concentrate around blood vessels. When studying catecholamine level, it was found to increase in mast cells in all studied areas during stable and progressive tuberculoma. In macrophages, the catecholamine level decreases in stable disease, and increases sharply in progressive progressive course. *Conclusion.* The regulation of the phases of tuberculous inflammation course is carried out by various cellular interactions, depends on mycobacteria load in lung tissue and macrophage catecholamine level.

Key words: catecholamines, tuberculosis, CD4 lymphocytes, CD8 lymphocytes, immuno-regulatory index, macrophages, mast cells, mycobacteria.

Введение

Как известно, туберкулез до сих пор является заболеванием, требующим особого подхода к лечению [11]. Туберкулема — это одна из клинических форм вторичного туберкулеза, которая представляет собой продуктивный очаг казеозного некроза, диаметром более 1 см, ограниченный от окружающей легочной ткани соединительнотканной капсулой. Из литературных данных известно, что большинство туберкулем легкого образуются в результате эволюции таких форм туберкулеза, как инфильтративная, очаговая, диссеминированная, кавернозная [8]. Но иногда она может формироваться из первичного туберкулезного комплекса. Несмотря на то что основные вопросы патогенеза, клиники и диагностики туберкулем на сегодняшний день изучены довольно подробно, в последнее время отмечается рост показателей заболеваемости данной формой туберкулеза. Так, по статистике от общего числа больных туберкулезом органов дыхания пациенты с туберкулемами составляют до 10%. Являясь формой хронического специфического воспаления, туберкулемы в своем развитии могут иметь как стадии прогрессирования, так и заживления. В морфологическом аспекте различают два пути прогрессирования этой формы туберкулеза. К первому относится перифокальное обострение в виде аппозиционного роста, развитие дочерних бронхолобулярных очагов у границ казеозного

некроза в результате лимфогенного, лимфобронхогенного, бронхогенного попадания инфекции в легочную дольку. Второй и основной путь прогрессирования туберкулем, помимо перифокальной вспышки, — это размягчение, расплавление казеоза с кавернизацией и истинная бронхогенная диссеминация. Активность специфического процесса в туберкулемах можно определить по интерпретации состояния ее капсулы, которая имеет два слоя: наружный, состоящий из коллагеновых волокон, и внутренний, образованный грануляционной тканью с макрофагами, эпителиоидными клетками и клетками Пирогова–Лангханса [2]. Если преобладает наружный слой, образованный из компактно уложенных коллагеновых волокон, скудно инфильтрированных лимфоцитами, на фоне уменьшения грануляционного слоя или даже с его полным исчезновением в туберкулемах без деструкции казеоза, можно говорить о заживлении инфекционного процесса. Однако преобладание грануляционного слоя в капсуле, отсутствие волокон коллагена либо их хаотичное расположение на фоне выраженной лимфоидной инфильтрации свидетельствует о высокой активности туберкулеза и возможности дальнейшего прогрессирования заболевания [7, 9].

Процессы заживления несомненно связаны с состоянием иммунной и нейроэндокринной систем организма. Механизмы иммунологической защиты легких обеспечиваются несколькими различными типами иммунокомпетентных

клеток. Среди них наиболее важными являются лимфоциты, альвеолярные макрофаги и нейтрофилы [10, 13]. На мембранах иммунокомпетентных клеток присутствуют дофаминовые и адренорецепторы, посредством которых нейротрансмиттеры, например, катехоламины (КА), участвуют в регуляции иммунных реакций, воздействуя на пролиферацию и дифференцировку лимфоцитов и макрофагов, изменяют их реактивность, а также модулируют продукцию лимфокинов и цитокинов [1]. Однако данные, представленные в литературе, до сих пор достаточно противоречивы, так как действие моноаминов (КА) зависит от их концентрации в момент восприятия антигенной информации.

Таким образом, изучение клеточного состава в капсуле туберкулемы и участках легкого без признаков специфического воспаления с целью определения ведущего звена реагирования местной иммунной и нейроэндокринной систем является актуальной проблемой для прогнозирования течения и курбельности болезни. В связи с этим целью данного исследования стало определение ведущего звена реагирования местной иммунной и нейроэндокринной систем в аутопсийном материале легких, пораженных туберкулемой. Задачами исследования были:

1. Определение локализации, числа и соотношения CD4 и CD8 в структурах туберкулем.
2. Выявление локализации и содержания моноаминов в структурах разных видов туберкулем.
3. Выявление предполагаемой корреляционной связи между численностью иммунокомпетентных клеток и содержанием моноаминов при стабильном и прогрессирующем течении туберкулем.

Материалы и методы

Исследование проведено на базе БУ «Бюро судебно-медицинской экспертизы» Минздрава ЧР. Изучали аутопсийный материал верхних долей правого легкого, взятый у 60 мужчин, больных туберкулемой со стабильным (30 случаев) и прогрессирующим (30 случаев) течением. Отбор случаев осуществлялся на основе изучения сопроводительной медицинской документации с целью определения локализации, степени выраженности и активности туберкулезного процесса, анализа заключений рентгенологического исследования органов грудной клетки, а также результатов бактериологического исследования мокроты. Исследование проводили в 2 зонах: капсуле туберкулемы и прилежащих к ней областях. Группой сравнения служили резецированные участки верхних долей правого легкого, взятые у 10 мужчин, погибших в ДТП, не болевших туберкулезом. Эта группа была названа «условно здоровые».

Исследование проведено согласно нормативно-правовым документам (Федеральный закон № 323 от 21.11.2011 г. «Об основах охраны здоровья граждан в РФ») и одобрено Этическим комитетом медицинского факультета Чувашского государственного университета имени И.Н. Ульянова (протокол № 3/4 от 31.01.17).

Методы исследования:

1. Общая окраска гематоксилин-эозином применялась для выявления морфологических изменений в ткани легких и дифференцировки участков пораженных и непораженных микобактериями туберкулеза [12].

2. Для оценки иммунного ответа использовали иммуногистохимический метод с использованием моноклональных антител к CD8 и CD4 в готовом разведении (RTU) (Leica, Германия). Срезы докрашивались железным гематоксилином. Число CD8⁺- и CD4⁺-клеток подсчитывали с использованием светового микроскопа «Carl Zeiss Primo Star» в 10 полях зрения при увеличении $\times 400$.

3. Вычисление иммунорегуляторного индекса (ИРИ) применяли для оценки состояния клеточного иммунитета. ИРИ вычисляется как отношение CD4⁺/CD8⁺. Показатель ИРИ оценивали следующим образом: значение 1,5–2,1 — нормальный иммунный ответ, более 2,2 — избыточный иммунный ответ, менее 1,0 — иммунодефицит [4, 5, 6].

4. Для избирательного выявления аминокислотосодержащих структур легких и адренергических нервных волокон применялся люминесцентно-гистохимический метод Фалька–Хилларпа в модификации Е.М. Крохиной [14].

5. Количественно концентрацию КА в аминокислотосодержащих структурах легких в условных единицах (у.е.) цитоспектрофлуориметрией с помощью прибора ФМЭЛ 1(А).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Statistica 10.0, Microsoft Excel 2010. Взаимосвязи между макрофагами и тучными клетками по количественному содержанию катехоламинов оценивались с применением непараметрического рангового корреляционного анализа Спирмена. Достоверными считали отличия при $p < 0,05$. В работе приводятся следующие показатели: M — средняя арифметическая величина; m — средняя ошибка средней арифметической величины. Статистическую достоверность определяли критерием Манна–Уитни (t).

Результаты и обсуждение

При окрашивании гематоксилином-эозином препаратов группы со стабильной туберкулемой выявлялись очаги казеозного некроза, окруженные соединительнотканной капсулой и без признаков перифокального воспаления, среднего диаметра $15 \pm 1,3$ мкм (рис. 1А).

При исследовании аутопсийного материала в группе больных прогрессирующей туберкулезом вокруг зоны казеозного некроза определялась соединительнотканная капсула, окруженная перифокальным воспалением в виде серозного экссудата в альвеолах, с очагами отсевов в виде воспалительных клеточных инфильтратов (рис. 1Б).

При оценке локализации экспрессии изучаемых маркеров в легких в группе «условно здоровые» основная масса CD4⁺- и CD8⁺-клеток определялась преимущественно в интерстициальном пространстве, и единичные — около кровеносных сосудов и в собственной пластинке слизистой оболочки бронхов. В данной исследуемой группе CD4⁺-клетки количественно преобладали над CD8⁺-клетками (табл. 1).

При изучении CD4⁺- и CD8⁺-клеток в стабильной туберкулезе было выявлено увеличение их числа в капсуле с преобладанием Т-киллеров в 1,7 раза над Т-хелперами (рис. 2А, 2В). При этом показатель ИРИ был снижен в 1,9 раза по сравнению с нормой (табл. 1). В перифокальной зоне число CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов было меньшим, чем в группе «условно здоровые», при этом количество Т-хелперов в 1,7 раза превышало содержание Т-киллеров (рис. 2Б, 2Г). Кроме того, следует отметить, что определялись зоны, где CD4⁺-лимфоциты образовывали контакты с интерстициальными макрофагами (ИМ) (рис. 2Б). Значение ИРИ соответствовало нормальному иммунному ответу (табл. 1).

В капсуле прогрессирующей туберкулезе определялись сходные со стабильной туберкулезом проявления, то есть число CD4⁺- и CD8⁺-клеток также было увеличено по сравнению с группой «условно здоровые». При этом количество Т-киллеров было в 2 раза больше, чем Т-хелперов (рис. 3А, 4А). В перифокальной зоне отмечалось снижение числа CD4⁺ Т-лимфоцитов, при одновременном увеличении CD8⁺-клеток в 1,3 раза по сравнению с условной нормой и в 1,2 раза по сравнению с количеством Т-хелперов (табл. 1, рис. 4Б). Кроме того, увеличивалось число внутриальвеолярных и интерстициальных макрофагов, кото-

рые местами образовывали контакты с CD4⁺-лимфоцитами (рис. 3Б, 3В). Также следует отметить скопление CD8 лимфоцитов вокруг кровеносных сосудов до 20±0,3 в поле зрения (рис. 4В). Значение ИРИ во всех исследуемых зонах прогрессирующей туберкулезе соответствовало иммунодефициту.

Методом Фалька–Хилларпа в группе «условно здоровые» нами были выявлены катехоламин-содержащие тучные клетки, альвеолярные и интерстициальные макрофаги. Так, внутриальвеолярные макрофаги (ВАМ) присутствовали в просвете альвеол и бронхов в виде отдельных клеток или их скоплений. ВАМ содержали четкие гранулы с желтой люминесценцией и имели размеры от 15 до 23 мкм (рис. 5А). Содержание КА в них составило 15,3±0,5 у.е. (табл. 2).

Интерстициальные макрофаги располагались в интерстициальной ткани легких в виде скоплений (рис. 5А). При спектральном анализе в их гранулах также определялись моноамины до 17,6±0,6 у.е. В полостях альвеол легких группы «условно-здоровые» свободные моноамины не определялись. В группе сравнения в интерстициальной ткани были определены от 2 до 3 ТК в поле зрения с содержанием КА до 18,6±0,1 у.е.

При исследовании туберкулем легких определяли содержание КА непосредственно в зоне капсулы и перифокальных участках.

Так, при окрашивании прогрессирующих туберкулем по методу Фалька на КА наибольшая люминесценция выявлялась в фоновом свечении в области капсулы и составляла 57,2±0,12 у.е. Наиболее отчетливые сдвиги в содержании КА определялись во всех исследуемых зонах и клеточных структурах легкого. Так, в капсуле туберкулемы содержание КА в ТК преобладало над таковым в макрофагах, а в перифокальной зоне отмечалась обратная тенденция (рис. 5Б). Кроме того, в этой зоне выявлено увеличение в 1,5 раза числа ИМ и ВАМ по сравнению с группой «условно здоровые». Вероятнее всего данная реакция была связана с локализацией возбудителя туберкулеза как в капсуле, так и за ее пределами. Следует отметить, что у 60% больных из этой группы отме-

Таблица 1. ИРИ и число CD4⁺- и CD8⁺-клеток в разных исследуемых зонах легких

Table 1. IRI and the number of CD4⁺ and CD8⁺ cells in different studied lung areas

	Условно здоровые Apparently healthy	Стабильная туберкулема Stable tuberculoma		Прогрессирующая туберкулема Progressive tuberculoma	
		капсула tuberculoma capsule	вне капсулы outside tuberculoma capsule	капсула tuberculoma capsule	вне капсулы outside tuberculoma capsule
CD4 ⁺	9,15±0,45	21±0,02	6±0,08	17,6±0,03	6±0,06
CD8 ⁺	5,72±0,46	35±0,06	3,5±0,06	34,6±0,02	7,3±0,01
ИРИ/IRI	1,16	0,6	1,7	0,5	0,8

Примечание. Курсивом обозначено понижение числа клеток по сравнению с группой «условно здоровые», жирным — повышение. Материал представлен как M±σ. Различия статистически значимы при p < 0,05.

Note. Decrease and increase in cell number compared to “apparently healthy” group depicted in italic and bold respectively. The data are presented as M±σ. The significance level is set at p < 0,05.

чалось появление инфильтративной дорожки из люминесцирующих лимфоцитов. Данный факт подтверждал активность течения туберкулезного воспаления [3].

В стабильной туберкулеме содержание КА увеличивалось в ТК при одновременном снижении их в макрофагах. В ТК капсулы туберкулемы свечение данного нейромамина было в 1,5 раза выше, чем в ТК перифокальной зоны (табл. 2).

Таким образом, в прогрессирующей туберкулеме содержание КА увеличивалось во всех исследуемых структурах, как в капсуле, так и в перифокальной зоне. Напротив, в туберкулеме стабильного течения содержание изучаемого нейромамина было повышено только в ТК.

При изучении корреляционных взаимодействий между КА-содержащими структурами в группе «условно здоровые» определялись

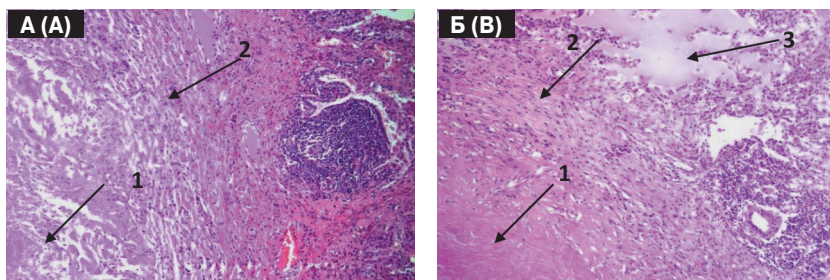


Рисунок 1. Микроскопическая картина туберкулемы легких

Figure 1. Microscopic picture of pulmonary tuberculoma

Примечание. А — стабильная туберкулема легких: 1) очаг казеозного некроза; 2) соединительнотканная капсула; Б — прогрессирующая туберкулема легких: 1) очаг казеозного некроза; 2) соединительнотканная капсула; 3) серозный экссудат в альвеолах. Окраска гематоксилин-эозин. Микроскоп Carl Zeiss Primo Star. Увеличение $\times 400$.

Note. A — Stable pulmonary tuberculoma (1 — focus of caseous necrosis, 2 — capsule connective tissue); B — Progressive pulmonary tuberculoma (1 — focus of caseous necrosis, 2 — capsule connective tissue, 3 — alveolar serous exudate). Hematoxylin — eosin staining. The Carl Zeiss Primo Star microscope. Magnification $\times 400$.

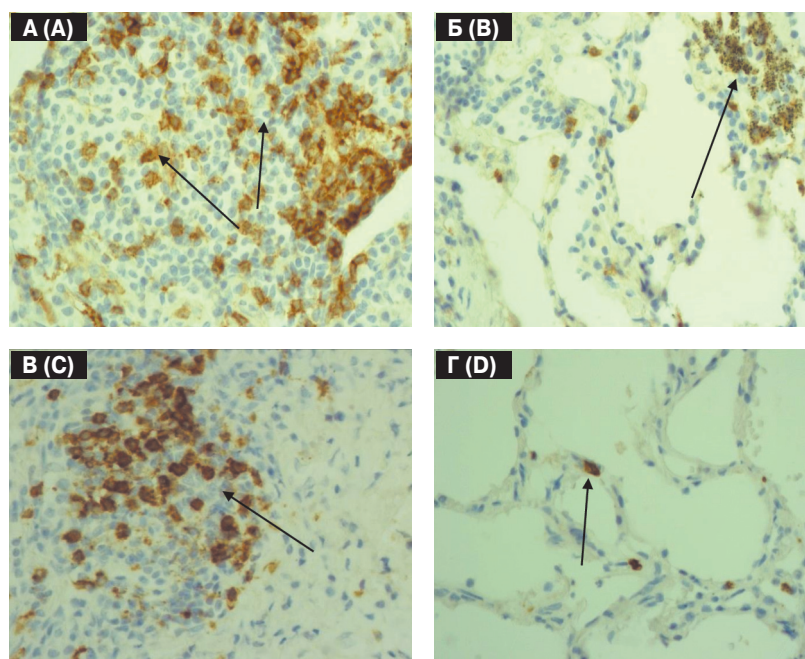


Рисунок 2. Иммуногистохимическое исследование $CD4^+$ - и $CD8^+$ -клеток в стабильной туберкулеме

Figure 2. Immunohistochemical study of $CD4^+$ and $CD8^+$ cells in stable tuberculoma

Примечание. А — образование групповых очагов скопления $CD4^+$ -клеток в капсуле стабильной туберкулемы. Б — $CD4^+$ -клетки в перифокальной зоне стабильной туберкулемы. В — локализация компактных групп $CD8^+$ -клеток вокруг зоны казеозного некроза в стабильной туберкулеме. Г — единичные $CD8^+$ -клетки в перифокальной зоне стабильной туберкулемы. Микроскоп Carl Zeiss Primo Star. Увеличение $\times 400$.

Note. A — formation of $CD4^+$ cell clusters in tuberculoma capsule during stable tuberculoma. B — perifocal zone $CD4^+$ cells in stable tuberculoma. C — compact $CD8^+$ cell clusters around the zone of caseous necrosis in stable tuberculoma. D — single $CD8^+$ cells in the perifocal zone of stable tuberculoma. Carl Zeiss Primo Star microscope. Magnification $\times 400$.

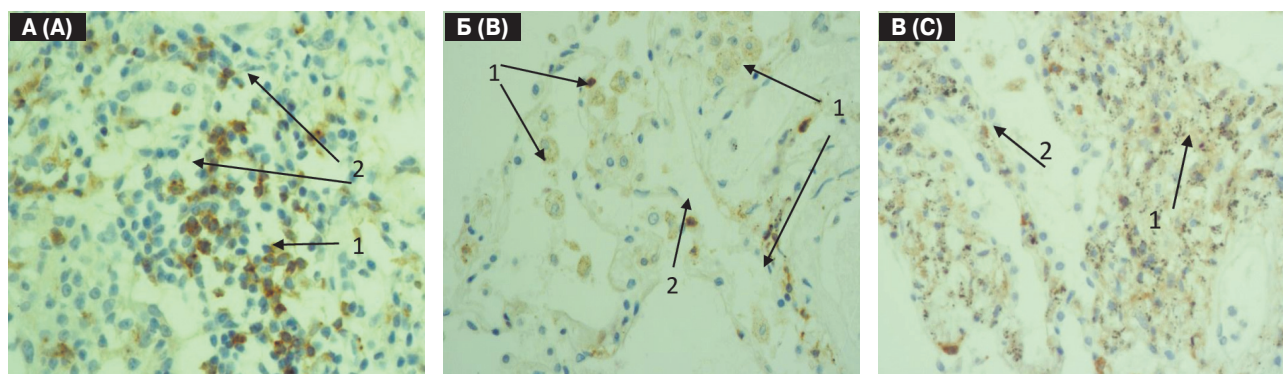


Рисунок 3. Иммуногистохимическое исследование CD4⁺-клеток в прогрессирующей туберкулезе
 Figure 3. Immunohistochemical examination of CD4⁺ cells in progressive tuberculoma

Примечание. А — образование групповых очагов скопления CD4⁺ клеток в капсуле прогрессирующей туберкулемы. Б — увеличение числа внутриальвеолярных макрофагов. Увеличение ×400 (1 — макрофаги, 2 — лимфоциты). В — увеличение числа интерстициальных макрофагов. Микроскоп Carl Zeiss Primo Star. Увеличение ×400.

Note. A — formation of CD4⁺ cell clusters in tuberculoma capsule during progressive tuberculoma. B — increased intra-alveolar macrophages. Magnification ×400 (1 — macrophages, 2 — lymphocytes). C — increased number of interstitial macrophages. Carl Zeiss Primo Star microscope. Magnification ×400.

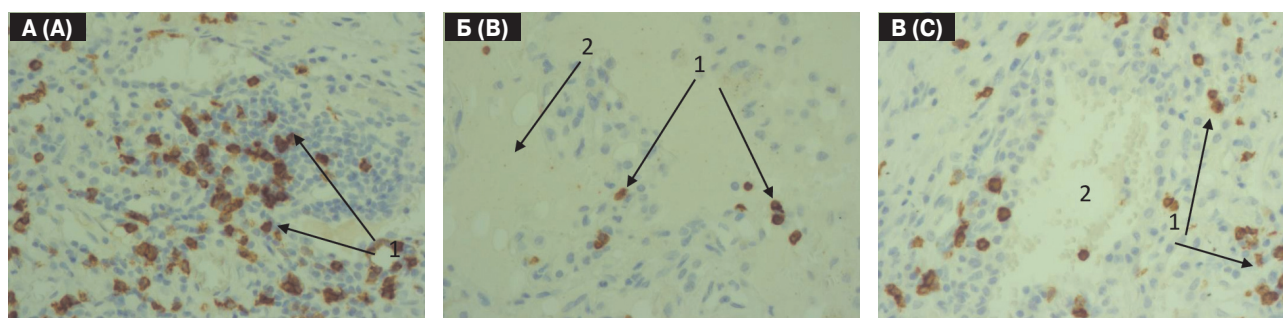


Рисунок 4. Иммуногистохимическое исследование CD8⁺-клеток в прогрессирующей туберкулезе
 Figure 4. Immunohistochemical study of CD8⁺-cells in progressive tuberculoma

Примечание. А — образование групповых очагов скопления CD8⁺ клеток в капсуле. Б — CD8⁺ клетки в перифокальной зоне. В — увеличение числа лимфоцитов вокруг кровеносного сосуда (1 — лимфоциты, 2 — сосуд). Микроскоп Carl Zeiss Primo Star. Увеличение ×400.

Note. A — formation of CD8⁺ cell clusters in tuberculoma capsule. B — CD8⁺ cells in perifocal zone. C — increased perivascular lymphocyte number (1 — lymphocytes, 2 — vessel). Carl Zeiss Primo Star microscope. Magnification ×400.

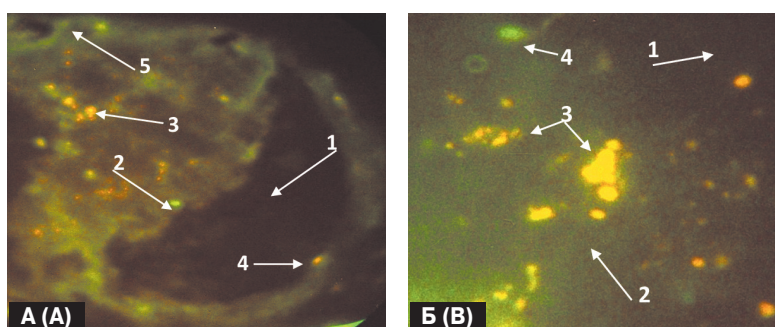


Рисунок 5. Катехоламин-содержащие макрофаги и тучные клетки в легких
 Figure 5. Catecholamine-containing lung macrophages and mast cells

Примечание. А — наличие моноаминов в структурах здоровой части легких: 1 — альвеола, 2 — тучные клетки; 3 — интерстициальные макрофаги, 4 — внутриальвеолярные макрофаги, 5 — адренергические нервные волокна. Б — наличие моноаминов в прогрессирующих туберкулемах: 1 — альвеола, 2 — интерстициальное пространство, 3 — интерстициальные макрофаги, 4 — тучная клетка, Метод Фалька с соавт. Микроскоп: Люмам 6. Увеличение ×100.

Note. A — catecholamines in healthy lung structures: 1 — alveoli, 2 — mast cells, 3 — interstitial macrophages, 4 — intra-alveolar macrophages, 5 — adrenergic nerve fibers. B — catecholamines in progressive tuberculomas: 1 — alveolus, 2 — interstitial space, 3 — interstitial macrophages, 4 — mast cell. Falk's et al. method. Lumam 6 microscope. Magnification ×100.

Таблица 2. Содержание катехоламинов в биоаминсодержащих структурах легких

Table 2. The content of catecholamines in bioamine-containing structures of the lungs

Структуры Structures	Условно здоровые Apparently healthy	Стабильная туберкулема Stable tuberculoma		Прогрессирующая туберкулема Progressive tuberculoma	
		капсула tuberculoma capsule	вне капсулы outside tuberculoma capsule	капсула tuberculoma capsule	вне капсулы outside tuberculoma capsule
ВАМ/ІАМ	15,3±0,5		<i>11,3±0,05</i>		35,7±0,02
ІМ/ІМ	17,6±0,6		<i>9,2±0,01</i>		36,5±0,05
ВКМ/ІСМ		11,7±0,03		48,8±0,01	
ТК/Mast cells	18,6±0,1	56,7±0,02	36,8±0,02	51,1±0,02	27,8±0,05
Фон/Background	7,9±0,4	<i>6,8±0,01</i>	–	57,2±0,01	–

Примечание. Цифровые данные приведены в условных единицах. Курсивом обозначено понижение числа клеток по сравнению с группой «условно здоровые», жирным — повышение. Материал представлен как $M \pm \sigma$. Различия статистически значимы при $p < 0,05$. ВАМ — внутри альвеолярный макрофаг, ІМ — интерстициальный макрофаг, ВКМ — внутри капсулярный макрофаг, ТК — тучные клетки.

Note. The numerical data are presented in arbitrary units. Decrease and increase in cell number compared to “apparently healthy” group depicted in italic and bold respectively. The data are presented as $M \pm \sigma$. The significance level is set at $p < 0.05$. ІАМ — intra-alveolar macrophage, ІМ — interstitial macrophage, ІСМ — intra-capsular macrophage, МС — mast cells.

сильные положительные связи между ВАМ и ІМ, а также между макрофагами и ТК по содержанию в них КА (табл. 3).

В капсуле и перифокальной зоне стабильной туберкулемы корреляционные связи по количественному содержанию КА между ТК и макрофагами ослабевали, а между перифокальными ВАМ и ІМ становились отрицательными. Можно предположить, что ослабление или разрыв корреляционных связей между содержанием изучаемых веществ в этих клетках свидетельствовали о наступлении фазы ремиссии.

В соединительнотканной капсуле прогрессирующей туберкулемы сильная положительная связь определялась между макрофагами и ТК. В перифокальной области она сохранялась только между макрофагами.

Возможно, что появление сильных связей между разными катехоламин-содержащими клетками в активную фазу воспаления может зависеть от концентрации микобактерий в изучаемых зонах. В участках легких с повышенным числом микобактерий воспалительная реакция связана как с ТК, так и макрофагами. В зонах с меньшей концентрацией возбудителя экссудативная фаза регулируется преимущественно макрофагами.

Из литературных данных известно, что туберкулез относится к гранулематозным болезням [9]. В основе данной группы заболеваний лежит гранулема — ассоциация клеточных элементов, возникающая в ответ на инфекционное вторжение микобактерий. Численная популяция клеточных элементов гранулемы, их соотношение, процессы образования коллагена фибробластами могут свидетельствовать либо о прогрессировании специфического процесса, либо его остановке — заживлении [9]. Существование такой формы туберкулезного процесса как туберкулема, возможность гистологического изучения ее клеточного состава, позволяет рассматривать эту форму туберкуле-

за как очаг латентной инфекции с возможностью к прогрессированию и с развитием в дальнейшем более тяжелой формы туберкулеза [3]. Различные типы иммунокомпетентных клеток, включая Т-лимфоциты, альвеолярные и интерстициальные макрофаги, а также тучные клетки принимают участие в развитии и регулировании адаптивного иммунного ответа. С одной стороны, $CD4^+$ Т-лимфоциты секретируют цитокины, активируют цитотоксические Т-лимфоциты и макрофаги, образуя прямые контакты с клетками-мишенями. $CD8^+$ Т-клетки в процессе иммунного ответа функционируют как единая субпопуляция, осуществляющая антигенспецифическое, FAS- или гранзим-, перфорин- и гранулизин-опосредованное уничтожение инфицированных клеток. С другой стороны, известно, что КА оказывают выраженное влияние на разные этапы иммунного ответа путем увеличения лимфопролиферативных реакций, стимулируют дифференцировку Т-хелперов и цитотоксических лимфоцитов, регулируют цитокиновые реакции (повышая уровень провоспалительных и снижая содержание противовоспалительных цитокинов), тем самым воздействуя на степень активности воспаления [5, 10, 13].

При изучении туберкулем стабильного и прогрессирующего течения нами были обнаружены разные вариации клеточных взаимодействий в капсуле и перифокальной зоне. Так, в капсуле стабильной туберкулемы определялось увеличение числа $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитов с преобладанием последних. При этом повышение содержания КА определялось только в ТК, а в альвеолярных и интерстициальных макрофагах свечение этого биогенного амина было снижено в 1,5 раза по сравнению с нормой. Корреляционные связи между тучными клетками и макрофагами были резко ослаблены. Возможно, в этой зоне нарушен синтез и захват КА макрофагами вследствие их поражения микобактериями [4].

Таблица 3. Корреляционные сопряжения между биоаминсодержащими структурами легких по содержанию КА при туберкулемах легких

Table 3. Correlations between CA-containing lung areas in pulmonary tuberculoma

Структуры Lung structures	Условно здоровые Apparently healthy	Стабильная туберкулема Stable tuberculoma		Прогрессирующая туберкулема Progressive tuberculoma	
		капсула tuberculoma capsule	вне капсулы outside tuberculoma capsule	капсула tuberculoma capsule	вне капсулы outside tuberculoma capsule
ВАМ/ИМ IAM/IM	0,86	–	<i>–0,8</i>	–	0,9
ВАМ/ТК IAM/mast cells	0,82	0,2	0,3	0,9	<i>–0,7</i>
ИМ/ТК IM/mast cells	0,94		0,3		<i>–0,7</i>
МФ/туберкулема MF/tuberculoma		<i>–0,5</i>	–	0,8	–
ТК/туберкулема Mast cells/tuberculoma		<i>–0,1</i>	–	0,8	–

Примечание. ВАМ — внутриальвеолярный макрофаг. ИМ — интерстициальный макрофаг. МФ — макрофаги. ТК — тучные клетки. Жирным начертанием отмечены сильные положительные корреляционные связи, курсивом — сильные отрицательные.

Note. IAM — intra-alveolar macrophage. IM — interstitial macrophage. MF — macrophages. MC — mast cells. Strong positive and negative correlations are depicted in bold and italic, respectively.

В капсуле туберкулемы прогрессирующего течения число изучаемых иммунных клеток, так же как и в капсуле стабильной туберкулемы, был больше показателей нормы. Но при этом повышенное содержание катехоламинов определялось во всех изучаемых клетках в несколько раз, с максимальными значениями фонового свечения. Сохранение корреляционных связей между тучными клетками и макрофагами, увеличение числа лимфоцитов, указывает на активность специфического туберкулезного процесса в этой зоне, и целенаправленное действие клеток на уничтожение возбудителя.

Таким образом, несмотря на сходную иммунологическую реакцию со стороны CD4- и CD8-лимфоцитов в капсулах двух изучаемых видов туберкулем, механизмы регуляции туберкулезного воспаления будут связаны с разным содержанием КА в макрофагах и концентрацией возбудителя в легочной ткани.

В перифокальных зонах туберкулем стабильного течения было выявлено снижение числа изучаемых лимфоцитов, с преобладанием Т-хелперов. Появление контактов между ними и интерстициальными макрофагами, возможно, является одним из звеньев в механизме регуляции фазы ремиссии специфического туберкулезного воспаления. Напротив, в легочной ткани вокруг капсулы прогрессирующей туберкулемы, отмечалось увеличение CD8⁺ лимфоцитов и повышенное содержание КА в макрофагах. Более того, в этой зоне обнаруживались

сильные корреляционные межмакрофагальные связи, контактное взаимодействие ВАМ и ИМ с CD4⁺-лимфоцитами и увеличение числа Т-киллеров вокруг кровеносных сосудов.

Исходя из полученных нами данных, можно предположить, что регулирование фаз течения туберкулезного воспаления осуществляется разными клеточными взаимодействиями. Наступление фазы ремиссии может быть связано с ослаблением или полным разрывом связей между всеми описанными структурами, и преимущественным влиянием интерстициальных макрофагов. В свою очередь, одновременное повышение содержания нейрамина и образование сильных связей между разными катехоламин-содержащими клетками в активную фазу воспаления может зависеть от концентрации микобактерий в изучаемых зонах. В участках легких с повышенным числом микобактерий воспалительная реакция, возможно, связана как с ТК, так и макрофагами. В зонах с меньшей концентрацией возбудителя экссудативная фаза регулируется преимущественно макрофагами.

Таким образом, можно предположить, что иммунно-клеточный механизм регуляции туберкулезного воспаления при стабильном течении больше зависит от числа хелперов (CD4), а при прогрессирующем — одновременно от хелперов и киллеров. При прогрессирующем течении туберкулемы отмечается увеличение катехоламин-содержащих макрофагов, образующих контакты с Т-лимфоцитами хелперами.

Список литературы/References

- Абрамов В.В., Абрамова Т.Я., Козлов В.А. Принципы вегетативной регуляции функций иммунокомпетентных клеток: фундаментальное и прикладное значение // Успехи современной биологии. 2006. Т. 126, № 4. С. 379–387. [Abramov V.V., Abramova T.Ya., Kozlov V.A. Principles of vegetative regulation of immunocompetent cell functions: fundamental and applied significance. *Uspekhi sovremennoi biologii = The Successes of Modern Biology*, 2006, vol. 126, no. 4, pp. 379–387. (In Russ.)]

2. Бердюгина О.В., Ершова А.В. Количественная и функциональная оценка состояния Т-лимфоцитов при туберкулемах легкого // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 1. [Berdyugina O.V., Ershova A.V. Quantitative and functional assessment of the state of T-lymphocytes in pulmonary tuberculosis. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya* = *Modern Problems of Science and Education*, 2016, no. 1. (In Russ.)] URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=24128>
3. Гималдинова Н.Е., Любовцева Л.А., Любовцева Е.В. Уровень нейротрансмиттеров в нейроаминсодержащих структурах легких при разных формах туберкулеза // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 6. С. 1067–1074. [Gimaldinova N.E., Lyubovtseva L.A., Lyubovtseva E.V. Neurotransmitter level in neuroamin-containing lung structures in different forms of tuberculosis. *Infektsiya i immunitet* = *Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 6, pp. 1067–1074. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-DON-1632
4. Елипашев А.А., Никольский В.О., Шпрыков А.С. Зависимость активности туберкулезного воспаления (по морфологическим данным) от различной давности заболевания у пациентов с ограниченным лекарственно устойчивым туберкулезом легких // Вестник новых медицинских технологий. 2016. № 1. С. 54–59. [Elipashov A.A., Nikolsky V.O., Shprykov A.S. Dependence of the activity of tuberculous inflammation (according to morphological data) on the different duration of the disease in patients with limited drug-resistant pulmonary tuberculosis. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii* = *Herald of New Medical Technologies*, 2016, no. 1, pp. 54–59. (In Russ.)] doi: 10.12737/18556
5. Кравцов А.Л., Кожевников В.А., Ключева С.Н., Кудрявцева О.М., Щуковская Т.Н., Микшис Н.И., Бугоркова С.А. Характеристика показателей клеточного иммунитета у вакцинированных против чумы лиц, проживающих на территории Прикаспийского песчаного природного очага чумы // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2019. Т. 18, № 3. С. 67–74. [Kravtsov A.L., Kozhevnikov V.A., Klyueva S.N., Kudryavtseva O.M., Shchukovskaya T.N., Mikshis N.I., Bugorkova S.A. Characteristics of cellular immunity indicators in people vaccinated against plague living on the territory of the Caspian sandy natural plague outbreak. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika* = *Epidemiology and Vaccine Prophylaxis*, 2019, vol. 18, no. 3, pp. 67–74. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2019-18-4-67-74
6. Новиков Д.К., Новикова В.И. Оценка иммунного статуса, Витебск–Москва, 1996. 286 с. [Novikov D.K., Novikova V.I. Assessment of the immune status. *Vitebsk–Moscow*, 1996: 286 p. (In Russ.)]
7. Холодок О.А., Григоренко А.А., Черемкин М.И. Клиническое наблюдение течения туберкулем легкого с морфологической интерпретацией их активности // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2014. № 51. С. 137–140. [Kholodok O.A., Grigorenko A.A., Cheremkin M.I. Clinical observation of the course of pulmonary tuberculosis with morphological interpretation of their activity. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya* = *Bulletin of Physiology and Pathology of Respiration*, 2014, no. 51, pp. 137–140. (In Russ.)]
8. Холодок О.А., Григоренко А.А., Черемкин М.И. Туберкулема легкого как форма туберкулезного процесса // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2014. № 53. С. 126–131. [Kholodok O.A., Grigorenko A.A., Cheremkin M.I. Pulmonary tuberculosis as a form of tuberculosis process. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya* = *Bulletin of Physiology and Pathology of Respiration*, 2014, no. 53, pp. 126–131. (In Russ.)]
9. Холодок О.А., Черемкин М.И. Морфологические аспекты активности туберкулем легкого // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2013. № 49. С. 51–54. [Kholodok O.A., Cheremkin M.I. Morphological aspects of pulmonary tuberculosis activity. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya* = *Bulletin of Physiology and Pathology of Respiration*, 2013, no. 49, pp. 51–54. (In Russ.)]
10. Agostini C., Chilosi M., Zambello R., Trentin L., Semenzato G. Pulmonary immune cells in health and disease: lymphocytes. *Eur. Respir. J.*, 1993, vol. 6, no. 9, pp. 1378–1401.
11. Bloom B.R., Atun R., Cohen T., Dye C., Fraser H., Gomez G.B., Knight G., Murray M., Nardell E., Rubin E., Salomon J., Vassall A., Volchenkov G., White R., Wilson D., Yadav P. Tuberculosis. In: Major Infectious Diseases. Eds: Holmes K.K., Bertozzi S., Bloom B.R., Jha P.; 3rd ed. *Washington (DC): The International Bank for Reconstruction and Development*, 2017. Chapter 11.
12. Lynch M.J., Raphael S.S., Mellor L.D., Spare P.D., Inwood M.J. Medical laboratory technology and clinical pathology; 2nd ed. *WB Saunders Co., Philadelphia London Toronto*, 1969. 1359 p.
13. Semenzato G., Bortolin M., Facco M., Tassinari C., Sancetta R., Agostini C. Lung lymphocytes: origin, biological functions, and laboratory techniques for their study in immune-mediated pulmonary disorders. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 1996, vol. 33, no. 5, pp. 423–455. doi: 10.3109/10408369609084692
14. Falck B., Hillarp N.A., Thieme G., Torp A. Fluorescence of catechol amines and related compounds condensed with formaldehyde. *Brain Res. Bull.*, 1982, vol. 9, no. 1–6, pp. xi–xv. doi: 10.1016/0361-9230(82)90113-7

Авторы:

Гималдинова Н.Е., к.м.н., доцент кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, Россия;

Любовцева Л.А., д.б.н., член-корреспондент РАЕ, профессор кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, Россия;

Сергеев А.В., к.м.н., доцент, зам. начальника Республиканского бюро судебно-медицинской экспертизы Минздрава Чувашии, г. Чебоксары, Россия.

Authors:

Gimaldinova N.E., PhD (Medicine), Associate Professor of the Department of General and Clinical Morphology and Forensic Medicine, Chuvash State University named after I.N. Ulyanov, Cheboksary, Russian Federation;

Lyubovtseva L.A., DSc (Biology), RANH Corresponding Member, Professor of the Department of General and Clinical Morphology and Forensic Medicine, Chuvash State University named after I.N. Ulyanov, Cheboksary, Russian Federation;

Sergeev A.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Deputy Head of the Republican Bureau of Forensic Medical Examination of the Ministry of Health of Chuvashia, Cheboksary, Russian Federation.

Поступила в редакцию 11.04.2024
Принята к печати 13.08.2024

Received 11.04.2024
Accepted 13.08.2024

CHANGES IN NUMBER, MORPHOLOGY AND VOLUME OF PLATELETS DURING NEONATAL SEPSIS

M. Zakerihamidi^a, H. Boskabadi^b, M. Nayeri^b, Z. Badiee^b, F. Bagheri^c, S. Amirkhani^a

^a Islamic Azad University, Tonekabon, Iran

^b Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

^c Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Abstract. *Introduction.* Thrombocytopenia is considered as one of the signs of sepsis but, Changes in number, morphology and volume of platelets is not widely researched upon in this matter. Therefore, the current study is aiming to analyze the changes in number, morphology and volume of platelets during neonatal sepsis. *Materials and methods.* This cross-sectional study has been carried out on 807 premature neonates suspected to have infection in Ghaem hospital Mashhad from 2015–2023 by using available sampling method. The data collection tool, researcher-made checklist included laboratory evaluations by which platelet indicators [Platelet count, Platelet distribution width (PDW) and mean platelet volume (MPV)] were measured and compared before, during infection and after recovery. Afterwards, platelet characteristics in septic neonates (Case group) were compared to neonates without definite signs of infection (Control group). *Results.* Two hundred ninety-five neonates (35.5%) had definitive sepsis. In the case group the number of platelets was less and the amount of MPV and PDW were higher than control group. The number of platelets decreases during infection, but this numbers increase after recovery. PDW increases during infection and after recovery. Fifty four percent of infected neonates had thrombocytopenia. Thrombocytopenia in 78% of neonates with sepsis caused by *Klebsiella pneumoniae* and in 58% of the cases caused *Enterobacter aerogenes* was seen. The optimal cutoff value of platelet to differentiate case from those of control group was lower than 100 000/mcL, with a sensitivity of 73%, specificity 12.2% (AUC = 0.427), MPV more than 9.8(fl), with a sensitivity of 80%, specificity 47% (AUC = 0.618), PDW more than 11.2(fl), with a sensitivity of 90%, specificity 28.4% (AUC = 0.763). *Conclusion.* During infection the number of platelets decreases, but MPV and PDW increase. Thrombocytopenia was seen more in gram-negative bacteria rather than gram-positive. During infection the number of platelets decreases but after recovery the number of platelets, MPV and PDW increases. Platelet indices have good sensitivity but low specificity in diagnosing definitive infection.

Key words: neonates, sepsis, platelets, platelet distribution width (PDW), mean platelet volume (MPV), bacteria.

ИЗМЕНЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА, МОРФОЛОГИИ И ОБЪЕМА ТРОМБОЦИТОВ ПРИ НЕОНАТАЛЬНОМ СЕПСИСЕ

Закерихамиди М.¹, Боскабади Х.², Найери М.², Бади З.², Багери Ф.³, Амирхани С.¹

¹ Исламский университет Азад, г. Тонекабон, Иран

² Университет медицинских наук Мешхеда, г. Мешхед, Иран

³ Исламский университет Азад, г. Мешхед, Иран

Резюме. *Введение.* Тромбоцитопения считается одним из признаков сепсиса, однако изменения количества, морфологии и объема тромбоцитов при этом изучены недостаточно. В этой связи настоящее исследование

Адрес для переписки:

Хасан Боскабади
Мешхедский университет медицинских наук, медицинский факультет, кафедра педиатрии, г. Мешхед, Иран.
Тел.: +98-511-8412069.
E-mail: boskabadih@mums.ac.ir

Contacts:

Hassan Boskabadi
Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.
Phone: +98-511-8412069.
E-mail: boskabadih@mums.ac.ir

Для цитирования:

Закерихамиди М., Боскабади Х., Найери М., Бади З., Багери Ф., Амирхани С. Изменения количества, морфологии и объема тромбоцитов при неонатальном сепсисе // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 152–160. doi: 10.15789/2220-7619-CIN-17684

Citation:

Zakerihamidi M., Boskabadi H., Nayeri M., Badiee Z., Bagheri F., Amirkhani S. Changes in number, morphology and volume of platelets during neonatal sepsis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 152–160. doi: 10.15789/2220-7619-CIN-17684

© Zakerihamidi M. et al., 2025

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-CIN-17684>

было посвящено анализу указанных изменений тромбоцитов при неонатальном сепсисе. *Материалы и методы.* Проведено поперечное исследование на 807 недоношенных новорожденных с подозрением на инфекцию в больнице Гаем в Мешхеде с 2015 по 2023 гг. с использованием доступного метода отбора проб. Форма учета результатов, составленная исследователями, содержала результаты лабораторных анализов, а именно показатели тромбоцитов [количество тромбоцитов, ширина распределения тромбоцитов (PDW) и средний объем тромбоцитов (MPV)] до, во время инфекции и после выздоровления. После этого характеристики тромбоцитов у новорожденных с сепсисом (основная группа) сравнивались с новорожденными без определенных признаков инфекции (контрольная группа). *Результаты.* У 295 новорожденных (35,5%) был диагностирован сепсис. В основной группе количество тромбоцитов было меньше, а уровень MPV и PDW был выше, чем в контрольной группе. Количество тромбоцитов уменьшается во время инфекции, но увеличивается после выздоровления. PDW увеличивается во время инфекции и после выздоровления. У 54% инфицированных новорожденных отмечена тромбоцитопения, при этом у 78% новорожденных сепсис был вызван *Klebsiella pneumoniae*, а в 58% случаев — *Enterobacter aerogenes*. Оптимальное пороговое значение тромбоцитов для различий между основной и контрольной группами было ниже 100 000/мкл, с чувствительностью 73%, специфичностью 12,2% (AUC = 0,427), MPV более 9,8 (fl), с чувствительностью 80%, специфичностью 47% (AUC = 0,618), PDW более 11,2 (fl), с чувствительностью 90%, специфичностью 28,4% (AUC = 0,763). *Заключение.* Во время неонатального сепсиса количество тромбоцитов уменьшается, но уровни MPV и PDW увеличиваются. Тромбоцитопения чаще наблюдалась при патологии, вызванной грамотрицательными чем грамположительными бактериями. Во время инфекции количество тромбоцитов уменьшается, однако после выздоровления количество тромбоцитов, MPV и PDW увеличивается. При диагностике типичной инфекции индексы тромбоцитов показали хорошую чувствительность, но низкую специфичность.

Ключевые слова: новорожденные, сепсис, тромбоциты, ширина распределения тромбоцитов по объему (PDW), средний объем тромбоцитов (MPV), бактерии.

Introduction

Sepsis is one of the most common infectious diseases in neonates which most often appears in premature and low birth weight neonates [47] and in developing countries it is considered as one of the main reasons for neonatal death [34]. In general, sepsis is described as a systemic inflammatory reaction against infections [1]. Mostly, positive blood culture with the addition of clinical and laboratory signs of infection is considered as definitive sepsis [18]. Early diagnosis and treatment of sepsis is a necessity to reduce morbidity and mortality due to infection [10]. Therefore, different parameters must be used. Due to the fact that blood culture is time-consuming and needs at least 48 to 72 hours, in order to diagnose and treat sepsis on time, we can rely on hematologic findings such as platelet indicators (the number of platelets,

Platelet distribution width (PDW) and mean platelet volume (MPV) [2, 6, 27]. Since platelet indicators are biomarkers of platelet activation, during sepsis, these indicators also change [9].

Platelets are one of the blood components and are involved in different physiological and pathological processes such as homeostasis, thrombosis, bleeding, inflammation and immune regulation.

The number of platelets is considered as a nonspecific biomarker in diagnosing sepsis or other diseases. Platelet count is quite important and thrombocytopenia is one of the initial findings in neonatal sepsis. In Oh et al. study, platelet count of less than 80 000/ μ l in 40% of patients with severe sepsis was report-

ed [38]. Thrombocytopenia happens when the number of platelets is less than 150 000/ μ l [23]. In septic patients, thrombocytopenia mostly follows with irregular responses from the host [52]. The pathogenesis of thrombocytopenia in neonatal sepsis is not fully understood yet. It is plausible that during neonatal sepsis, endothelial damage activates platelet harvesting by the reticuloendothelial system (RES), and possibly, platelet production decreases relative to its consumption during infection [32].

MPV in physiologic situations has an opposite relation with the number of platelets [40]. MPV is used in diagnosing, predicting and monitoring the severity of neonatal sepsis [39]. Increase in MPV levels is an indicator of increase in platelet production in bone marrow which happens in conditions such as septicemia, thrombosis or inflammations [28]. Significant increase in MPV levels compared to base amounts in neonatal sepsis was reported by Guida et al. A combination of increase in platelet destruction and insufficient platelet production during thrombocytopenia caused by sepsis in neonates can cause the release of immature platelets into the bloodstream. The increase in immature platelet levels in blood can raise MPV levels [20].

PDW is an indicator of changes in platelet volume in size and shows heterogeneity in platelet morphology. In case of platelet anisocytosis, PDW increases. PDW reference value ranges from 8.3% to 56.6%. Under physiologic circumstances, there is a direct link between MPV and PDW and they both usually change in one direction [9]. Tayman et al. have reported higher levels of PDW followed by an in-

Table 1. Comparing the mean amount of laboratory variables of neonates in two groups of neonates without infection and those with infection

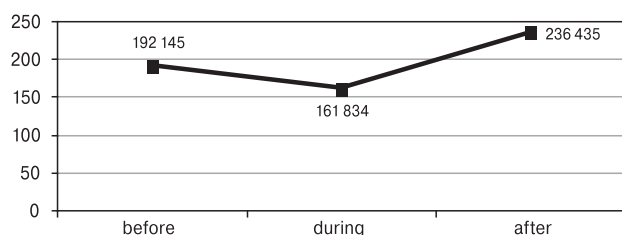
Variable	Case group N = 295 (34%)	Control group N = 512 (66%)	P-value (T-Test)
PLT	164.00±129.00	204.00±116.00	0.005
MPV	11.88±5.05	9.31±1.28	0.000
PDW	13.00±2.00	12.62±2.05	0.000

crease in MPV levels during sepsis in consecutive days among premature neonates which ultimately died [50].

As noted in limited studies, the size and the morphology of a platelet changes during the infection. However, the studies have been carried out, using low sample sizes and they occasionally had inconsistent outcomes. Considering the fact that the number and morphology of platelets is easily accessible for the physician, if these factors help evaluate the possibility of infection, early treatment would be started for the neonate which can lead to improve patient's survival. Therefore, the current study is done aiming to analyze the changes in number, morphology and volume of platelets before, during infection and after recovering from neonatal sepsis and comparing it with neonates without infection.

Materials and methods

This cross-sectional study has been performed on 807 premature neonates suspected to have infection in Ghaem hospital, Mashhad, from 2015 to 2023 by using available sampling method. This study was approved by the ethics committee of Mashhad University of Medical Sciences (IR.MUMS.fm.REC.1401.658) and samples were taken after obtaining the consent of parents. A sample containing 1 cc of blood was collected in order to evaluate PLT, MPV and PDW. Inclusion criteria were as follows: having at least one of the symptoms such as poor feeding, listlessness and lethargy, hypotonia, respiratory distress, hypo- or hyperthermia, apnea, seizure, direct jaundice, diarrhea and vomiting, loss of consciousness, bradycardia, showing signs of local infections, abdominal distension [11]. Laboratory symptoms confirming sepsis included leukocytosis (WBC more than 15 000) and leukopenia (WBC less than 5000), thrombocytopenia (PLT \leq 150 000) and CRP positive (more or equal to 6 mg per deciliters).

**Figure 1. Changes of platelet before, during infection and after treatment**

Neonates with positive blood culture in addition to having at least one of the clinical signs of infection and one of the laboratory signs of infection were considered to have definitive sepsis (Case group). Neonates with positive blood culture during the first three days of hospitalization were considered to have early onset sepsis (EOS) and neonates who showed signs of infection after 3 days were considered to have late onset sepsis (LOS). Neonates without definite signs of infection and negative blood culture were considered as the control group. Neonates with congenital infections and congenital anomaly were excluded from the study.

After obtaining the blood culture results, under-study units were deliberated in terms of the number of platelets, PDW and MPV and a comparison was made between case and control group. Also, the number of platelets, PDW, and MPV were compared before, during, and after infection recovery. Data collection tool was researcher made checklist including the neonates' laboratory specifications (PLT, MPV and PDW).

After collecting and coding the data, they were analyzed using SPSS (version 26). In the data analysis stage, first a general description of data was obtained with statistical tables and charts, and then, by using the T-test, we compared platelet indices in non-infected and infected neonates. The ROC curve analyses have been performed to evaluate if platelet count could be a biomarker for distinguishing definitive infection from those without infection. The significance level in all cases is $p \leq 0.05$.

Results

807 neonates suspected of infection have been enrolled in this study. 512 neonates (66%) did not have infection and 295 neonates (35.5%) had infection. The number of platelets, MPV and PDW in two groups had statistically significant difference. In the group with definitive infection, the number of platelets was lower and the amount of MPV and RDW were higher (Table 1).

The results of the study depicted that the number of platelets decreases during infection, but this number increases after recovery (Fig. 1).

PDW increases during infection and after recovery (Fig. 2).

In this study, 54.5% of infected neonates and 32.7% non-infected neonates had thrombocytopenia. Forty percent of neonates with EOS and 57%

of neonates with LOS, had thrombocytopenia ($p = 0.000$). Thrombocytopenia in LOS was 1.5 times more than EOS. Thrombocytopenia can be observed in more than 50% of neonates with sepsis *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter aerogenes* (Fig. 3).

As can be seen in Table 2, PDW higher than 11.5 fl is observed in 88.2% of neonates with definitive infection.

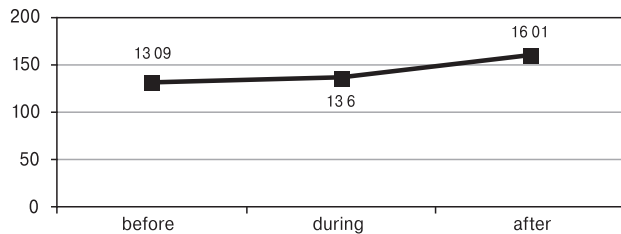


Figure 2. Changes in PDW before, during and after treatment

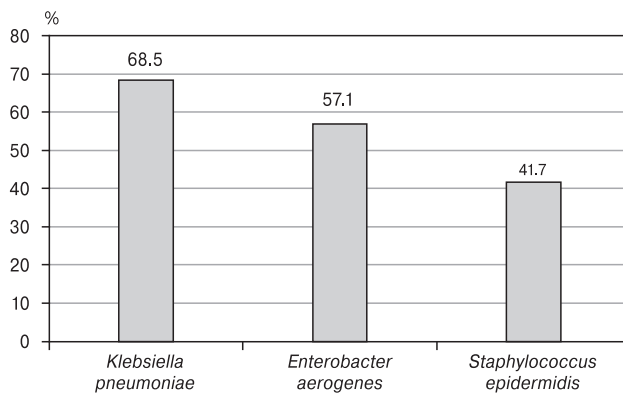


Figure 3. The percentage of thrombocytopenia in neonates with infection

As seen in Table 3, MPW higher than 11 fl is observed in 47% of neonates with infection, while it is reported in less than 8% of non-infected neonates.

Platelet count less than 100 000 per microliter has a sensitivity of 73% and a specificity of 12.2% in diagnosis of neonatal sepsis (AUC = 0.427). MPV more than 9.8 fl has 80% sensitivity and 47% specificity in neonatal sepsis diagnosis (AUC = 0.618). PDW

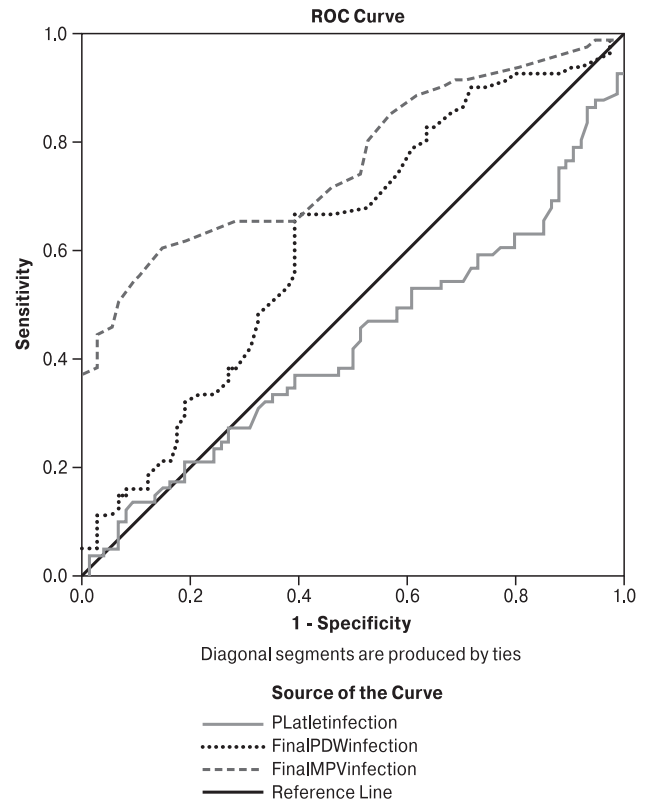


Figure 4. Sensitivity and specificity of PLT, PDW and MPV in diagnosis of neonatal sepsis

Table 3. Comparing the PDW of neonates in two groups of neonates without infection and those with infection

Variable: PDW	Control group (%)	Case group (%)	P-value (chi-square)
Normal (7.5–11)	32.2	11.8	0.001
Abnormal (> 11.5)	64.8	88.2	

Table 4. Comparing the MPV of neonates in two groups of neonates without infection and those with infection

Variable: MPV	Without infection (%)	Definitive infection (%)	The significance level* (chi-square)
Normal (< 11)	92.3	52.6	0.001
Abnormal (> 11)	7.7	47.4	

Note. *P-value of less than 0.05 was regarded as statistically significant.

Table 5. Comparing the mean amount of laboratory variables of neonates in two groups of gram-negative and gram-positive micro-organisms

Variable	Gram negative Mean±SD	Gram positive Mean±SD	The significance level* (T-Test)
PLT	153.58±113.93	188.71±162.15	0.001
MPV	11.92±3.04	10.80±2.33	0.047
PDW	13.98±2.47	13.54±2.97	0.490

Note. *P-value of less than 0.05 was regarded as statistically significant.

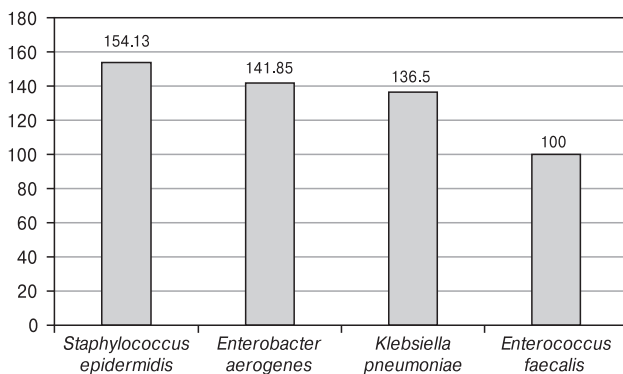


Figure 5. Mean amount of platelet in sepsis common germs among neonates with infection

greater than 11.2 fl has a sensitivity of 90.1% and a specificity of 28.4% in diagnosis of neonatal sepsis (AUC = 0.763) (Fig. 4).

The comparison of platelet indices between gram-positive and gram-negative bacteria shows that the number of platelets decreases more and MPV significantly increases in sepsis caused by gram-negative bacteria compared to gram-positive bacteria (Table 4).

The highest amount of platelets was reported in sepsis with *Enterobacter* agent and the least amount of platelets, in sepsis with *Enterococcus* agent (Fig. 5).

Discussion

According to the results of this study, in infants with definite infection compared to infants without definite infection the number of platelets is reduced, and this decrease is seen more in infections caused by gram-negative bacteria. Although the reduction of platelets has an acceptable sensitivity for diagnosis of definitive infection, it has very little specificity. In this study, Thrombocytopenia in the group with infection was 1.5 times more than the group without infection (54% compared to 34%). The incidence of thrombocytopenia in sepsis has been reported to be 20 to 81% [5, 35, 36, 43]. Ahmad et al. introduced thrombocytopenia as a predictor of neonatal sepsis. They observed a higher mortality rate in infants with thrombocytopenia [2]. Thrombocytopenia in septic neonates is multi factorial and can be divided into several general categories such as increased platelet destruction, reduce in platelet production, various reasons and unknown reasons [4]. Physicians, who are faced with this homeostatic disorder or significant decrease in the number of platelets, should actively identify the underlying causes and try to rectify it. Detailed patient history and precise physical exam are the keys to a correct diagnosis, which should be approved by laboratory test results along with data analysis in clinical context [53]. Thrombocytes have a complicated role in sepsis. During sepsis and stimulation of pathogens, coagulation cascades, inflam-

matory responses along with endothelial tissue damage continuously cause activation of platelets [14] and platelets' surface proteins can connect to bacteria [21]. Platelet consumption by platelet activation with intermediate thromboses is the most common mechanism. In severe sepsis diffuse intravascular coagulation can happen which can lead to intravascular fibrin formation and thrombotic vascular occlusion. Consumption of platelets and its subsequent thrombocytopenia and reduction of coagulation factors simultaneously, caused by continues coagulation, can cause excessive bleeding [53]. According to the fact that thrombocytopenia occurs in half of the neonates with sepsis, we can use it as a marker for neonatal sepsis diagnosis, since this blood marker can be quickly accessed by the physician.

The probable pathophysiology is neonatal sepsis-induced endothelial damage and the formation of microthrombi, which can lead to the consumption of platelets. The imbalance between the production from the bone marrow and consumption leads to low platelet count in neonatal sepsis [42].

In this study thrombocytopenia in LOS was 1.5 times more than EOS (57% compared to 40%). In Khasswanhe et al. study, higher rates of thrombocytopenia in neonates with LOS was reported, approximately three times higher than EOS (59.3% compared to 24%) [26]. In Sangsari et al. study, 33.3% of neonates with EOS, 40% of neonates with LOS and 50% of neonates with clinical infections had thrombocytopenia [35]. In Mittal and Guida studies, prevalence of thrombocytopenia in LOS was significantly higher than EOS [20, 36].

According to our study the number of platelets decreases more and MPV significantly increases in gram-negative bacteria caused infection compared to infections caused by gram-positive. In Guida et al. study the duration of thrombocytopenia related to sepsis was different depending on the microorganisms causing it. Gram-negative and fungal infections had a longer period of thrombocytopenia compared to the gram-positive infections [20]. According to studies, platelet levels in sepsis cases caused by gram-negative microorganisms in comparison with gram positive cases was less [3, 5, 8, 29].

In 69% of the cases with sepsis *Klebsiella pneumoniae* and 57% with *Enterobacter aerogenes* agent thrombocytopenia was observed. Although thrombocytopenia can be seen in various microbial causes of neonatal infection, but according to Ghanghoriya study, in infections caused by gram-negative microbes specially in *Klebsiella* [17] and according to Torkaman study, in infections caused by *Enterobacter* it was more common [51]. In Karne study, *Pseudomonas aeruginosa* was the most common organism causing neonatal sepsis accompanying severe thrombocytopenia (64.7%) than mild or moderate thrombocytopenia [25]. This may be due to more endotoxin produced by the gram-negative bacteria. Bacterial

endotoxin inhibits platelet production by obstructing the bone marrow megakaryocytes in patients [16]. Whereas, In Sangsari et al. study, thrombocytopenia was observed in 28.5% of neonatal sepsis with gram-positive and 16.6% with gram-negative [35]. In Shane et al. study, thrombocytopenia was diagnosed in 25% of neonates with sepsis, but there wasn't a significant difference between gram-positive and gram-negative caused infections [48]. Since the outbreak of thrombocytopenia in cases of sepsis due to gram-negative microorganisms is more common, therefore in cases of thrombocytopenia in neonatal sepsis, initially a suitable treatment for gram negatives should be considered.

In our study, moderate thrombocytopenia (PLT < 100 000/ μ l) has a sensitivity of 73% and a specificity of 12.2% in diagnosis of neonatal sepsis (AUC = 0.427). Thrombocytopenia (platelet count < 150 000/ μ l) had the highest sensitivity to detect sepsis (87.91%) followed by MPV and PDW with a sensitivity of 84.9% and 79.12%, respectively (Majumdar et al., 2021). The sensitivity and specificity of thrombocytopenia in detecting neonatal sepsis was found to be 83.08% and 20.33%, respectively [2].

According to the results of this study, MPV increases in infants with definitive infection compared to those without infection and this increase is significantly higher in gram-negative bacteria caused sepsis. In neonates with definitive infection high MPV (more than 11 fl) has been reported 6 times more than uninfected neonates. Choudhary et al. reported that high levels of MPV and PDW, and thrombocytopenia is more common in LOS than EOS [13]. In Mittal study, a significantly higher MPV in the LOS group was reported [36]. MPV, due to its sensitivity can be used as a marker for platelet morphology. Any rise in MPV level indicates a raise in platelet production by the bone marrow as a reciprocation to its destruction or consumption elsewhere. In general, platelets reduce in size due to aging, as a result MPV decreases. Moreover, it is depicted that platelets that have increased volume are more active, hypersensitive, and have a faster respond during the aggregation process while demanding minimum stimulus. These platelets are more adhesive in nature and in order to aid blood stasis they become more inert. These traits are believed to be due to the presence of excess of dense granules and thromboxane in the cytoplasm of larger platelets [7]. MPV is used as a potential marker for early diagnosis of severe sepsis and predicting the outcomes [24, 25]. The results of Cai et al. study depicted that MPV can be an independent predictor of neonatal sepsis prognosis, and can help predict the prognosis of premature neonates with LOS in early stages [12]. In Mittal study, MPV increased in 70.7% of neonatal sepsis [36]. The difference between baseline MPV level of neonates with culture-proven sepsis was comparatively higher than control group and this difference was found to be statistically

significant. Hence, MPV can be used as a simple, economical, and specific factor to predict neonatal sepsis [22]. In Sangsari et al. study, increase in MPV levels in 25.6% of septic neonates was observed [45]. According to the results of Cai et al. study, increase in MPV levels in premature neonates can be caused by increase in blood coagulation, increased inflammatory response and oxidative stress. Which amongst all these reasons, the most common cause of relation between MPV and mortality is inflammatory responses [12]. Elevated MPV may indicate endothelial damage as well as platelet activation, and is an easily accessible hematological parameter [49]. According to results of Shaaban study MPV levels on third day after birth can be used as an alternate marker for predicting EOS and mortality related to it in premature neonates [46]. Therefore, given that the MPV increases during inflammation, it can be considered as a predicting marker in premature neonates with sepsis. However, the exact pathophysiologic mechanisms are still unknown [54].

In our study, increase in MPV greater than 9.8 fl has a sensitivity of 80% and a specificity of 47% in diagnosing the infection. In Tayman study, the MPV value of 10.35 fl was considered as the cut off value in patients probably resulting in sepsis with a sensitivity of 97.8% and specificity of 78.7% (AUC = 0.949; $p < 0.001$) [50]. In Milas study, MPV levels in infected neonates were found significantly higher compared to healthy neonates. In sepsis diagnosis, sensitivity and specificity of MPV was proven to be 0.675 (95% CI: 0.536–0.790) and 0.733 (95% CI: 0.589–0.840), respectively, at an optimal cut-off point of 9.28fL [35]. In Sagheb study, there were statistically significant differences between MPV (Mean Difference: 0.56, 95% CI: 0.25 to 0.86, $p < 0.001$) in neonatal sepsis compared to healthy neonates. Diagnostic cut-off levels with sensitivity of (80.56%) and specificity of (52%) were found to be MPV > 9.2 fl [44]. The sensitivity and specificity values of MPV (cut-off > 9 fl) were 63.40% and 53.8% respectively. The area under the curve (AUC) values for MPV, in the ROC analysis were 0.641 [42]. In Pamudji study, MPV with a cut-off point of 7.44 fl can be used for neonatal sepsis diagnosis with a sensitivity of 80% and 84.2% specificity [41]. The mechanism of changing platelet function in sepsis is still unclear. During activation, platelet morphology changes from discoid to spherical with pseudopodia. MPV reflects the average size of platelets. Old platelets are smaller in size in comparison with young platelets. An increase in number of young platelets indicates a raise in platelet production due to overconsumption induced by inflammation. Larger platelets are believed to be metabolically, functionally, and enzymatically more active than smaller platelets.

According to the results of this study, PDW has a definitive increase in neonates with infection compared to those without infection, which this increase

is insignificantly higher in gram-negative bacteria caused sepsis. Increase in PDW greater than 11.2 has a sensitivity of 90% and a specificity of 28% for the diagnosis of definitive infection. In Sangsari et al. study, increase in PDW levels was observed in 24.3% of septic neonates [45]. In 67% of cases (n = 188) PDW was found to increase compared to the control group (36.2%) (p < 0.0001) [36]. Guclu et al. reported that septic patients with PDW levels higher than 18%, had worse outcomes [19]. The results of Meabed study depicted that the average amount of platelets and PDW among septic neonates was less than the control group. Meanwhile, PDW level in septic patients was significantly higher than control group. PDW increases during infection [33]. In Karne study, platelet indices, MPV and PDW values were increased in newborns with sepsis. 43.69% of proven and probable sepsis showed increased PDW value [25]. Therefore, platelet function can be an important diagnostic marker in neonatal sepsis [33]. In Tayman et al. study, there were no statistically significant difference in PDW levels between the group of neonates with sepsis and the control group [50]. Catal et al. study reported higher levels of PDW along with higher MPV levels during sepsis episodes on consecutive days among non-survivors [50]. According to Choudhar study, 65.81% of the neonates in case group and 34.69% in control group had PDW higher than 19.1 FL and which this difference between the two groups was statistically significant (p = 0.0001) [36]. PDW is an indicator of volume variability in platelets size and depicts the heterogeneity in platelet morphology [15]. It increases when there is platelet anisocytosis. Under physiological conditions, there is a direct connection between MPV and PDW; both usually change in the same direction [9]. A high PDW may result from platelet swelling in the circulation and platelet immaturity, which can indicate platelet heterogeneity [31]. In order to predict outcomes in pediatric and neonatal

sepsis, metrics such as PDW, which is an indicator of platelet size, have been used. Changes in these parameters during sepsis can help us gain a plain insight into the multiple roles played by platelets in sepsis pathophysiology [37].

The main limitation of our study is its retrospective nature. Therefore, it is recommended to carry out detailed prospective studies on this subject.

Conclusion

Sepsis in premature neonates can lead to thrombocytopenia and changes in platelet indicators (PDW, MPV and PLT) and all these indicators are easily accessible and cost-effective and can be obtained during usual blood count. During infection the number of platelets decreases, but MPV and PDW increase. Before and during infection the number of platelets and MPV decrease but after recovery the number of platelets, MPV and PDW increase. Thrombocytopenia in LOS was 1.5 times more than EOS, and thrombocytopenia in sepsis caused by gram-negative microorganisms was more common than gram-positive. Increase MPV and PDW in sepsis caused by gram-negative microorganisms was more common than gram-positive. Platelet indices have good sensitivity but low specificity in diagnosing definitive infection

Acknowledgements

The current study is the result of the project approved by Mashhad University of medical science (4011568). Hereby the authors of this article express their gratitude to the (research assistant of the university), the director of research department and other officials or authorities.

And they are grateful to all the people who assisted this project.

References

1. Acikgoz S., Akduman D., Eskici Z.M., Can M., Mungan G., Guven B., Comert F., Sumbuloglu V. Thrombocyte and erythrocyte indices in sepsis and disseminated intravascular coagulation. *J. Med. Biochem.*, 2012, vol. 31, no. 1, pp. 60–64. doi: 10.2478/v10011-011-0043-1
2. Ahmad M.S., Waheed A. Platelet counts, MPV and PDW in culture proven and probable neonatal sepsis and association of platelet counts with mortality rate. *J. Coll. Physicians. Surg. Pak.*, 2014, vol. 24, no. 5, pp. 340–344.
3. Ahmed F., Raj A.Y., Begum L.N. Thrombocytopenia in late onset neonatal sepsis and its relationship with specific organism in a tertiary care hospital. *Mymensingh. Med. J.*, 2017, vol. 26, no. 4, pp. 900–905
4. Aird W.C. The hematologic system as a marker of organ dysfunction in sepsis. *Mayo Clinic Proceedings*, 2003, vol. 78, iss. 7, pp. 869–881.
5. Arabdin M., Khan A., Zia S., Khan S., Khan G.S., Shahid M. Frequency and severity of thrombocytopenia in neonatal sepsis. *Cureus*, 2022, vol. 14, no. 2: e22665. doi: 10.7759/cureus.22665
6. Aydın B., Dilli D., Zenciroğlu A., Karadağ N., Beken S., Okumuş N. Mean platelet volume and uric acid levels in neonatal sepsis. *Indian. J. Pediatr.*, 2014, vol. 81, no. 12, pp. 1342–1346. doi: 10.1007/s12098-014-1417-4
7. Becchi C., Al Malyan M., Fabbri L.P., Marsili M., Boddi V., Boncinelli S. Mean platelet volume trend in sepsis: is it a useful parameter? *Minerva Anestesiol.*, 2006, vol. 72, no. 9, pp. 749–756. English, Italian
8. Bhat M.A., Bhat J.I., Kawoosa M.S., Ahmad S.M., Ali S.W. Organism-specific platelet response and factors affecting survival in thrombocytopenic very low birth weight babies with sepsis. *J. Perinatol.*, 2009, vol. 29, no. 10, pp. 702–708. doi: 10.1038/jp.2009.72
9. Bhat R. Platelet indices in neonatal sepsis: a review. *World J. Clin. Infect. Dis.*, 2017, vol. 7, no. 1, pp. 6–10. doi: 10.5495/wjcid.v7.i1.6

10. Boskabadi H., Maamouri G., Afshari J.T., Ghayour-Mobarhan M., Shakeri M.T. Serum interleukin 8 level as a diagnostic marker in late neonatal sepsis. *Iran. J. Pediatr.*, 2010, vol. 20, no. 1, pp. 41–47.
11. Boskabadi H., Zakerihamidi M. Evaluate the diagnosis of neonatal sepsis by measuring interleukins: a systematic review. *Pediatr. Neonatol.*, 2018, vol. 59, no. 4, pp. 329–338. doi: 10.1016/j.pedneo.2017.10.004
12. Cai N., Chen Z.Q., Tao M., Fan W.T., Liao W. Mean platelet volume and red blood cell distribution width is associated with prognosis in premature neonates with sepsis. *Open Med. (Wars)*, 2021, vol. 16, no. 1, pp. 1175–1181. doi: 10.1515/med-2021-0323
13. Choudhary R.R., Makwana M., Mourya H.K., Dabi J., Gulati K. Evaluation of platelet and its indices as a marker of neonatal sepsis: a prospective case control study. *International Journal of Contemporary Pediatrics*, 2018, vol. 5, no. 5, pp. 1898–1903. doi:10.18203/2349-3291.ijcp20183527
14. De Stoppelaar S.F., van 't Veer C., van der Poll T. The role of platelets in sepsis. *Thromb. Haemost.*, 2014, vol. 112, no. 4, pp. 666–677. doi: 10.1160/TH14-02-0126
15. Demirin H., Ozhan H., Ucgun T., Celer A., Bulur S., Cil H., Gunes C., Yildirim H.A. Normal range of mean platelet volume in healthy subjects: Insight from a large epidemiologic study. *Thromb. Res.*, 2011, vol. 128, no. 4, pp. 358–360. doi: 10.1016/j.thromres.2011.05.007
16. François B., Trimoreau F., Vignon P., Fixe P., Praloran V., Gastinne H. Thrombocytopenia in the sepsis syndrome: role of hemophagocytosis and macrophage colony-stimulating factor. *Am. J. Med.*, 1997, vol. 103, no. 2, pp. 114–120. doi: 10.1016/s0002-9343(97)00136-8
17. Ghanghoriya P., Gedam D.S. Neonatal septicemia and thrombocytopenia. *Int. J. Med. Res. Rev.*, 2015, vol. 3, no. 2, pp. 139–140. URL: <https://ijmrr.medresearch.in/index.php/ijmrr/article/view/200>
18. Ghazvini K., Rashed T., Boskabadi H., Yazdan Panah M., Khakzadan F., Safaei H., Mohamadpor L. Neonatal intensive care unit nosocomial bacterial infections. *Tehran. Univ. Med. J.*, 2008, vol. 66, no. 5, pp. 349–354. URL: <http://tumj.tums.ac.ir/article-1-602-en.html>
19. Guclu E., Durmaz Y., Karabay O. Effect of severe sepsis on platelet count and their indices. *Afr. Health. Sci.*, 2013, vol. 13, no. 2, pp. 333–338. doi: 10.4314/ahs.v13i2.19
20. Guida J.D., Kunig A.M., Leef K.H., McKenzie S.E., Paul D.A. Platelet count and sepsis in very low birth weight neonates: is there an organism-specific response? *Pediatrics*, 2003, vol. 111, no. 6, pt 1, pp. 1411–1415. doi: 10.1542/peds.111.6.1411
21. Hamzeh-Cognasse H., Damien P., Chabert A., Pozzetto B., Cognasse F., Garraud O. Platelets and infections — complex interactions with bacteria. *Front. Immunol.*, 2015, vol. 6: 82. doi: 10.3389/fimmu.2015.00082
22. Hanaganahalli S.B., Sreeram S., Bompada M., Kuppannagari S.K., Suresh P.K., Philipose C.S. Is MPV a predictive marker for neonatal sepsis? A pilot study. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, 2018, vol. 40, no. 7, pp. 548–552. doi: 10.1097/MPH.0000000000001272
23. Hui P., Cook D.J., Lim W., Fraser G.A., Arnold D.M. The frequency and clinical significance of thrombocytopenia complicating critical illness: a systematic review. *Chest*, 2011, vol. 139, no. 2, pp. 271–278. doi: 10.1378/chest.10-2243
24. Jain K., Sharma D., Patidar M., Nandedkar S., Pathak A., Purohit M. Red cell distribution width as a predictor of mortality in patients with clinical sepsis: experience from a single rural center in Central India. *Clin. Pathol.*, 2022, vol. 15: 2632010X221075592. doi: 10.1177/2632010X221075592
25. Karne T.K., Joshi D.D., Zile U., Patil S. Study of platelet count and platelet indices in neonatal sepsis in tertiary care institute. *MVP Journal of Medical Sciences*, 2017, vol. 4, iss. 1, pp. 55–60.
26. Khassawneh M., Khader Y., Abuqtaish N. Clinical features of neonatal sepsis caused by resistant gram-negative bacteria. *Pediatr. Int.*, 2009, vol. 51, no. 3, pp. 332–336. doi: 10.1111/j.1442-200X.2008.02767.x
27. Kim J.Y., Yoon J., Lim C.S., Choi B.M., Yoon S.Y. Clinical significance of platelet-associated hematological parameters as an early supplementary diagnostic tool for sepsis in thrombocytopenic very-low-birth-weight infants. *Platelets*, 2015, vol. 26, no. 7, pp. 620–626. doi: 10.3109/09537104.2014.963542
28. Lee J.H., Park M., Han S., Hwang J.J., Park S.H., Park S.Y. An increase in mean platelet volume during admission can predict the prognoses of patients with pneumonia in the intensive care unit: a retrospective study. *PLoS One*, 2018, vol. 13, no. 12: e0208715. doi: 10.1371/journal.pone.0208715
29. Lin C., Zhou X., Ying F., Hu D., Wu Q., Lu B., Xue X. gram-negative bacteria are more inclined to cause thrombocytopenia than gram-positive ones in the bloodstream infections. *J. Microbiol. Biotechnol. Rep.*, 2018, vol. 2, no. 1, pp. 14–16.
30. Majumdar A., Biswas S., Jana A. Platelet indices as an earlier and economical marker of neonatal sepsis. *Iraqi Journal of Hematology*, 2021, vol. 10, no. 2: 108.
31. Mangalesh S., Dudani S., Malik A. Platelet indices and their kinetics predict mortality in patients of sepsis. *Indian J. Hematol. Blood. Transfus.*, 2021, vol. 37, no. 4, pp. 600–608. doi: 10.1007/s12288-021-01411-2
32. Manzoni P. Hematologic aspects of early and late-onset sepsis in preterm infants. *Clin. Perinatol.*, 2015, vol. 42, no. 3, pp. 587–595. doi: 10.1016/j.clp.2015.04.012
33. Meabed M.H., Sharaf E.A.-E., Abd-Elkareem R.M., Mahmoud M.H.A.E. Mean platelet volume and platelet function in neonatal sepsis. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 2021, vol. 82, no. 1, pp. 181–185.
34. Memon J., Holakouie-Naieni K., Majdzadeh R., Yekaninejad M.S., Garmaroudi G., Raza O., Nematollahi S. Knowledge, attitude, and practice among mothers about newborn care in Sindh, Pakistan. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2019, vol. 19, no. 1: 329. doi: 10.1186/s12884-019-2479-0
35. Milas G.P., Karageorgiou V., Bellos I. Mean platelet volume and neonatal sepsis: a systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.*, 2022, vol. 35, no. 25, pp. 5324–5336. doi: 10.1080/14767058.2021.1879039
36. Mittal A., Arya S., Charan L.S., Saluja S., Chellani H. Evaluation of platelet indices as additional diagnostic tool for neonatal sepsis. *Astrocyte*, 2018, vol. 4, no. 4: 205.
37. O'Reilly D., Murphy C.A., Drew R., El-Khuffash A., Maguire P.B., Ainle F.N., Mc Callion N. Platelets in pediatric and neonatal sepsis: novel mediators of the inflammatory cascade. *Pediatr. Res.*, 2022, vol. 91, no. 2, pp. 359–367. doi: 10.1038/s41390-021-01715-z

38. Oh G.H., Chung S.P., Park Y.S., Hong J.H., Lee H.S., Chung H.S., You J.S., Park J.W., Park I. Mean platelet volume to platelet count ratio as a promising predictor of early mortality in severe sepsis. *Shock*, 2017, vol. 47, no. 3, pp. 323–330. doi: 10.1097/SHK.0000000000000718
39. Omran A., Maarof A., Mohammad M.H.S., Abdelwahab A. Salivary C-reactive protein, mean platelet volume and neutrophil lymphocyte ratio as diagnostic markers for neonatal sepsis. *J. Pediatr. (Rio J.)*, 2018, vol. 94, no. 1, pp. 82–87. doi: 10.1016/j.jpeds.2017.03.006
40. Oncel M.Y., Ozdemir R., Yurttutan S., Canpolat F.E., Erdeve O., Oguz S.S., Uras N., Dilmen U. Mean platelet volume in neonatal sepsis. *J. Clin. Lab. Anal.*, 2012, vol. 26, no. 6, pp. 493–496. doi: 10.1002/jcla.21552
41. Pamudji K.M., Kardana I.M. Diagnostic value of mean platelet volume in neonatal sepsis. *Paediatrica Indonesiana*, 2019, vol. 59, no. 6, pp. 289–293.
42. Panda S.K., Nayak M.K., Thangaraj J., Das P., Pugalia R. Platelet parameters as a diagnostic marker in early diagnosis of neonatal sepsis — seeking newer answers for older problems. *J. Family. Med. Prim. Care*, 2022, vol. 11, no. 5, pp. 1748–1754. doi: 10.4103/jfmpc.jfmpc_1271_21
43. Ree I.M.C., Fustolo-Gunnink S.F., Bekker V., Fijnvandraat K.J., Steggerda S.J., Lopriore E. Thrombocytopenia in neonatal sepsis: Incidence, severity and risk factors. *PLoS One*, 2017, vol. 12, no. 10: e0185581. doi: 10.1371/journal.pone.0185581
44. Sagheb S., Eshaghi H., Lamsehchi A. The role of mean platelet volume in the diagnosis of neonatal sepsis. *Journal of Iranian Medical Council*, 2022, vol. 5, no. 1, pp. 111–117.
45. Sangsari R., Kadivar M., Fardi R., Attary S.J., Jafari A. Platelets indices and different germs of neonatal sepsis. *Iranian Journal of Pediatrics*, 2019, vol. 29, no. 2: e80856. doi: 10.5812/ijp.80856
46. Shaaban H.A., Safwat N. Mean platelet volume in preterm: a predictor of early onset neonatal sepsis. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.*, 2020, vol. 33, no. 2, pp. 206–211. doi: 10.1080/14767058.2018.1488161
47. Shane A.L., Sánchez P.J., Stoll B.J. Neonatal sepsis. *Lancet*, 2017, vol. 390, no. 10104, pp. 1770–1780. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31002-4
48. Shane A.L., Stoll B.J. Recent developments and current issues in the epidemiology, diagnosis, and management of bacterial and fungal neonatal sepsis. *Am. J. Perinatol.*, 2013, vol. 30, no. 2, pp. 131–141. doi: 10.1055/s-0032-1333413
49. Tajareranmuang P., Phrommintikul A., Limsukon A., Pothirath C., Chittawatanarat K. The role of mean platelet volume as a predictor of mortality in critically ill patients: a systematic review and meta-analysis. *Crit. Care Res. Pract.*, 2016, vol. 2016: 4370834. doi: 10.1155/2016/4370834
50. Catal F., Tayman C., Tonbul A., Akça H., Kara S., Tatli M.M., Oztekin O., Bilici M. Mean platelet volume (MPV) may simply predict the severity of sepsis in preterm infants. *Clin. Lab.*, 2014, vol. 60, no. 7, pp. 1193–1200. doi: 10.7754/clin.lab.2013.130501
51. Torkaman M., Afsharpaiman S.H., Hoseini M.J., Moradi M., Mazraati A., Amirsalari S., Kavehmanesh Z. Platelet count and neonatal sepsis: a high prevalence of Enterobacter spp. *Singapore. Med. J.*, 2009, vol. 50, no. 5, pp. 482–485.
52. Tsirigotis P., Chondropoulos S., Frantzeskaki F., Stamouli M., Gkirkas K., Bartzeliotou A., Papanikolaou N., Atta M., Papassotiriou I., Dimitriadis G., Dimopoulou I. Thrombocytopenia in critically ill patients with severe sepsis/septic shock: Prognostic value and association with a distinct serum cytokine profile. *J. Crit. Care.*, 2016, vol. 32, pp. 9–15. doi: 10.1016/j.jcrc.2015.11.010
53. Vardon-Bounes F., Ruiz S., Gratacap M.P., Garcia C., Payrastra B., Minville V. Platelets are critical key players in sepsis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, vol. 20, no. 14: 3494. doi: 10.3390/ijms20143494
54. Ye S., Zhang Y., Zhang C., Xu D. Are platelet volume indices related to mortality in hospitalized children on mechanical ventilation? *J. Int. Med. Res.*, 2018, vol. 46, no. 3, pp. 1197–1208. doi: 10.1177/0300060517737211

Авторы:

Закерихамиди М., доцент по специальности «Репродуктивное здоровье» кафедры акушерства Школы медицинских наук филиала Исламского университета Азад в Тонекабоне, г. Тонекабон, Иран;
Боскабади Х., профессор кафедры педиатрии, факультет медицины Мешхедского университета медицинских наук, г. Мешхед, Иран;
Наери М., врач-неонатолог, кафедра педиатрии, факультет медицины Мешхедского университета медицинских наук, г. Мешхед, Иран;
Бади З., врач педиатр-гематолог, кафедра педиатрии, факультет медицины Мешхедского университета медицинских наук, г. Мешхед, Иран;
Багери Ф., аспирант сестринского дела, кафедра сестринского дела, факультет сестринского дела и акушерства, Мешхедский университет медицинских наук, Исламский университет Азад, Мешхед, Иран;
Амирхани С., студент, кафедра акушерства, Школа медицинских наук филиала Исламского университета Азад в Тонекабоне, г. Тонекабон, Иран.

Authors:

Zakerihamidi M., Associate Professor of Reproductive Health, Department of Midwifery, School of Medical Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran;
Boskabadi H., Professor, Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran;
Nayeri M., Neonatologist, Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran;
Badiee Z., Pediatrics Hematologist, Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran;
Bagheri F., PhD Candidate in Nursing, Department of Nursing, Faculty of Nursing and Midwifery, Mashhad Medical Sciences, Islamic Azad University, Mashhad, Iran;
Amirkhani S., Student of Midwifery, Department of Midwifery, School of Medical Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

Поступила в редакцию 06.06.2024
 Отправлена на доработку 28.07.2024
 Принята к печати 16.08.2024

Received 06.06.2024
 Revision received 28.07.2024
 Accepted 16.08.2024

A PRELIMINARY STUDY: FIRSTLY OPTIMISATION OF THE *IN VITRO* BIOFILM FORMATION METHOD IN *TRICHOSPORON ASAHII* STRAINS ISOLATED FROM PATIENTS IN TÜRKIYE

A. Sinem^{a,b}, E. Sevgi^b

^a Haliç University, Istanbul, Türkiye

^b Istanbul University — Cerrahpaşa, Istanbul, Türkiye

Abstract. *Trichosporon asahii*, a fungus found in nature and human microbiota, has recently emerged as the most common cause of disseminated and deep-seated trichosporonosis, particularly in immunocompromised patients. Biofilm formation, one of the important virulence factors of *T. asahii*, facilitates its colonisation and proliferation, providing the fungus with antifungal and environmental stress's resistance. In this study, we aimed to develop a reproducible *T. asahii* biofilm model for our future research by optimising the inoculum concentration, adhesion-time, biofilm maturation-time, static and shaking parameters. **Materials and methods.** We included two clinical isolates obtained from urine samples and a reference strain in the study. For each strain, we applied 36 different experimental parameters, including, 10⁵, 10⁶ and 10⁷ CFU/mL inoculum concentrations, 60-, 90-, and 120-minutes adhesion-times, 48- and 72-hours maturation-times, and static versus shaking. We determined the biofilm formation of fungus using the most commonly used crystal violet method. We determined standard deviation values with three replicates within each experiment, and we compared all the graphs obtained by repeating these experiments twice. **Results.** After applying 36 different experimental parameter combinations, we determined the most optimised and reproducible parameters as 10⁷ CFU/mL inoculum concentration, 120-minute adhesion-time, 72-hour maturation-time and static. **Conclusion.** In optimisation studies conducted worldwide on this subject, it has been reported that biofilms formation varies in terms of quantity and duration across different countries, but there isn't any optimisation study in Turkey. We believe that the optimisation conditions we have firstly identified in our country will shed light on our future research and other studies to be conducted in the future.

Key words: *Trichosporon asahii*, invasive fungal infections, biofilm, optimization, fungi, Türkiye.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ: ПЕРВИЧНАЯ ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДА ФОРМИРОВАНИЯ БИОПЛЕНКИ *IN VITRO* У ШТАММА *TRICHOSPORON ASAHII*, ВЫДЕЛЕННОГО ОТ ПАЦИЕНТОВ В ТУРЦИИ

Синем А.^{1,2}, Севги Э.²

¹ Университет Халич, Стамбул, Турция

² Стамбульский университет — Джеррахпаша, Стамбул, Турция

Резюме. *Trichosporon asahii* — грибок, встречающийся в природе и микробиоте человека, недавно стал наиболее распространенной причиной диссеминированного глубокого трихоспороноза, особенно у пациентов

Адрес для переписки:

Синем Аяз
ул. 15 Теммуз Шехитлер, 14/12, махалле 5 Левент,
34060 Эюпсултан, Стамбул, Турция.
Тел.: +905423253511.
E-mail: sinemayaz@halic.edu.tr; sinemkarabulut@outlook.com.tr

Contacts:

Ayaz Sinem
5, Levent, 15 Temmuz Şehitler Cd No: 14/12,
34060 Eyüpsultan, İstanbul, Türkiye.
Phone: +905423253511.
E-mail: sinemayaz@halic.edu.tr; sinemkarabulut@outlook.com.tr

Для цитирования:

Синем А., Севги Э. Предварительное исследование: первичная оптимизация метода формирования биопленки *in vitro* у штамма *Trichosporon asahii*, выделенного от пациентов в Турции // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 161–167. doi: 10.15789/2220-7619-APS-17643

Citation:

Sinem A., Sevgi E. A preliminary study: firstly optimisation of the *in vitro* biofilm formation method in *Trichosporon asahii* strains isolated from patients in Türkiye // Russian Journal of Infection and Immunity = Infeksiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 161–167. doi: 10.15789/2220-7619-APS-17643

This study was supported by Istanbul University-Cerrahpaşa Scientific Research Projects Coordination Unit with the project numbered TDK-2022-36238.

© Sinem A., Sevgi E., 2025

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-APS-17643>

с ослабленным иммунитетом. Образование биопленки, один из важных факторов вирулентности *T. asahii*, облегчает его колонизацию и распространение, обеспечивая грибку устойчивость к противогрибковым препаратам и внешнему стрессу. В настоящем исследовании мы попытались разработать воспроизводимую модель биопленки *T. asahii* для последующих исследований путем оптимизации концентрации инокулята, времени адгезии, времени созревания биопленки, статических параметров и параметров встряхивания. **Материалы и методы.** В исследование были включены два клинических изолята, полученных из образцов мочи, и эталонный штамм. Для каждого штамма применялись 36 различных экспериментальных параметра, включая концентрации инокулята 10^5 , 10^6 и 10^7 КОЕ/мл, время адгезии 60, 90 и 120 минут, время созревания 48 и 72 часа и статику против встряхивания. Мы определили образование биопленки грибка, используя наиболее часто используемый метод окраски кристаллическим фиолетовым. Были определены значения стандартного отклонения с тремя повторами каждого эксперимента со сравнением всех графиков, полученных при двухкратном повторе проведенных экспериментов. **Результаты.** После применения 36 различных комбинаций экспериментальных параметров были определены наиболее оптимизированные и воспроизводимые из них, такие как концентрация инокулята 10^7 КОЕ/мл, время адгезии 120 минут, время созревания 72 часа и статика. **Заключение.** В исследованиях по оптимизации, описанных в литературе, сообщалось, что образование биопленок различается по количеству и продолжительности в разных зарубежных лабораториях, но в Турции подобных исследований по оптимизации не описано. Мы считаем, что условия оптимизации, которые мы впервые определили в нашей стране, будут востребованы для последующих исследований.

Ключевые слова: *Trichosporon asahii*, инвазивные грибковые инфекции, биопленка, оптимизация, грибы, Турция.

Introduction

Trichosporon species are yeast-like, anamorphic, and basidiomycetous; can be isolated from decaying materials, water, soil, cheese, insects, birds, bats and cattle feces; and can colonize and multiply in the gastrointestinal tract, vagina, skin, nails and upper respiratory tract of humans. These fungal species have a wide geographical distribution and are more common in warm and tropical regions [1, 2, 3, 5, 8, 10, 15]. Although the genus *Trichosporon* is usually associated with easily treatable superficial infections of the skin, especially white piedra, it has gained importance as a cause of opportunistic systemic infections since the first case of brain invasive trichosporonosis was reported in 1970 [3, 8, 10, 14, 15]. It is becoming increasingly common, especially in patients with underlying haematological malignancies, aplastic anaemia, organ transplantation, extensive burns, AIDS and solid tumours, and can cause systemic infections such as pneumonia and endocarditis, accounting for approximately 10% of cases of disseminated fungal infections [3, 5, 7]. *Trichosporon* infections associated with sinusitis, ophthalmological surgery and prosthetic device infections, intravenous drug abuse and peritoneal dialysis are also observed in nonimmunocompromised patients [2, 7].

Among *Trichosporon* species, especially *Trichosporon asahii* is the most common cause of disseminated or deep-seated trichosporonosis [3, 7, 8, 9, 10, 12, 15]. Among the clinical materials obtained from patients, *T. asahii* is the most frequently isolated species from blood and urine samples [16]. Clinical isolates are estimated to have greater pathogenicity than environmental isolates [9]. *T. asahii*

is capable of biofilm formation, phenotypic and genotypic variation and the production of proteolytic enzymes such as esterase, hemolysin, phospholipase, protease, coagulase and DNAase, but the role of these virulence traits in infection is not clear [3, 5, 6, 9, 14, 15]. The most studied virulence factor among these virulence factors is adhesion and biofilm formation, especially in medical devices [13]. Although most reported cases of haematogenous *T. asahii* infection occur during the neutropenic phase in patients with leukaemia, another predisposing factor for infection is associated with biofilm formation on invasive devices such as intravenous or urinary catheters, endoscopic forceps and arteriovenous grafts [3, 7, 12, 15]. A biofilm is a three-dimensional structure formed by microbial communities embedded in a polymeric extracellular matrix consisting of polysaccharide, protein and extracellular DNA produced by cells adhering to a biotic or abiotic surface. It facilitates the colonization, growth and proliferation of yeast [3, 7, 15]. Biofilms formed by yeast can produce proteases, and biofilm formation provides resistance to antibiotics and environmental stress [3, 4, 7, 15]. Biofilm formation in *T. asahii* occurs at four different developmental stages. These stages include the initial adhesion of yeast cells between 0 and 2 hours, germination and microcolony formation between 2 and 4 hours, filamentation between 4 and 6 hours and proliferation and maturation between 24 and 72 hours [7]. It is thought that prosthetic devices may serve as substrates for the postadhesion growth of biofilms, which are microbial communities embedded in an extracellular polymeric substance [7]. *T. asahii* biofilm formation may confer markedly increased resistance to antimicrobial agents and

protection from host defense [3, 7]. Although antifungal drugs are used to treat trichosporonosis, the infection is usually persistent, may recur soon after treatment and is associated with high mortality ranging from 50–80% [2, 3, 7, 12, 14]. Although newer azoles, such as voriconazole and posaconazole, which are used against *T. asahii* infections, are more effective antifungals than amphotericin B and fluconazole, biofilm formation in *T. asahii* has been associated with up to 16 000-fold increased resistance to voriconazole, particularly compared to that in planktonic cells [1, 7, 11, 14]. When there is a high level of antifungal resistance, treatment usually requires surgical removal of the infected device, which has a negative impact on the patient [2, 12]. Therefore, serious infections can be seen with *T. asahii* strains that are deeply localized and do not respond to treatment.

The aim of this study was to develop and optimize a reproducible biofilm model to monitor the biofilm formation of *T. asahii* in clinical samples. For this purpose, we evaluated the inoculum amount, adhesion time, biofilm maturation time, staticity and shaking parameters during biofilm formation. We are also considering applying the data we will obtain from this preliminary study to our experiments in another study in which we investigated the critical role of enzymes synthesized by *T. asahii*, whose importance we emphasize in clinical samples, in biofilm formation on polystyrene surfaces.

Materials and methods

Strains used and growth conditions. In this retrospective study, two *T. asahii* strains isolated from urine samples of patients admitted to İstanbul University — Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Medical Faculty, Medical Microbiology Laboratory in 2017 and 2019, identified by MALDI-ToF MS method in those years and stored at -80°C were included. *T. asahii* var. *asahii* CBS 2479 was used as the reference strain. The strains were inoculated on Sabouraud dextrose agar (SDA), incubated at 37°C for 48 hours and then stored in Sabouraud dextrose medium (SDB) supplemented with 15% glycerol at -80°C for reuse. The 48-hour SDA cultures obtained were used in the later stages of the study.

Establishment of biofilm formation by the strains. While investigating the biofilms formed by the strains, different parameters in the study of Iturrieta-González, Padovan [10] were combined and applied. For this purpose, inoculum amounts of 10^5 , 10^6 and 10^7 CFU/mL; adhesion times of 60, 90 and 120 minutes; biofilm maturation times of 48 and 72 hours; and static and 100 rpm shaking parameters were used, and 36 different parameters were applied for each strain. These applications were performed both in two patient strains and in the reference strain.

Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 medium (containing L-glutamine and phenol red without sodium bicarbonate) was prepared with MOPS according to the CLSI M27A3 guidelines (pH 7.0) according to the CLSI M27A3 guidelines, sterilized by filtration and stored at $+4^{\circ}\text{C}$ until use. A few colonies were taken from the 48-hour culture produced in SDA with a sterile core, inoculated into rpmI 1640 medium and incubated at 37°C and 100 rpm overnight. The cells were centrifuged at 3000 rpm for 5 minutes, the supernatant was discarded, and the pellet was washed twice with PBS. Cell suspensions prepared with rpmI medium for each origin were prepared at concentrations of 10^5 , 10^6 and 10^7 CFU/mL according to their absorbance at 530 nm. In a flat-bottomed, 96-well polystyrene microplate, 100 μl of cell suspension was added to each well. Three replicates were performed for each isolate. The mixture was incubated at 37°C for 60, 90 or 120 min under static shaking conditions at 100 rpm. The supernatant was removed, and the cells were washed with 150 μl of PBS. Thus, cells that did not adhere to the surface were removed. Then, 150 μl of RPMI medium was added to each well and incubated at 37°C for 48 and 72 hours under static shaking conditions at 100 rpm. Thus, biofilm formation was allowed. The supernatant was changed every 24 hours, and each experiment was repeated 2 times.

Determination of biofilm formation in strains by the crystal violet method. After biofilm formation, the supernatant was aspirated, and the cells were washed 2 times with 200 μl of PBS and dried at room temperature for 45 min. Then, 110 μl of each sample was stained with 0.4% crystal violet for 45 min. Afterwards, the cells were washed 4 times with 200 μl of sterile distilled water. Two hundred microliters were incubated with 95% ethanol for 45 min, 100 μl was transferred to another microplate, and the absorbance values were measured at a wavelength of 570 nm with a spectrophotometer.

Statistical analysis. Three repetitions were made in each experiment for 36 parameters applied to the three strains included in the study, and the mean absorbance values and standard deviations were determined with these repetitions. Each experiment was repeated twice. To determine the reproducibility of the experiment, the means and standard deviations in these two experiments were compared by applying the independent samples t test in MedCalc Software (https://www.medcalc.org/calc/comparison_of_means.php (Version 22.023; accessed May 17, 2024).

Results

Assessment of biofilm formation by the crystal violet method. An inoculum amount of 10^5 , 10^6 or 10^7 CFU/mL; an adhesion time of 60, 90 or 120 minutes; a bi-

Table. Reproducible parameters of the three strains used and comparison of these parameters

Parameters	Strains													
	2017						2019						CBS 2479	
	1st exp.	2nd exp.	P value	Rep.	1st exp.	2nd exp.	P value	Rep.	1st exp.	2nd exp.	P value	Rep.		
10 ⁵ , 48h, St, 120m	1.19±0.19	1.11±0.09	0.56*	X	1.85±0.58	0.48±0.07	0.02**		0.77±0.14	0.27±0.01	0.003**			
10 ⁷ , 48h, St, 60m	2.95±0.08	1.71±0.11	<0.001**		1.98±0.05	1.89±0.22	0.52*	X	0.69±0.03	0.48±0.04	0.002**			
10 ⁷ , 48h, St, 120m	2.81±0.27	1.46±0.15	0.002**		2.26±0.07	2.39±0.05	0.07*	X	0.71±0.02	0.29±0.02	<0.001**			
10 ⁵ , 48h, Sh, 120m	0.55±0.11	0.50±0.05	0.52*	X	1.16±0.13	1.69±0.04	0.003**		0.59±0.19	0.23±0.01	0.03**			
10 ⁶ , 48h, Sh, 90m	1.57±0.10	1.64±0.03	0.30*	X	1.99±0.06	1.29±0.07	<0.001**		0.55±0.07	0.31±0.02	0.005**			
10 ⁶ , 48h, Sh, 120m	1.16±0.01	1.29±0.16	0.22*	X	2.06±0.24	1.91±0.01	0.36*	X	0.78±0.29	0.23±0.01	0.03**			
10 ⁷ , 48h, Sh, 90m	2.69±0.06	1.01±0.29	<0.001**		2.72±0.13	1.73±0.32	0.008**		0.69±0.17	0.56±0.01	0.26*	X		
10 ⁶ , 72h, St, 60m	2.31±0.13	1.35±0.06	<0.001**		2.39±0.11	2.40±0.32	0.98*	X	0.78±0.11	0.33±0.03	0.003**			
10 ⁷ , 72h, St, 60m	2.31±0.20	1.60±0.08	0.005**		2.95±0.03	2.81±0.08	0.06*	X	1.04±0.32	0.59±0.03	0.07*	X		
10 ⁷ , 72h, St, 120m	2.26±0.25	2.47±0.37	0.46*	X	3.46±0.01	3.59±0.09	0.06*	X	0.48±0.05	0.54±0.03	0.20*	X		
Total				5				6				3		

Note. 10⁵, 10⁶, 10⁷: Amounts of inoculum used (CFU/mL). 48h: 48hour, 72h: 72hour, St: static, Sh: shaking, 60m: 60 minutes adhesion time, 90m: 90 minutes adhesion time, 120m: 120 minutes adhesion time, 1st exp.: first experiment results (Mean±Standard Deviation), 2nd exp.: second experiment results (Mean±Standard Deviation). *p > 0.05, There is no statistically significant difference between the 2 experiments and the experiment is reproducible. **p < 0.05, There is statistically significant difference between the 2 experiments and the experiment is not reproducible. Rep.: Reproducibility, X: The experiment is reproducible.

ofilm maturation time of 48 or 72 hours; and static shaking at 100 rpm were applied to the two patient strains and reference strains.

The mean absorbance values and standard deviation values were determined by repeating the same experiment three times for 36 different parameters applied, and graphs were created with these values. All graphs were compared for reproducibility of the experiment. The statistically significant difference between the two experiments for 36 parameters applied at three origins showed that the experiment could not be reproduced. The P value shown in Table was less than 0.05, indicating that there was a significant difference between the two experiments and that the experiment could not be repeated. When the P value was greater than 0.05, there was no significant difference between the two experiments, and the results were reproducible (Table).

From the graphs created for the strain of 2017, the parameters with the least difference between the 1st and 2nd experiments were analysed. The parameters with the least differences between the 1st and 2nd experiments were 10⁵ CFU/mL, static, 120 min adhesion time and 48 h result; 10⁵ CFU/mL, shaking, 120 min adhesion time and 48 h result; 10⁶ CFU/mL, shaking, 90 and 120 min adhesion time and 48 h result; and 10⁷ CFU/mL, static, 120 min adhesion time and 72 h result, for a total of 5 parameters (Table).

From the graphs created for the 2019 strain, the parameters with the least differences between the 1st and 2nd experiments were 10⁷ CFU/mL, static, 60 and 120 minutes of adhesion time and 48 hours result, 10⁶ CFU/mL, shaking, 120 minutes of adhesion time and 48 hours result, 10⁶ CFU/mL, static, 60 minutes of adhesion time and 72 hours result, and 10⁷ CFU/mL, static, 60 and 120 minutes of adhesion time and 72 hours result, a total of 6 parameters (Table).

The parameters with the least difference between the 1st and 2nd experiments from the graphs generated for the reference strain *T. asahii* var. *asahii* CBS 2479 were 10⁷ CFU/mL, shaking, 90 min adhesion time and 48 h result and 10⁷ CFU/mL, static, 60 and 120 min adhesion time and 72 h result, for a total of 3 parameters (Table).

Statistical analysis was performed to verify that the parameters with the least difference between experiments 1 and 2 of the three included strains were reproducible. Since the P value of these parameters was greater than 0.05, there was no significant difference between the two experiments, indicating that the experiment was repeatable (Table).

Among the 36 parameters applied for all three strains, the common parameters that can be repeated is 10⁷ CFU/mL, static conditions, a 120-minute adhesion time and 72 hours result. This result can be seen in the “reproducibility” column in Table. This parameter is the optimized result, and the graphs with these results for the three strains are shown in Figure.

Discussion

Trichosporon asahii is the most common trichosporonosis agent that can cause invasive infections with a high mortality rate, especially in immunocompromised patients, and can be a source of infection through biofilm formation on invasive devices. [3, 7, 9, 10, 12, 14, 15]. Therefore, it is important to investigate biofilm formation in this fungus. In this study, a reproducible *T. asahii* biofilm formation model was optimized by evaluating the ability of two *T. asahii* strains isolated from patients in Türkiye and the reference strain to form biofilms on polystyrene surfaces.

Determining the adhesion process, which is the first step in biofilm formation, is also important because it is the beginning of infection [9]. During biofilm formation, after the initial adhesion of the yeast to the surface, the mature phase begins with filamentation [12].

Di Bonaventura et al. [7] applied inoculum amounts of 10^4 , 10^5 and 10^6 CFU/mL; adhesion times of 30, 60 and 120 minutes; and biofilm maturation times of 24, 48 and 72 hours and reported that *T. asahii* cells could adhere to polystyrene surfaces after only 30 minutes of incubation. They stated that the adherent cells were organized as microcolonies representing the early microbial adaptive response in the first 4 hours despite the low metabolic profile, and then the formation of mature biofilms increased from 6 hours to 72 hours. They determined the most optimal experimental setup as 10^5 CFU/mL, 60 min adhesion time and 72 hours biofilm formation time.

Iturrieta-González et al. [10], based on different protocols in their study, used inoculum amounts of 10^5 , 10^6 and 10^7 CFU/mL; adhesion times of 60, 90 and 120 minutes; biofilm maturation times of 48 and 72 hours; shaking at 75 rpm; and static environment parameters for optimisation experiments. As a result, 10^7 CFU/mL, 90 min of adhesion time, shaking and 48 hours of biofilm maturation were determined to be optimal.

In another optimisation study, 10^7 CFU/mL inoculum was used, and adhesion times of 1, 2, 4, 6 and 8 hours were compared. In contrast to other studies, 1 and 2 hours of adhesion were judged to be insufficient, and significantly greater biofilm production was observed between 2 and 4 hours. They concluded that if the exposure time increases when there is sufficient surface area, it can lead to high virulence and ultimately persistence of infection [14].

According to optimisation studies carried out around the world, *T. asahii* biofilm production is carried out in different ways, and biofilms are formed in different countries, in different amounts and for different periods in each study.

As far as we could examine, we could not find any research in our country where optimization studies were carried out on *T. asahii* biofilm production. In this preliminary study before our study, for this

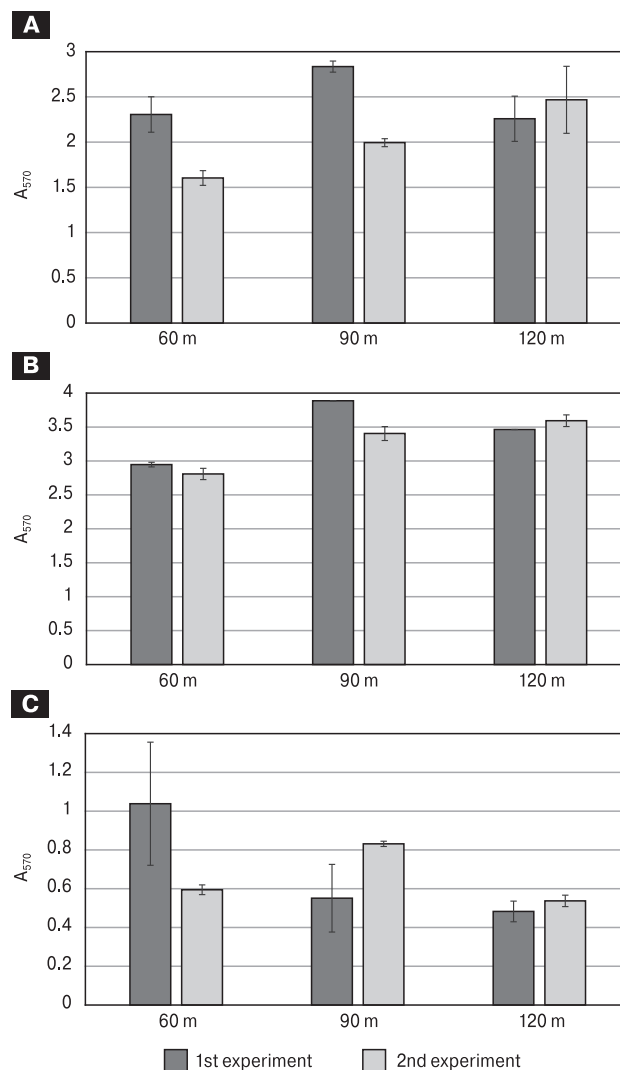


Figure. Results of two experiments with 10^7 CFU/mL, 60, 90 and 120 min adhesion time, 72 h incubation and static conditions of the patient strain isolated in 2017 (A), 2019 (B), and of the reference strain *T. asahii* var. *asahii* CBS 2479 (C)

purpose, we determined the optimal parameters for *T. asahii* biofilm production. In our research, we applied 36 different parameters to all three strains included in the study by crossing inoculum amounts of 10^5 , 10^6 and 10^7 CFU/mL; adhesion times of 60, 90 and 120 minutes; biofilm maturation times of 48 and 72 hours; and static and 100 rpm shaking parameters. We applied these parameters twice to each strain. We statistically compared the absorbance results between these two experiments by including the means and standard deviations that we determined from three repetitions within the experiment. A P value between the two experiments was greater than 0.05 indicated that there was no statistically significant difference between the two experiments and that the experiment was reproducible. It was observed that the common parameters for reproducible results in all three strains were 10^7 CFU/mL, static conditions, 120 minutes of adhesion time and

72 hours result. We concluded that this result is the most optimized result.

The results obtained in our study are compatible with the 72 hours given as the most optimised biofilm maturation time in the optimisation study performed by Di Bonaventura et al. [7], but the adhesion times of 10^7 CFU/mL and 120 minutes in our study are not compatible with the optimised inoculum amount of 10^5 CFU/mL and the adhesion time of 60 minutes in their study.

When we compared our study with the study of Iturrieta-González et al. [10], it was found to be compatible with the inoculum amount of 10^7 CFU/mL in the study of Di Bonaventura et al. [7]. The most optimised conditions determined by this study, such as an incubation time of 90 minutes, a biofilm maturation time of 48 hours and the fact that the experiment was carried out in a shaking apparatus, are not compatible with the values in our study. In addition, the shaking speed in this study was 75 rpm, while the shaking speed we used was 100 rpm.

Montoya et al. [14] maintained a constant concentration of 10^7 CFU/mL in their optimisation studies and compared the adhesion times and found that 2–4 hours was optimal. In our study, we determined 120 minutes to be the most optimised adhesion time and observed that it was compatible with this study.

Conclusion

As far as we could examine in our country, we observed that there was no optimization phase in the studies investigating the biofilm formation process of *T. asahii*. We will use the most optimized results we obtained after this optimization study in our study with the comprehensive clinical samples we mentioned. We believe that the optimization conditions we have determined will lead studies to be carried out on this subject in our country and raise awareness. However, we think that the results may differ depending on the laboratory conditions studied, the strains, and the type of clinical sample. For this reason, we believe that optimization and standardi-

zation should be ensured to determine the suitability of the conditions under study before starting to work on each study.

We believe that *T. asahii*, which, unfortunately, has not been studied extensively, even though it causes serious infections worldwide and, in our country, is important for examining the biofilm formation process and investigating infection treatment processes. We predict that the parameters we have determined as a result of this optimization study will lead to the development of different strategies to examine these factors in more comprehensive and different types of clinical samples in different studies. In this way, we hope that studies will be conducted to reveal the unknown aspects of the fungal biofilm formation mechanism in more detail.

Additional information

Acknowledgement. This study was produced from the doctoral thesis prepared at İstanbul University-Cerrahpaşa, Institute of Graduate Studies, Department of Clinical Microbiology. The authors would like to thank İstanbul University-Cerrahpaşa Scientific Research Projects Coordination Unit for their support.

Ethics committee approval. Before starting the study, approval was obtained from Haliç University Non-Interventional Clinical Research Ethics Committee with the ethics committee decision dated 31.10.2023 and numbered 232.

Author contribution. Sinem Ayaz and Sevgi Ergin searched the literature. Sinem Ayaz and Sevgi Ergin wrote the manuscript. Sinem Ayaz created the figures and tables. All authors read and approved the final manuscript. The corresponding author attests that all listed authors meet the authorship criteria and that no other authors meeting the criteria have been omitted.

Statements and declarations. Consent for Publication Sinem Ayaz and Sevgi Ergin have read and approved the final manuscript for submission. We confirm the figures and tables are original for this article.

Conflict of Interest. The authors declare no competing interests.

References

1. Ayaz S., Çerikçioğlu N., Görçin Karatekir Ş. Genotyping and antifungal susceptibility of *Trichosporon asahii* strains isolated from the clinical samples in a University Training and Research Hospital in Turkey. *Infect. Dis. Clin. Microbiol.*, 2019, vol. 2, pp. 78–86. doi: 10.36519/idcm.2019.19012
2. Castano G., Yarrarapu S.N.S., Mada P.K. Trichosporonosis. In: StatPearls [Internet]. 2023, *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*.
3. Cordeiro R.A., Pereira L.M.G., de Sousa J.K., Serpa R., Andrade A.R.C., Portela F.V.M., Evangelista A.J.J., Sales J.A., Aguiar A.L.R., Mendes P.B.L., Brilhante R.S.N., Sidrim J.J.D.C., Castelo-Branco D.S.C.M., Rocha M.F.G. Farnesol inhibits planktonic cells and antifungal-tolerant biofilms of *Trichosporon asahii* and *Trichosporon inkin*. *Med. Mycol.*, 2019, vol. 57, no. 8, pp. 1038–1045. doi: 10.1093/mmy/myy160
4. Cordeiro R.A., Aguiar A.L.R., da Silva B.N., Pereira L.M.G., Portela F.V.M., de Camargo Z.P., de Lima-Neto R.G., Castelo-Branco D.S.C.M., Rocha M.F.G., Sidrim J.J.C. *Trichosporon asahii* and *Trichosporon inkin* biofilms produce antifungal-tolerant persister cells. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2021, no. 11: 645812. doi: 10.3389/fcimb.2021.645812
5. Dag A., Cerikcioglu N. Investigation of some virulence factors of *Trichosporon asahii* strains isolated from the clinical samples of hospitalized patients. *Mikrobiyol. Bul.*, 2006, vol. 3, pp. 225–235.
6. Demir F., Kuştimur S. *Trichosporon* spp. suşlarında bazı virülans faktörlerin araştırılması [Investigation of some virulence factors in *Trichosporon* spp. strains]. *Mikrobiyol. Bul.*, 2014, vol. 48, no. 4, pp. 628–638. (In Turkish). doi: 10.5578/mb.7950

7. Di Bonaventura G., Pompilio A., Picciani C., Iezzi M., D'Antonio D., Piccolomini R. Biofilm formation by the emerging fungal pathogen *Trichosporon asahii*: development, architecture, and antifungal resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006, vol. 50, no. 10, pp. 3269–3276. doi: 10.1128/AAC.00556-06
8. Hazirovan G. An overview on *Trichosporon asahii* and its infections. *Mikrobiyol. Bul.*, 2012, vol. 4, pp. 707–715.
9. Ichikawa T., Yoshiyama N., Ohgane Y., Ikeda R. Switching of colony morphology and adhesion activity of *Trichosporon asahii* clinical isolates. *Med. Mycol.*, 2016, vol. 54, no. 2, pp. 189–196. doi: 10.1093/mmy/myv089
10. Iturrieta-González I.A., Padovan A.C.B., Bizerra F.C., Hahn R.C., Colombo A.L. Multiple species of *Trichosporon* produce biofilms highly resistant to triazoles and amphotericin B. *PLoS One*, 2014, vol. 10: e109553. doi: 10.1371/journal.pone.0109553
11. Kalkanci A., Sugita T., Arikani S., Yucesoy M., Ener B., Otag F., Kiraz N., Kustimur S., Sancak B., Evcil C., Emektas G. Molecular identification, genotyping, and drug susceptibility of the basidiomycetous yeast pathogen *Trichosporon* isolated from Turkish patients. *Med. Mycol.*, 2010, vol. 1, pp. 141–146. doi: 10.3109/13693780902977984
12. Kurakado S., Miyashita T., Chiba R., Sato C., Matsumoto Y., Sugita T. Role of arthroconidia in biofilm formation by *Trichosporon asahii*. *Mycoses*, 2021, vol. 1, pp. 42–47. doi: 10.1111/myc.13181
13. Mehta V., Nayyar C., Gulati N., Singla N., Rai S., Chandar J. A comprehensive review of *Trichosporon* spp.: an invasive and emerging fungus. *Cureus*, 2021, vol. 8: e17345. doi: 10.7759/cureus.17345
14. Montoya A.M., Elizondo-Zertuche M., Treviño-Rangel R.J., Becerril-García M., González G.M. Biofilm formation and antifungal susceptibility of *Trichosporon asahii* isolates from Mexican patients. *Rev. Iberoam. Micol.*, 2018, vol. 35, no. 1, pp. 22–26. doi: 10.1016/j.riam.2017.02.008
15. Montoya Mendoza A.M., González González G.M. *Trichosporon* spp.: an emerging fungal pathogen. *Medicina. Universitaria.*, 2014, vol. 62, pp. 37–43.
16. Piecuch A., Cal M., Ogórec R. Adhesion and biofilm formation by two clinical isolates of *Trichosporon cutaneum* in various environmental conditions. *Braz. J. Microbiol.*, 2024. doi: 10.1007/s42770-024-01321-1

Авторы:

Синем А., научный сотрудник, Кафедра медицинской микробиологии, Медицинский факультет, Университет Халич, Стамбул, Турция; PhD, Кафедра медицинской микробиологии, Институт последипломного образования, Стамбульский университет — Джеррахпаша, Стамбул, Турция;

Севги Э., профессор, доктор наук, кафедра медицинской микробиологии, медицинский факультет Джеррахпаша, Стамбульский университет — Джеррахпаша, Стамбул, Турция.

Authors:

Sinem A., Researcher, Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Haliç University, Istanbul, Türkiye; PhD, Institute of Graduate Studies, Department of Medical Microbiology, Istanbul University—Cerrahpaşa, Istanbul, Türkiye;

Sevgi E., DSc, Professor, Department of Medical Microbiology, Cerrahpaşa Faculty of Medicine, Istanbul University — Cerrahpaşa, Istanbul, Türkiye.

Поступила в редакцию 24.04.2024
Отправлена на доработку 16.05.2024
Принята к печати 26.06.2024

Received 24.04.2024
Revision received 16.05.2024
Accepted 26.06.2024

TIME SERIES ANALYSIS FOR MODELING AND PREDICTING CONFIRMED CASES OF INFLUENZA A IN ALGERIA

D. Seba^a, N. Benaklef^b, K. Belaïde^b

^a Higher School of Informatics, Sidi Bel Abbes, Algeria

^b University of Bejaïa, Bejaïa, Algeria

Abstract. Influenza A is a subtype of the influenza virus that primarily infects birds and mammals, causing respiratory illness. It is characterized by its ability to mutate rapidly, leading to various strains and occasional pandemics. Objective. This paper is dedicated to studying the distribution behavior and predicting confirmed cases of Influenza A within the Algerian context, a highly infectious disease that causes widespread illness and deaths both in Algeria and globally. *Materials and methods.* To predict confirmed cases of Influenza A, we implemented several statistical models, including ARIMA, Seasonal ARIMA (SARIMA), ETS, BATS, and the machine learning technique RNN, which is widely recognized in the literature. We then conducted a comparative study using performance measures to evaluate these models. *Results.* We used RMSE to determine the best-performing model. Our findings indicate that RNN outperformed the others due to its ability to handle complex patterns, including seasonal components and memory. SARIMA and BATS also performed well, thanks to their capacity to manage seasonal patterns. In contrast, ARIMA and ETS showed the poorest performance. *Conclusion.* This study employed a comprehensive approach to develop a model for predicting confirmed cases of Influenza A in Algeria. The results enhance our understanding of the potential future behavior of this disease and contribute to effective risk management strategies.

Key words: influenza A, prediction, risk management, time series, BATS, Algeria.

АНАЛИЗ ВРЕМЕННЫХ РЯДОВ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ПОДТВЕРЖДЕННЫХ СЛУЧАЕВ ГРИППА А В АЛЖИРЕ

Себа Д.¹, Бенаклеф Н.², Белаïде К.²

¹ Высшая школа информатики, г. Сиди-Бель-Аббес, Алжир

² Университет Беджаи, г. Беджая, Алжир

Резюме. Грипп А является подтипом вируса гриппа, который в первую очередь поражает птиц и млекопитающих, вызывая респираторные заболевания, и характеризуется способностью быстро мутировать, что приводит к появлению разнообразия штаммов и периодическим пандемиям. Настоящая статья посвящена изучению в Алжире распространения и прогнозированию подтвержденных случаев гриппа А, высокоинфекционного заболевания, которое вызывает широко распространенные заболевания и смертность как в Алжире, так и во всем мире. *Материалы и методы.* Для прогнозирования подтвержденных случаев гриппа А были применены несколько статистических моделей, включая ARIMA, Seasonal ARIMA (SARIMA), ETS, BATS и широко признанный метод машинного обучения RNN. Далее мы провели сравнительное исследование с использованием показателей производительности для оценки указанных моделей. *Результаты.* Для определения наиболее

Адрес для переписки:

Джиллали Себа
22016, Алжир, г. Сиди-бель-Аббес, ул. 8 мая 1945 года,
Высшая школа информатики.
Тел.: +213-7-82-01-74-34. E-mail: d.seba@esi-sba.dz

Contacts:

Djillali Seba
22016, Sidi Bel Abbes, Algérie, Rue du 8 Mai 1945,
École Supérieure en Informatique.
Phone: +213-7-82-01-74-34. E-mail: d.seba@esi-sba.dz

Для цитирования:

Себа Д., Бенаклеф Н., Белаïде К. Анализ временных рядов для моделирования и прогнозирования подтвержденных случаев гриппа А в Алжире // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 168–172. doi: 10.15789/2220-7619-TSA-17693

Citation:

Seba D., Benaklef N., Belaïde K. Time series analysis for modeling and predicting confirmed cases of influenza A in Algeria // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 168–172. doi: 10.15789/2220-7619-TSA-17693

эффективной модели проводилась оценка среднеквадратической ошибки. Наши результаты показывают, что RNN превзошел другие модели благодаря своей способности обрабатывать сложные шаблоны, включая сезонные компоненты и наличие памяти. SARIMA и BATS также показали хорошие результаты благодаря своей способности управлять сезонными закономерностями. Напротив, ARIMA и ETS показали самые плохие результаты. *Вывод.* В приводимом исследовании использовался комплексный подход для разработки модели прогнозирования подтвержденных случаев гриппа А в Алжире. Полученные результаты расширяют наше понимание потенциального будущего распространения данного заболевания и способствуют эффективным стратегиям управления рисками.

Ключевые слова: грипп А, прогнозирование, управление рисками, временные ряды, BATS, Алжир.

Introduction

Influenza A is a viral infection that affects the respiratory system. It is one of the four types of influenza viruses and can cause symptoms such as cough, body aches, and sore throat. Highly contagious, Influenza A spreads through tiny droplets of bodily fluid released during coughing, sneezing, or talking. Symptoms often include fever, chills, fatigue, and other related discomforts.

In the early 20th century, scientific knowledge was advanced enough to predict the recurrence of influenza, which had twice reached pandemic levels in the late 19th century. However, it was largely ineffective in mitigating the devastating impact of the 1918 pandemic. Since then, humanity has made significant strides against the disease, developing the capability to design and produce vaccines and antiviral drugs to prevent or lessen infections.

The World Health Organization (WHO) estimates that globally there are 3–5 million cases of severe illness and 290 000–650 000 deaths annually due to influenza-related respiratory conditions.

Nowadays, predicting Influenza A helps minimize the health, economic, and social impacts of the virus by enabling proactive and well-coordinated responses. The debate on forecasting Influenza A involves researchers from various disciplines who use a range of methodologies, including statistical, machine learning, and deep learning techniques, referencing various studies such as Goldstein et al.[7], Xu et al.[14], Zheng et al. [16], Kandula et al. [8], Khan et al. [9], Cheng et al. [4], Wolk et al. [13], Xue et al. [15], Boostani et al. [3], Al-Qaness et al. [2], Seba et al. [12].

This topic has been treated in the Algerian context by several works such as [6] and [11]. The objective of our work is to predict the behavior of new cases in Algeria using time series analysis. We employ two widely recognized approaches from the literature: statistical methods and machine learning techniques for time series analysis.

Methods and Materials

Descriptive Data

The epidemiology of seasonal influenza is well defined in many parts of the world, especially in de-

veloped countries. However, in other regions, much less is known about the epidemiology of Influenza A, notably in Algeria (Fig. 1).

We collect data from: Our world in data-Influenza. We observed that Influenza A exhibits a seasonal winter pattern because the cold, dry air of winter provides ideal conditions for the virus's prolonged survival. The reduced humidity during this season enhances the likelihood of infection. The significant decrease in Influenza cases from 2020 to 2022 can be attributed to several factors related to the COVID-19 pandemic: Implementing public health strategies, including mask wearing, hand hygiene, social distancing, and lockdowns on a large scale, substantially decreased the spread of respiratory infections, including Influenza A.

Changes in the individual's awareness of safety amid the COVID-19 outbreak [10]. Analyzing monthly confirmed cases involves treating the data as a time series. Throughout the literature, various approaches such as statistical, machine learning methods have commonly been employed.

Preprocessing data analysis

Our data does not contain any missing values but contains seasonal patterns.

We employ the Augmented Dickey-Fuller (ADF) test to assess the stationarity of the present time series. A p-value of 0.01, which is smaller than the significance level of 0.05, indicates that the time series is stationary.

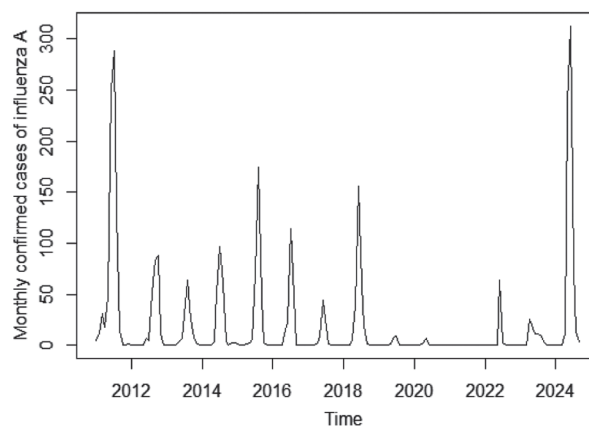


Figure 1. Monthly confirmed cases of influenza A

For data to be considered stationary, the statistical characteristics of the system must remain constant over time. This does not mean that the values of each data point must be identical; rather, the overall behavior of the data should remain consistent.

We introduce the Partial Autocorrelation Function (PACF) and the Autocorrelation Function (ACF) to measure the memory of the most effective model from the ACF and PACF plots, we observe that the autocorrelation decays exponentially, indicating that the data has short memory. Additionally, we note the presence of seasonal components (Fig. 2).

Methodology

Various time series analysis models and techniques are employed to determine the most efficient method for handling validated cases of influenza A, utilizing both statistical and machine learning models.

We take our data as a time series and split it into two separate sets: the training set and the test set. The test set, comprising 15% of the data, is used to validate the best model, while the training set consists of the remaining 85%. We evaluate a model’s performance using the Root Mean Square Error (RMSE).

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - z_i)^2} \tag{1}$$

Results

Predictive models

ARIMA and ARFIMA model

Autoregressive integrated moving average (ARIMA) models predict future values based on past values, it gauges the strength of one dependent variable relative to other changing variables.

A stochastic process $(X_t)_{t \geq 0}$ is said to be an ARIMA(p, d, q) an integrated mixture autoregressive moving average model if it satisfies the following equation:

$$\phi(L)(1 - L)^d X_t = \theta(L)\varepsilon_t \quad \forall t \geq 0 \tag{2}$$

where $d \in \mathbb{N}$, L is lag operator, $\varepsilon_t \sim N(0, \sigma^2)$ i.i.d. errors, with $\sigma^2 < \infty$.

$$\phi(L) = (1 - \phi_1 L - \dots - \phi_p L^p) \text{ with } \phi_p \neq 0$$

$$\theta(L) = (1 - \theta_1 L - \dots - \theta_q L^q) \text{ with } \theta_q \neq 0$$

Seasonal ARIMA, is an extension of ARIMA that explicitly supports univariate time series data with a seasonal component.

There are four seasonal elements that are not part of ARIMA that must be configured; they are: P: Seasonal autoregressive order, D: Seasonal difference order, Q: Seasonal moving average order, m: The number of time steps for a single seasonal period SARIMA(p,d,q)(P,D,Q)m

$$\phi'(L)\phi(L)(1 - L^m)^d(1 - L)^d X_t = \theta'(L)\theta(L)\varepsilon_t \quad \forall t \geq 0 \tag{3}$$

ETS model

The ETS models are time series models with an underlying state space model consisting of a level component, a trend component (T), a seasonal component (S), and an error term (E). This method produces forecasts that are weighted averages of past observations where the weights of older observations exponentially decrease.

BATS model

The BATS (Exponential smoothing state space model with Box-Cox transformation, ARMA errors, Trend and Seasonal components) model is a time series forecasting model that was proposed by De Livera et al. [5].

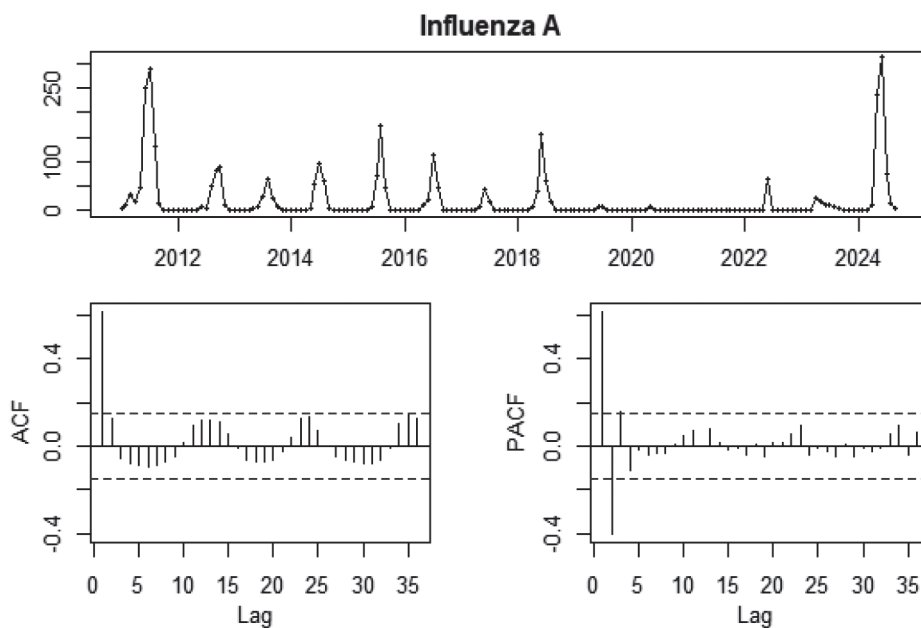


Figure 2. ACF and PACF plots

Box-Cox Transformation component is used to transform the data to achieve normality and stabilize the variance. The ARMA (Autoregressive Moving Average) Errors component is used to model the residuals of the time series data, which are assumed to be independent and identically distributed. Finally, the Seasonal component is used to model the seasonal patterns in the data.

Recurrent Neural Network RNN model

A Recurrent Neural Network (RNN) model for regression is a type of neural network designed to process sequential data by maintaining a memory of previous inputs.

Sequential Data Handling: RNNs are ideal for tasks where data points are dependent on previous ones, due to their ability to maintain information over sequences.

Memory: RNNs have internal memory (hidden states) that captures information from previous time steps, allowing them to learn patterns and dependencies over time.

Structure: An RNN consists of layers of neurons where each neuron receives inputs not only from the current time step but also from its own previous output.

Backpropagation Through Time (BPTT): The training of RNNs involves a variation of backpropagation (BPTT), which updates weights by considering the entire sequence of data.

Empirical Results

Here, we illustrate the predicted results graphically using several models “Statistical and machine learning models” (Fig. 3).

We show numerical results using this measure such as RMSE, a smaller RMSE and MAE indicates better performance (Tab.).

Discussion

We have applied statistical models: ARIMA, SARIMA, BATS, and ETS, as well as a machine learning model, RNN.

ARIMA is not suitable for modeling and predicting this data due to the lack of seasonal patterns. Therefore, we opted for SARIMA, which can handle seasonal patterns. SARIMA performed well in forecasting the confirmed cases in winter 2023 but exhibit poor performance for the winter of 2024 due to its short persistence.

ETS had the worst performance. We applied simple exponential smoothing but could not use multiplicative errors and seasonal components due to negative values. Similarly, the additive case also resulted in negative values.

BATS performed well due to its ability to handle seasonal components and its treatment of errors as ARMA, meaning they are autocorrelated (dependent), which is more realistic compared to the independent errors assumed by ARIMA and SARIMA.

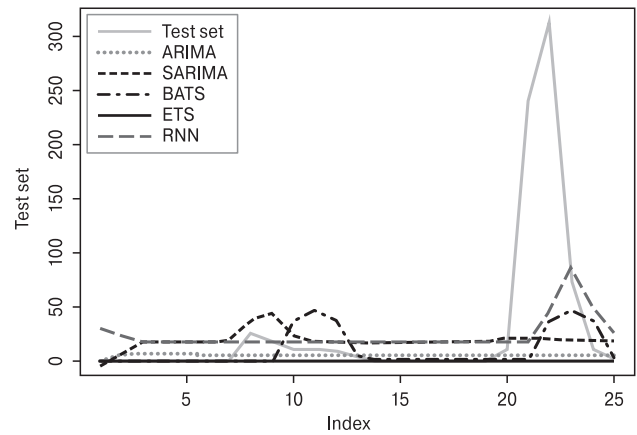


Figure 3. Predicting confirmed cases of Influenza A in Algeria

Table. Measure of performance

Models	ARIMA	SARIMA	ETS	BATS	RNN
RMSE	78.319	75.176	80.353	74.088	71.335

To improve the results, we replaced negative values with zeroes.

The RNN model performed the best due to its capacity to handle complex patterns, including non-linear and periodic trends, and its ability to overcome the problem of memory. However, it had problems modeling the rest of the year except for the wintertime.

Suggestions for reducing the number of confirmed cases of Influenza A

A combination of public health initiatives, personal efforts, and preventative measures are needed to decrease the number of confirmed cases of influenza A. The following are some crucial procedures:

Vaccination: Boost the use of yearly influenza vaccinations, which aim to protect people against the most prevalent strains that emerge each season.

Public Health Campaigns: Organize awareness programs to inform people about the value of immunizations, good hand cleanliness, and proper respiratory protocol.

Social Distancing: Take steps to avoid close proximity in crowded regions, particularly during the prime time of the flu season. This can involve advising people to stay away from crowded places, work from home, and keep a safe distance from other people.

Surveillance and Early Detection: Implement robust surveillance systems to: Monitor Influenza Activity: Track the spread and evolution of influenza strains in real-time. Identify Outbreaks: Quickly detect and respond to outbreaks to contain their spread.

Data Sharing: Collaborate with international health organizations for data sharing and coordinated response efforts.

Conclusion

To summarize, this work examined the behavior of confirmed Influenza A cases in Algeria and applied various statistical and machine learning models to predict the future behavior of this phenomenon. This approach enhances our understanding of the disease's future trends. Based on our find-

ings, we have suggested recommendations to help reduce the number of confirmed Influenza A cases.

Acknowledgement

We acknowledge the support of “Direction Générale de la Recherche Scientifique et du Développement Technologique DGRSDT”. MESRS ALGERIA.

References

1. Ali S.T., Cowling B.J. Influenza virus: tracking, predicting, and forecasting. *Annu Rev. Public Health*, 2021, vol. 42, pp. 43–57. doi: 10.1146/annurev-publhealth-010720-021049
2. Al-Qaness M.A.A., Ewees A.A., Fan H., Abd Elaziz M. Optimized forecasting method for weekly influenza confirmed cases. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2020, vol. 17, no. 10: 3510. doi: 10.3390/ijerph17103510
3. Boostani R., Rismanchi M., Khosravani A., Rashidi L., Kouchaki S. Presenting a hybrid method in order to predict the 2009 pandemic influenza A (H1N1). *J. Health. Med. Inform.*, 2012, vol. 3, no. 1, pp. 31–43. doi: 10.4172/2157-7420.1000112
4. Cheng H.Y., Wu Y.C., Lin M.H., Liu Y.L., Tsai Y.Y., Wu J.H., Pan K.H., Ke C.J., Chen C.M., Liu D.P., Lin I.F., Chuang J.H. Applying machine learning models with an ensemble approach for accurate real-time influenza forecasting in Taiwan: development and validation study. *J. Med. Internet Res.*, 2020, vol. 22, no. 8: e15394. doi: 10.2196/15394
5. De Livera A.M., Hyndman R.J., Snyder R.D. Forecasting time series with complex seasonal patterns using exponential smoothing. *J. Am. Stat. Assoc.*, 2011, vol. 106, no. 496, pp. 1513–1527. doi: 10.1198/jasa.2011.tm09771
6. Feradi F., Bouhata R., Kalla M.I., Kalla M. Assessing avian influenza vulnerability using geographically weighted regression, Batna Algeria. *The Arab. World. Geographer*, 2023, vol. 26, no. 1, pp. 76–87. doi: 10.5555/1480-6800-26.1.76
7. Goldstein E., Cobey S., Takahashi S., Miller J.C., Lipsitch M. Predicting the epidemic sizes of influenza A/H1N1, A/H3N2, and B: a statistical method. *PLoS Med.*, 2011, vol. 8, no. 7: e1001051. doi: 10.1371/journal.pmed.1001051
8. Kandula S., Yamana T., Pei S., Yang W., Morita H., Shaman J. Evaluation of mechanistic and statistical methods in forecasting influenza-like illness. *J R Soc. Interface*, 2018, vol. 15, no. 144: 20180174. doi: 10.1098/rsif.2018.0174
9. Khan M.A., Abidi W.U.H., Ghamdi M.A.A., Almotiri S.H., Saqib S., Alyas T., Khan K.M., Mahmood N. Forecast the influenza pandemic using machine learning. *Comput. Mater. Contin.*, 2021, vol. 66, no. 1, pp. 331–340. doi: 10.32604/cmc.2020.012148
10. Lu Y., Wang Y., Shen C., Luo J., Yu W. Decreased incidence of influenza during the COVID-19 pandemic. *Int. J. Gen. Med.*, 2022, vol. 15, pp. 2957–2962. doi: 10.2147/IJGM.S343940
11. Mejia K., Viboud C., Santillana M. Leveraging Google search data to track influenza outbreaks in Africa. *Gates Open Research*, 2019, vol. 3, no. 1653: 1653. doi: 10.12688/gatesopenres.13072.1
12. Seba D., Belaïde K. Forecasting infection fatality rate of COVID-19: measuring the efficiency of several hybrid models. *Russian Journal of Infection and Immunity*, 2024, vol. 14, no. 2, pp. 313–319. doi: 10.15789/2220-7619-FIF-17548
13. Wolk D.M., Lanyado A., Tice A.M., Shermohammed M., Kinar Y., Goren A., Chabris C.F., Meyer M.N., Shoshan A., Abedi V. Prediction of influenza complications: development and validation of a machine learning prediction model to improve and expand the identification of vaccine-hesitant patients at risk of severe influenza complications. *J. Clin. Med.*, 2022, vol. 11, no. 15: 4342. doi: 10.3390/jcm11154342
14. Xu Q., Gel Y.R., Ramirez Ramirez L.L., Nezafati K., Zhang Q., Tsui K.L. Forecasting influenza in Hong Kong with Google search queries and statistical model fusion. *PLoS One*, 2017, vol. 12, no. 5: e0176690. doi: 10.1371/journal.pone.0176690
15. Xue H., Bai Y., Hu H., Liang H. Regional level influenza study based on Twitter and machine learning method. *PLoS One*, 2019, vol. 14, no. 4: e0215600. doi: 10.1371/journal.pone.0215600
16. Zheng Y., Wang K., Zhang L., Wang L. Study on the relationship between the incidence of influenza and climate indicators and the prediction of influenza incidence. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 2021, vol. 28, no. 1, pp. 473–481. doi: 10.1007/s11356-020-10523-7

Авторы:

Себа Д., д.мат.н., доцент, лаборатория прикладной математики, факультет математики, Высшая школа информатики, г. Сиди-бель-Аббес, Алжир;
Бенаклеф Н., аспирант по математике, специальность «Вероятность и статистика» в университете Беджа, лаборатория прикладной математики в Университете Беджа, г. Беджа, Алжир;
Белаиде К., д.мат.н., профессор, лаборатория прикладной математики, факультет математики, Университет Беджа, г. Беджа, Алжир.

Authors:

Seba D., Doctor in Mathematics, Assistant Professor, Laboratory of Applied Mathematics, Department of Mathematics, Higher School of Computer Science (Ecole Supérieure en Informatique), Sidi Bel Abbes, Algeria;
Benaklef N., PhD Student in Mathematics, Speciality “Probability and Statistics” at the University of Bejaia, Member of Applied Mathematics Laboratory, University of Bejaia, Bejaia, Algeria;
Belaïde K., Doctor in Mathematics, Full Professor, Laboratory of Applied Mathematics, Department of Mathematics, University of Bejaia, Bejaia, Algeria.

Поступила в редакцию 14.06.2024
 Отправлена на доработку 28.07.2024
 Принята к печати 29.07.2024

Received 14.06.2024
 Revision received 28.07.2024
 Accepted 29.07.2024

РЕТРОСПЕКТИВНАЯ ОЦЕНКА ГУМОРАЛЬНОГО ОТВЕТА ПРИ МЕЛИОИДОЗЕ ЖИВОТНЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МНОГОЛЕТНИХ ДАННЫХ

И.Б. Захарова¹, Д.Л. Терешко¹, П.Р. Чирсков¹, Л.А.Т. Буй², Ш. Томсон³, И.В. Новицкая¹

¹ ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Волгоград, Россия

² Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр, г. Ханой, Вьетнам

³ Вьетнамский центр спасения медведей, Национальный парк Там Дао, Вьетнам

Резюме. Мелиоидоз — инфекция с высокой летальностью, вызываемая грамотрицательной бактерией *Burkholderia pseudomallei*. Возбудитель мелиоидоза по своей природе является сапрофитом и обладает значительным адаптационным потенциалом, позволяющим занимать самые разнообразные экологические ниши — от почвы до человека. Бактерия является факультативным внутриклеточным патогеном и способна инфицировать практически все классы позвоночных животных, за исключением амфибий. В силу разнообразия клинических проявлений мелиоидоза этот диагноз устанавливается на основании лабораторных исследований; золотым стандартом считается выделение культуры возбудителя. Тем не менее РНГА остается востребованным методом быстрой диагностики мелиоидоза и показатель нарастания титра антител в парных сыворотках является важным критерием для установления диагноза. В связи с этим целью настоящей работы был ретроспективный анализ длительной динамики антительного ответа у погибших от мелиоидоза и контактных животных из Вьетнамского центра спасения медведей (VBRC) и молекулярно-генетический анализ выделенных штаммов *B. pseudomallei*. От погибших животных были выделены бактериальные культуры, один штамм (VP069) идентифицирован на «Vitek 2» как *Burkholderia cepacia*, 3 штамма (VP044, VP161 и VP200) — как *B. pseudomallei*. Методом мультиплексной ПЦР показано, что все 4 штамма являются возбудителем мелиоидоза. Мультилокусное сиквенс-типирование показало, что штаммы VP069 и VP044 имели одинаковый и до настоящего времени не описанный сиквенс-тип, обозначенный STnew, штаммы VP161 и VP200 также имели общий ST541, распространенный среди штаммов, выделенных на севере Вьетнама. Идентичность внутри пар штаммов с одинаковыми ST подтверждена типированием 4221 локусов основного генома. Полученные данные позволили установить неклональный характер вспышки мелиоидоза с двумя разными источниками инфекции. Проведен ретроспективный анализ 546 образцов сывороток от 226 медведей. Все погибшие от мелиоидоза животные были серопозитивными в отношении *B. pseudomallei*, среди исследованных здоровых медведей серопозитивных оказалось 24%. Обнаружено, что у людей и медведей прослеживается общая тенденция динамики антительного ответа. Так же, как у людей у медведей при бактериологически подтвержденном мелиоидозе наблюдалось как повышение и снижение титра сывороток, так и неизменный и достаточно высокий титр, что показывает диагностическую неэффективность показателя нарастания титра антител в парных сыворотках при мелиоидозе.

Ключевые слова: мелиоидоз, *Burkholderia pseudomallei*, антитела, РНГА, типирование на основе WGS, геномный надзор.

Адрес для переписки:

Захарова Ирина Борисовна
400131, Россия, г. Волгоград, ул. Голубинская, 7,
ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский
противочумный институт Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (8442) 37-37-74. E-mail: zib279@gmail.com

Contacts:

Irina B. Zakharova
400131, Russian Federation, Volgograd, Golubinskaya str., 7,
Volgograd Plague Control Research Institute.
Phone: +7 (8442) 37-37-74. E-mail: zib279@gmail.com

Для цитирования:

Захарова И.Б., Терешко Д.Л., Чирсков П.Р., Буй Л.А.Т., Томсон Ш.,
Новицкая И.В. Ретроспективная оценка гуморального ответа при
мелиоидозе животных с использованием многолетних данных //
Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 173–177. doi: 10.15789/2220-
7619-ARL-17678

Citation:

Zakharova I.B., Tereshko D.L., Chirskov P.R., Bui T.L.A., Thomson S.,
Novitskaya I.V. A retrospective long-term assessment of antibody response
in melioidosis animals // Russian Journal of Infection and Immunity =
Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 173–177. doi: 10.15789/2220-
7619-ARL-17678

© Захарова И.Б. и соавт., 2025

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-ARL-17678>

A RETROSPECTIVE LONG-TERM ASSESSMENT OF ANTIBODY RESPONSE IN MELIOIDOSIS ANIMALS**Zakharova I.B.^a, Tereshko D.L.^a, Chirskov P.R.^a, Bui T.L.A.^b, Thomson S.^c, Novitskaya I.V.^a**^a *Volgograd Plague Control Research Institute, Federal Service for Surveillance on Consumers Rights Protection and Human Wellbeing, Volgograd, Russian Federation*^b *Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center, Hanoi, Vietnam*^c *Vietnam Bear Rescue Centre, Tam Dao National Park, Vietnam*

Abstract. Melioidosis is an extremely fatal infection disease caused by the gram-negative bacterium *Burkholderia pseudomallei*. The causative agent of melioidosis is an environmental saprophyte and has significant adaptive potential allowing it to undergo rapid adaptation to a wide variety of ecological niches. The bacterium is a facultative intracellular pathogen that can infect many animal species as well as humans. *B. pseudomallei* has no pronounced tropism for certain tissues of the infected organism, which explains the diversity and non-specificity of clinical manifestations, the most common of which are pneumonia with or without bacteremia and sepsis. This diagnosis is established on the basis of laboratory test data; cultured pathogen isolation is considered the gold standard. The indirect hemagglutination test remains a popular method for rapid melioidosis diagnostics, and increased paired serum antibody titer is an important criterion for making a diagnosis. The purpose of this work was to conduct a retrospective analysis of the long-term dynamic antibody response in Asiatic black bears that died from melioidosis and contact animals from the Vietnam Bear Rescue Center as well as molecular genetic analysis of isolated *B. pseudomallei* strains. Bacterial cultures were isolated from dead animals and identified by PCR as *B. pseudomallei*. Multilocus sequence typing showed that strains VP069 and VP044 had the same and hitherto undescribed sequence type (ST_{new}), and strains VP161 and VP200 shared ST541. The pairwise strain identity with the same ST was confirmed by a core genome multilocus sequence typing. A retrospective analysis of 546 serum samples from 226 bears was carried out. All animals that died from melioidosis were seropositive for *B. pseudomallei*. Among the healthy bears studied, 24% were seropositive. It was found that in humans and bears there is a general trend in the dynamics of the antibody response. Similar to humans, bears with bacteriologically confirmed melioidosis were observed to have both higher and lower serum antibody titer, as well as a constant and fairly high titer, which shows the diagnostic ineffectiveness elevated paired serum antibody titer in melioidosis.

Key words: melioidosis, *Burkholderia pseudomallei*, antibodies, IHA, WGS-based typing, molecular surveillance.

Введение

Мелиоидоз — инфекция с высокой летальностью, вызываемая граммотрицательной бактерией *B. pseudomallei*. Возбудитель мелиоидоза по своей природе является сапрофитом и обладает значительным адаптационным потенциалом, позволяющим занимать самые разнообразные экологические ниши — от почвы до человека. Бактерия является факультативным внутриклеточным патогеном и способна инфицировать практически все классы позвоночных животных. Возбудитель мелиоидоза не обладает выраженным тропизмом к определенным тканям макроорганизма, чем обусловлена разнообразность и неспецифичность клинических проявлений, наиболее частыми из которых являются пневмония с бактериемией (или без нее) и сепсис.

В естественных условиях *B. pseudomallei* распространена в тропических и субтропических поясах всех континентов и ее ареал постоянно расширяется. Так, за последние 5 лет список эндемичных по мелиоидозу стран пополнился 12 новыми странами Африки, Азии, Океании и Северной Америки [1]. Подавляющее большинство эндемичных по мелиоидозу стран являются популярными для туризма, что, наряду с экспортом товаров и животных, является причиной регулярных заносов инфекции на неэн-

демичные территории. В России зарегистрирован единственный завозной случай мелиоидоза из Таиланда, что, учитывая статистику российского туризма и данные о заносах мелиоидоза в другие страны, не соответствует реальности, поскольку мелиоидоз в нашей стране малоизвестен и не рассматривается при диагностике лихорадок неясной этиологии.

В силу разнообразия клинических проявлений мелиоидоза этот диагноз во всем мире устанавливается на основании лабораторных исследований, в обязательный перечень которых входят бактериологический, молекулярно-генетический и иммунологический анализ.

Роль антител в формировании функционального иммунитета к мелиоидозу неоднозначна, поскольку даже при наличии высоких уровней антител возможно повторное заражение другим штаммом. Кроме того, при мелиоидозе остается неясным период сероконверсии. Около 30% пациентов с культурально подтвержденным мелиоидозом в течении 2 недель после госпитализации остаются серонегативными и у значительной части сероконверсии не происходит и в более поздние сроки [2]. Тем не менее РНГА остается востребованным методом быстрой диагностики мелиоидоза и показатель нарастания титра антител в парных сыворотках является важным критерием для установления диагноза. В связи с этим целью настоящей работы был ре-

троспективный анализ длительной динамики антительного ответа у погибших от мелиоидоза и контактных животных из Вьетнамского центра спасения медведей (VBRC) и молекулярно-генетический анализ выделенных штаммов *B. pseudomallei*.

Животные, спасенные с нелегальных ферм по получению медвежьей желчи, содержатся в VBRC в полустественных открытых вольерах (общей площадью около 30 000 м²). Медведям созданы оптимальные условия, соответствующие международным этическим нормам, и обеспечен пожизненный уход, в том числе ветеринарный (<https://www.animalsasia.org/intl/our-work/bear-sanctuaries/vietnam-bear-sanctuary/vietnam-bear-sanctuary.html>).

Проведен ретроспективный анализ 546 образцов сывороток от 226 медведей, отобранных при проведении планового контроля здоровья животных в период с 2008 по 2023 гг., хранившихся в лаборатории центра при –80°С. Реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА) ставили в микроварианте с применением эритроцитарного антигенного мелиоидозного диагностикума, как описано ранее [3]. Идентификацию выделенных бактериальных культур проводили на биохимическом анализаторе «Vitek 2» с использованием карт для идентификации клинически значимых грамотрицательных палочек VITEK® 2 GN (bioMérieux, Франция) и методом ПЦР, описанном ранее [4]. Выделенные штаммы типировали по схемам MLST (7 консервативных локусов) [5, 6] и cgMLST (4221 локус основного генома) [7] с использованием инструментария базы данных PubMLST (<https://pubmlst.org>).

В течение двух месяцев 2020 г. в VBRC с признаками бактериального сепсиса погибли 4 черных азиатских медведя (учетные номера V069, V044, V161 и V200). Животные к моменту манифестации инфекции находились в центре от 2 до 10 лет, возраст к моменту гибели животных составлял 17–19 лет, то есть у всех присутствовал возрастной фактор, являющийся для людей предрасполагающим к развитию мелиоидоза. Патоморфологическая картина у всех погибших медведей была сходной — множественные абсцессы печени, селезенки, гнойный перикардит, легочное кровотечение, что характерно для мелиоидоза.

От погибших животных были выделены бактериальные культуры — штамм VP069 идентифицирован на «Vitek 2» как *Burkholderia cepacia*, штаммы VP044, VP161 и VP200 — как *B. pseudomallei*. Методом мультиплексной ПЦР показано, что все 4 штамма являются *B. pseudomallei*. Для внутривидового типирования использовали шотган полногеномные последовательности, депонированные ранее в GenBank NCBI (номера до-

ступа — JAOZIV000000000, JAOZIU000000000, JAOZIT000000000, JAOZIS000000000). Мультилокусное сиквенс типирование (MLST) показало, что штаммы VP069 и VP044 имели одинаковый, ранее не описанный сиквенс-тип (ST), штаммы VP161 и VP200 также имели общий ST541. То есть две пары медведей были инфицированы разными штаммами. Идентичность внутри пар штаммов VP044/VP069 и VP044/VP069 была подтверждена cgMLST — штаммы VP044 и VP069 отличались всего по 4 локусам из 4221 (BPSEU00110, BPSEU03110, BPSEU25620, BPSEU25835) штаммы VP161 и VP200 — по 5 (BPSEU08565, BPSEU28315, BPSEU25620, BPSEU22515, BPSEU19005). Полученные данные позволили установить неклональный характер вспышки мелиоидоза с двумя разными источниками инфекции.

На наличие антител к возбудителю мелиоидоза исследовали парные сыворотки от 215 животных без клинических признаков инфекции и 11 погибших, в том числе 4-х с бактериологически подтвержденным мелиоидозом и 7-и с патоморфологическими характеристиками, позволяющими заподозрить мелиоидоз (бактериологическое исследование не проводилось, пригодный для анализа в ПЦР материал отсутствовал). Среди здоровых животных серопозитивных (с титром сывороток 1:320 и выше) оказалось 55 особей (24%).

Все погибшие от мелиоидоза животные были серопозитивными — титры последних отобранных сывороток варьировали от 1:320 до 1:5120. Причем у двух из них в долгосрочной динамике (2–10 лет) отмечено повышение титра, у одного титр оставался неизменным, еще у одного наблюдали транзиторную серореверсию (рис. 1, А). Среди животных с подозрением на мелиоидоз титры последних отобранных сывороток варьировали от 1:640 до 1:5120, с течением времени в 5 случаях наблюдалось повышение титра, в двух — снижение (рис. 1, Б).

Серопозитивных в отношении *B. pseudomallei* среди исследованных здоровых медведей оказалось 24%, что выше, чем у диких макаков (14%) в Таиланде [8]. Возможно, это отражает различную видовую восприимчивость к мелиоидозу. Также нельзя исключать территориальный фактор, поскольку у здорового населения эндемичных по мелиоидозу стран уровень серопозитивности также отличается — 30% на севере Вьетнама, 20% в Индии и 38% в Таиланде [2, 3, 9]. Вопрос, является ли серопозитивность против *B. pseudomallei* как у здоровых людей, так и у животных показателем латентной инфекции или иммунитета после перенесенного заболевания, остается открытым [2].

Изучение длительной динамики антительного ответа при мелиоидозе у людей затруд-

3. Терешко Д.Л., Новицкая И.В., Захарова И.Б., Чиен Д., Кузнецов А.Н., Кулаков М.Я., Будченко А.А., Пушкарь В.Г., Викторов Д.В., Топорков А.В. Получение и использование эритроцитарного антигенного мелиоидозного диагностикума при анализе проб сывороток от лиц из эндемичных по мелиоидозу провинций Ха Занг, Лангшон и Куангнинь Социалистической Республики Вьетнам // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 5. С. 919–928. [Tereshko D.L., Novitskaya I.V., Zakharova I.B., Trien D., Kuznetsov A.N., Kulakov M.Ya., Budchenko A.A., Pushkar V.G., Viktorov D.V., Toporkov A.V. Obtaining and using erythrocyte antigenic melioidosis diagnostic agent in the analysis of serum samples from melioidosis-endemic provinces Ha Giang, Lang Son and Quang Ninh of the Socialist Republic of Vietnam. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 5, pp. 919–928. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-OAU-1933
4. Zakharova I., Teteryatnikova N., Toporkov A., Viktorov D. Development of a multiplex PCR assay for the detection and differentiation of *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia thailandensis*, and *Burkholderia cepacia* complex. *Acta Trop.*, 2017, vol. 174, pp. 1–8. doi: 10.1016/j.actatropica.2017.06.016
5. Godoy D., Randle G., Simpson A.J., Aanensen D.M., Pitt T.L., Kinoshita R., Spratt B.G. Multilocus sequence typing and evolutionary relationships among the causative agents of melioidosis and glanders, *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei*. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, vol. 41, no. 5, pp. 2068–2079. doi: 10.1128/jcm.41.10.4913.2003
6. Price E.P., MacHunter B., Spratt B.G., Wagner D.M., Currie B.J., Sarovich D.S. Improved multilocus sequence typing of *Burkholderia pseudomallei* and closely related species. *J. Med. Microbiol.*, 2016, vol. 65, no. 9, pp. 992–997. doi: 10.1099/jmm.0.000312
7. Lichtenegger S., Trinh T.T., Assig K., Prior K., Harmsen D., Pesl J., Zauner A., Lipp M., Que T.A., Mutsam B., Kleinhapl B., Steinmetz I., Wagner G.E. Development and validation of a *Burkholderia pseudomallei* core genome multilocus sequence typing scheme to facilitate molecular surveillance. *J. Clin. Microbiol.*, 2021, vol. 59, no. 8: e0009321. doi: 10.1128/JCM.00093-21
8. Saechan V., Tongthainan D., Fungfuang W., Tulayakul P., Ieamsaard G., Ngasaman R. Natural infection of leptospirosis and melioidosis in long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) in Thailand. *J. Vet. Med. Sci.*, 2022, vol. 84, no. 5, pp. 700–706. doi: 10.1292/jvms.21-0514
9. Raj S., Sistla S., Melepurakkal Sadanandan D., Kadhiraivan T., Chinnakali P. Estimation of seroprevalence of melioidosis among adult high risk groups in Southeastern India by indirect Hemagglutination assay. *PLOS Glob Public Health*, 2022, vol. 2, no. 5: e0000431. doi: 10.1371/journal.pgph.0000431

Авторы:

Захарова И.Б., д.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории патогенных буркхольдерий ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Волгоград, Россия;

Терешко Д.Л., научный сотрудник лаборатории иммунодиагностических препаратов ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Волгоград, Россия;

Чирсков П.Р., научный сотрудник лаборатории патогенных буркхольдерий ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Волгоград, Россия;

Буй Л.А.Т., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии Российско-Вьетнамского Тропического научно-исследовательского и технологического центра, г. Ханой, Вьетнам;

Томсон Ш., бакалавр ветеринарных наук, магистр делового администрирования, старший ветеринарный хирург Вьетнамского центра спасения медведей, Национальный парк Там Дао, Вьетнам;

Новицкая И.В., к.м.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунодиагностических препаратов ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Волгоград, Россия.

Authors:

Zakharova I.B., DSc (Biology), Associate Professor, Leading Researcher, Laboratory of Pathogenic *Burkholderia*, Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd, Russian Federation;

Tereshko D.L., Researcher, Laboratory of Immunodiagnostic Preparations, Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd, Russian Federation;

Chirskov P.R., Researcher, Laboratory of Pathogenic *Burkholderia*, Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd, Russian Federation;

Bui T.L.A., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Biology, Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center, Hanoi, Vietnam;

Thomson S., BVSc MBA (Bachelor of Veterinary Science, Master of Business Administration), Senior Veterinary Surgeon, Vietnam Bear Rescue Centre, Tam Dao National Park, Vietnam;

Novitskaya I.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Leading Researcher, Laboratory of Immunodiagnostic Preparations, Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd, Russian Federation.

Поступила в редакцию 30.05.2024
Принята к печати 13.08.2024

Received 30.05.2024
Accepted 13.08.2024

ПРОДУКЦИЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ОТВЕТ НА СТИМУЛЯЦИЮ АДГЕЗИРУЮЩИХСЯ КЛЕТОК ДОНОРСКОЙ КРОВИ РАСТВОРИМЫМ ЛПС И ФАГОЦИТИРУЕМЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Е.В. Лысакова, С.А. Рыбцов, В.Ю. Тощакон

АНО ВО Научно-технологический университет «Сириус», Федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия

Резюме. Моделирование воспалительных процессов посредством специфической стимуляции рецепторов системы врожденного иммунитета широко используется как в исследованиях фундаментальных механизмов воспаления, так и при разработке противовоспалительных препаратов. Рецепторы врожденного иммунитета разделяют на две группы. Первую группу образуют рецепторы, располагающиеся на плазматической мембране клетки и на мембранах эндосом. К таким рецепторам относят Toll-подобные рецепторы (TLRs, Toll-like receptors) и лектиновые рецепторы С-типа. Вторую группу представляют цитоплазматические рецепторы, играющие особую роль при распознавании присутствия патогенов (или их продуктов) внутри цитоплазмы клеток. К цитоплазматическим рецепторам относят NOD-подобные рецепторы (NOD-like receptors, NLRs), RIG-I-подобные рецепторы (RIG-I-like receptors, RLRs), цитозольный ДНК-сенсор cGAS, а также рецептор Aim2 (absent in melanoma 2). Наиболее часто используемым способом индукции воспалительных процессов в различных экспериментальных моделях является стимуляция иммунного ответа путем введения очищенных бактериальных липополисахаридов (ЛПС) или других микробных молекул. В настоящей работе сравнивался ответ лейкоцитов периферической крови доноров на стимуляцию растворимым высокоочищенным ЛПС грамотрицательных бактерий с ответом, индуцированным фиксированными бактериями *E. coli*. Исследования показали, что ЛПС и бактерии индуцируют сходные уровни продукции провоспалительных цитокинов, таких как TNF и IL-6, в то время как ни ЛПС, ни цельные бактерии не вызвали измеримой продукции IFN γ адгезированными лейкоцитами. Продукция цитокинов в ответ на ЛПС и бактерии резко различалась в чувствительности к TLR-ингибитору широкого спектра действия, пептиду 5R667. ЛПС-стимулированная продукция цитокинов, как и ожидалось, была высокочувствительна к ингибированию пептидом, тогда как продукция, стимулированная

Адрес для переписки:

Тощакон Владимир Юрьевич
354340, Россия, Краснодарский край, Федеральная территория «Сириус», Олимпийский пр., 1, АНО ВО Научно-технологический университет «Сириус». Тел.: 8 926 560-74-49. E-mail: toschakov.vy@talantiuspeh.ru

Contacts:

Vladimir Yu. Toshchakov
354340, Russian Federation, Krasnodar Region, Sirius Federal Territory, Olimpiiskii pr., 1, Sirius University of Science and Technology. Phone: +7 926 560-74-49. E-mail: toschakov.vy@talantiuspeh.ru

Для цитирования:

Лысакова Е.В., Рыбцов С.А., Тощакон В.Ю. Продукция провоспалительных цитокинов в ответ на стимуляцию адгезирующихся клеток донорской крови растворимым ЛПС и фагоцитируемыми бактериями // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 178–184. doi: 10.15789/2220-7619-PCP-17752

Citation:

Lysakova E.V., Rybtsov S.A., Toshchakov V.Yu. Proinflammatory cytokine production by adherent donor blood cells stimulated by soluble LPS and phagocytosed bacteria // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 178–184. doi: 10.15789/2220-7619-PCP-17752

Работы по анализу фагоцитоза с использованием проточной цитометрии, конфокальной микроскопии и иммуноферментный анализ провоспалительных цитокинов были выполнены при поддержке Российского Научного Фонда, проект № 23-15-00443 (<https://rscf.ru/project/23-15-00443>). Дизайн и выполнение экспериментов по культивированию клеток с TLR-блокирующим пептидом 5R667 были произведены в рамках реализации государственной программы федеральной территории «Сириус» «Научно-технологическое развитие федеральной территории «Сириус» (номер соглашения по ФТ 18-03 от 10.09.2024).

Phagocytosis analysis using flow cytometry, confocal microscopy and immunoenzymatic analysis of proinflammatory cytokines were supported by the Russian Science Foundation, project No. 23-15-00443 (<https://rscf.ru/project/23-15-00443>). The design and execution of experiments on culturing cells with TLR-blocking peptide 5R667 were performed as part of the implementation of the state programme of the federal territory "Sirius" "Scientific and Technological Development of the Federal Territory 'Sirius'" (agreement number under FT 18-03 dated 10.09.2024).

ная корпускулярными бактериями, не ингибировалась. Анализ фагоцитарной активности клеток крови с помощью метода проточной цитометрии показал, что TLR-блокирующий пептид не влиял на способность лейкоцитов крови фагоцитировать *E. coli*. Поскольку известно, что пептид 5R667 блокирует ряд TLRs, активируемых при бактериальных инфекциях, включая TLR4, TLR5 и TLR9, полученные данные, а также анализ литературы указывают на существенный вклад цитоплазматических рецепторов системы врожденного иммунитета (в частности рецепторов NOD1 и NOD2) в индукцию продукции провоспалительных цитокинов фагоцитами при бактериальных инфекциях. Полученные результаты указывают на существенные различия механизмов индукции цитокинов при стимуляции растворимым ЛПС и корпускулярными бактериями, а также позволяют предложить способ моделирования воспалительных процессов с использованием цельных фиксированных бактерий в качестве дополнения к моделям, использующим растворимые бактериальные продукты, для более полного отражения механизмов иммунного ответа на бактериальные инфекции.

Ключевые слова: фагоцитоз, бактерии, ЛПС, детекция патогенов, продукция цитокинов, ингибиторы Toll-подобных рецепторов.

PROINFLAMMATORY CYTOKINE PRODUCTION BY ADHERENT DONOR BLOOD CELLS STIMULATED BY SOLUBLE LPS AND PHAGOCYTED BACTERIA

Lysakova E.V., Rybtsov S.A., Toshchakov V.Yu.

Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Krasnodar Region, Russian Federation

Abstract. Specific stimulation of receptors of the innate immune system by their purified ligands is commonly used in basic studies of inflammation and in the development of anti-inflammatory drugs. Based on location, receptors of the innate immunity can be classified into two groups: i) cell plasma membrane and on membranes of endosomes (Toll-like receptors (TLRs) and C-type lectin receptors), and recognizing the presence of pathogens in the extracellular space; ii) cytoplasmic sensors playing a special role in the recognition of intracellular pathogens (NOD-like receptors (NLRs), RIG-I-like receptors (RLRs), bacterial DNA sensor cGAS, and Aim2 (absent in melanoma 2)). Many experimental models of inflammation use bacterial lipopolysaccharides (LPSs) or other purified microbial molecules to simulate the innate immune response to microbes. In the present study, the response of human blood leukocytes to stimulation with soluble, highly purified LPS from gram-negative bacteria was compared with that induced by formalin-fixed, corpuscular *E. coli*. The data obtained demonstrate that LPS and bacteria induce similar levels of TNF and IL-6 by plastic-adherent leukocytes, whereas neither LPS nor whole bacteria induce a measurable IFN γ production. The LPS- and bacteria-induced cytokine production, however, drastically differed in the sensitivity to a broad-spectrum TLR inhibitor, peptide 5R667. The LPS-stimulated human leukocyte cytokine production, as expected, was highly sensitive to inhibition by the peptide, whereas production stimulated by corpuscular bacteria was not. The TLR-blocking peptide did not affect the ability of blood leukocytes to phagocytose *E. coli* as shown by flow cytometry data obtained using FITC-stained fixed bacteria. Because peptide 5R667 blocks several TLRs, including TLR4, TLR5, and TLR9, the differential sensitivity of LPS- and bacteria-induced cytokine production to 5R667 suggests that the intracellular pathogen sensors, most likely NOD1 and/or NOD2, essentially contribute to the bacteria-induced cytokine induction. These results show that LPS and phagocytosed bacteria induce cytokine production via different mechanisms and also suggest that the models with corpuscular bacteria for simulating bacterially induced inflammation complement the models that using soluble TLR ligands; therefore, both models should be applied to properly reflect anti-bacterial immune response.

Key words: phagocytosis, bacteria, LPS, pathogen sensing, cytokine production, TLR inhibitors.

Введение

Система врожденного иммунитета распознает присутствие патогенных микроорганизмов посредством широкого набора рецепторов, каждый из которых активируется определенным классом микробных молекул [3]. Структурные мотивы, характерные для микробных молекул, распознаваемых рецепторами врожденного иммунитета, называют патоген-ассоциированными молекулярными структурами (ПАМС) (от английского термина «pathogen-associated molecular patterns»). Рецепторы врожденного иммунитета разделяют на две группы на основании их локализации. Рецепторы, располагающиеся на плазматической мембране клетки, а также на мембранах

эндосом, образуют первую группу. Эта группа включает в себя семейства Toll-подобных рецепторов (TLR) и лектиновых рецепторов С-типа. Рецепторы этих семейств активируются ПАМС, располагающимися во внеклеточном пространстве, а также эндосомально располагающимися нуклеиновыми кислотами бактериального или вирусного происхождения [5]. Вторая группа микробных сенсоров образована цитоплазматическими рецепторами различных белковых семейств и включает в себя NOD-подобные рецепторы (NLRs), RIG-I-подобные рецепторы (RLRs), цитозольный ДНК-сенсор cGAS, а также рецептор Aim2 (absent in melanoma 2) [8]. Основная функция рецепторов цитоплазматической группы заключается в обнаружении

ПАМС в цитозоле клеток. RLRs активируются вирусными нуклеиновыми кислотами, Aim2 активируется бактериальной и вирусной ДНК [8]. Эффекторны механизмы, запускаемые цитоплазматическими рецепторами, разнообразны и включают в себя активацию противовирусного иммунитета посредством активации продукции интерферонов, протеолитическое созревание интерлейкинов IL-1 и IL-18 в их зрелые, секретуемые формы, индукцию различных форм программируемой клеточной смерти посредством активации каспаз, а также другие, более специализированные функции [1, 5]. Некоторые NLRs, например NOD1 и NOD2, выполняют функции аналогичные функциям TLRs, так как эти рецепторы активируют транскрипционные факторы семейства NF-κB и митоген-активируемые протеин киназы (МАПК), тем самым индуцируя продукцию цитокинов клеткой-хозяином [1]. NOD1 и NOD2 распознают молекулярные мотивы пептидогликанов клеточной стенки как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, играя важную роль в формировании иммунного ответа на оба эти класса бактериальных патогенов [1]. Пептидогликаны не являются единственным классом ПАМС, способных активировать NOD1 и NOD2, эти рецепторы также могут активироваться бактериальными эффекторами белковой природы, а также эндогенными молекулами [6]. NOD1 и NOD2 присутствуют в клетках различных типов [10], в частности, NOD2 особенно обильно экспрессируется моноцитами периферической крови [9].

Цитоплазматические рецепторы врожденной иммунной системы играют важную роль в распознавании патогенных вирусов и бактерий, репликационный цикл которых протекает в цитоплазме эукариотических клеток [8]. Кроме того, цитоплазматические сенсоры патогенов важны и для распознавания бактерий, не способных к выходу из фагосом, но в значительной мере элиминирующихся посредством фагоцитоза [1, 15]. Механизмы, посредством которых ПАМС фагоцитируемых бактерий попадают из фагосом в цитоплазму, остаются предметом изучения. В литературе рассматривается как простая трансмембранная утечка ПАМС из фагосом, так и участие бактериальных транспортных систем в таком переносе [1]. В настоящее время распространено представление о кооперативности участия мембранных и цитоплазматических рецепторов в формировании иммунного ответа на фагоцитируемые бактерии [15], а также растет понимание различий в последствиях активации клеток иммунной системы растворимыми ПАМС и корпускулярными, фагоцитируемыми бактериями [2].

Передача сигнала активированными Toll-подобными рецепторами происходит за счет

белок-белковых взаимодействий, осуществляемых TIR-доменами, присутствующими как во всех TLRs, так и в адаптерных белках, рекрутируемых к TLRs при активации [5, 14]. Блокировка взаимодействий TIR-доменов пептидами, происходящими из сайтов, осуществляющих сигнал-зависимые белковые взаимодействия, является эффективной стратегией разработки ингибиторов TLR [11, 12]. Пептид, соответствующий третьему спиральному участку TIR-домена TLR5 и синтезированный вместе с пептидным вектором, обеспечивающим проникновение всей конструкции в клетку (пептид 5R667), является мультиспецифичным ингибитором TLR, способным ингибировать TLR5, TLR4, TLR2, и TLR9, но не TLR7 или TLR8 [4].

В настоящем исследовании было изучено влияние пептида 5R667 на фагоцитарную способность гранулоцитов и моноцитов периферической крови доноров. Сравнивали лейкоцитарную продукцию цитокинов, индуцированную высокоочищенным ЛПС, с таковой, индуцированной фагоцитируемыми, фиксированными грамотрицательными бактериями, а также эффекты TLR-блокирующего пептида на продукцию цитокинов при стимуляции как ЛПС, так и фагоцитируемыми бактериями. Полученные результаты указывают на существенные различия в механизмах реакции лейкоцитов на ЛПС и на фагоцитируемые бактерии, что выявляет неполноту моделирования ответа иммунной системы на бактериальные инфекции исключительно высокоочищенными TLR-агонистами.

Материалы и методы

Получение проб донорской крови. Забор образцов периферической крови производился с помощью системы для вакуумного взятия венозной крови условно здоровых добровольцев в гепаринизированные пробирки вакутейнеры (Химмедснаб, Россия) в медпункте Университета «Сириус» квалифицированным персоналом. Непосредственно после забора производился цитологический анализ крови на гемцитометре «Celltac MEK-7300K» (Nihon Kohden, Япония).

Определение фагоцитарной активности лейкоцитов. Для определения фагоцитарной активности лейкоцитов к 100 мкл цельной крови, контрольной или предобработанной пептидом 5R667 в конечной концентрации 10, 20 или 40 мкМ в течение 30 мин, добавляли фиксированные, конъюгированные с флуоресцеином (FITC) бактерии *E. coli* (штамм DH5a) в соотношении лейкоциты:бактерии 1:20. Фиксированные и конъюгированные бактерии были приготовлены согласно ранее опубликованной методике [7]. После добавления бактерий аликвоты крови инкубировали в течение часа в атмосфере 5% CO₂

при 37°C. По окончании инкубации эритроциты лизировали BD Pharm Lyse буфером по протоколу производителя (BD Biosciences, США). Анализ на фагоцитарную активность лейкоцитов проводили на проточном цитофлуориметре BD LSRFortessa как описано ранее [7].

Определение продукции провоспалительных цитокинов. Образцы крови распределяли по 250 мкл на лунку в 48-луночные культуральные планшеты (NEST, Китай) и инкубировали в течение 2 ч в атмосфере 5% CO₂ при 37°C. По окончании инкубации кровь аспирировали, и адгезировавшиеся клетки дважды промывали фосфатно-солевым буфером. После промывки добавляли культуральную среду RPMI 1640, содержащую 10% телячьей сыворотки, глутамин и НЕРЕС. Блокирующий пептид 5R667, имеющий последовательность -RQIKIWFQNRRMKWKKWCLEAFSYAQGR-, добавлялся в культуральную среду в концентрации 10 или 20 мкМ [4] (Genscript, США). После 30-минутной инкубации в присутствии пептида, стимулировали продукцию цитокинов либо очищенным *E. coli* ЛПС (100 нг/мл) (Sigma-Aldrich, США), либо фиксированными бактериями, добавленными в соотношении лейкоциты:бактерии 1:20. Клеточные супернатанты собирали через 22 ч после стимуляции, очищали центрифугированием и замораживали. Анализ содержания TNF и IFN γ в супернатантах проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) при помощи наборов компании «Вектор-Бест» (Россия). Содержание IL-6 анализировалось при помощи ИФА наборов компании «BioLegend» (США).

Статистический анализ. Статистическую достоверность различий средних оценивали при помощи однофакторного дисперсионного анализа с использованием программного обеспечения GraphPad Prism. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Целью первой серии экспериментов было определение влияния TLR-блокирующего пептида 5R667 на фагоцитоз бактерий лейкоцитами периферической крови. Для этого к образцам крови здоровых доноров добавлялся 5R667 до конечной концентрации 40, 20, 10, или 0 мкМ, и пробы инкубировались в течение 30 мин в CO₂-инкубаторе. Затем добавлялись меченные флуоресцеином бактерии в количестве ~20 бактерий на лейкоцит. Фагоцитарная способность лейкоцитов оценивалась методом проточной цитометрии отдельно для популяций моно- и гранулоцитов, выделяемых по размеру и гранулярности клеток (рис. 1А). Фагоцитарная активность оценивалась по интенсивности флуоресценции клеток в канале FITC (рис. 1А).

Анализ полученных данных показал, что инкубация крови с проникающим в клетки пептидом не вызывала значимых изменений фагоцитарной способности лейкоцитов периферической крови (рис. 1В). В случае добавления 40 мкМ пептида можно было отметить тенденцию к некоторому снижению фагоцитарной активности моноцитов. Такой тенденции, однако, не наблюдалось в популяции гранулоцитов (рис. 1В). Отсутствие значимого эффекта пептида на фагоцитарную активность лейкоцитов крови также подтверждалось визуальным анализом поглощения FITC-меченных *E. coli* адгезированными на пластик лейкоцитами методом флуоресцентной микроскопии (не показано). Результаты, представленные на рис. 1, показывают, что обработка лейкоцитов TLR-блокирующим пептидом не отражается существенным образом на их фагоцитарной активности.

В следующей серии экспериментов сравнивали лейкоцитарный цитокиновый ответ, индуцированный растворимым ЛПС, с ответом, индуцированным корпускулярными фагоцитируемыми бактериями. Оценивалось содержание TNF, IL-6 и IFN γ в супернатантах, собранных через 22 ч после стимуляции лейкоцитов бактериальными продуктами. Стимуляция лейкоцитов как ЛПС, так и цельными бактериями активировала продукцию цитокинов сходным образом (рис. 2). Следует отметить, однако, что ни ЛПС, ни цельные бактерии не вызывали продукции IFN γ (не показано). Это наблюдение указывает на отличие спектра цитокинов, продуцируемых адгезирующимися клетками крови от такового, продуцируемого перитонийными макрофагами. Так, ранее сообщалось, что стимуляция первичной культуры перитонийных макрофагов ЛПС вызывает TLR4-зависимую, MyD88-независимую активацию продукции IFN γ [13]. Эти различия могут быть объяснены сниженной экспрессией компонентов TRIF-зависимого сигнального пути адгезирующимися лейкоцитами периферической крови.

Установив, что корпускулярные фагоцитируемые бактерии вызывают продукцию провоспалительных цитокинов, количественно сравнимую с продукцией, вызываемой растворимым ЛПС, было оценено влияние мультиспецифического ингибитора TLRs пептида 5R667 на индуцированную продукцию TNF и IL-6. Эксперименты показали значительные различия в чувствительности цитокиновой продукции к ингибированию TLRs. Пептид 5R667 вызывал значительное, статистически достоверное снижение продукции обоих цитокинов, индуцированной растворимым ЛПС, но не влиял на продукцию, индуцированную корпускулярными бактериями (рис. 2). Данные, представленные на рис. 2, также подтверждают ранее сделанный вывод о вероятном

отсутствии видовой специфичности ингибиторного действия пептида 5R667 [4], что подтверждается эффективным блокированием пептидом ЛПС-индуцированной продукции цитокинов в лейкоцитах человека (рис. 2).

Отсутствие эффекта пептида на продукцию цитокинов не может быть объяснено участием дополнительных TLRs при стимуляции бактериальными частицами, содержащими ПАМС различных классов, поскольку пептид 5R667 ингибирует множественные TLRs [4]. Так, помимо TLR4, активируемого ЛПС грамотрицательных бактерий, 5R667 ингибировал TLRs, активируемые и другими ПАМС грамотрицательных

бактерий: TLR5, агонистом которого является флагеллин (белок, формирующий бактериальные жгутики); а также TLR9, активируемый бактериальной, неметиловой ДНК [4]. Несмотря на то что TLR7 не ингибировался пептидом 5R667, вклад TLR7 и TLR8 в индукцию продукции цитокинов бактериями можно исключить на основании того, что эти рецепторы активируются вирусной одноцепочечной РНК, а не бактериальными ПАМС [5]. Наиболее вероятными индукторами, ответственными за TLR-независимую продукцию провоспалительных цитокинов, являются члены семейства NOD-подобных рецепторов — NOD1 и NOD2. Эти ре-

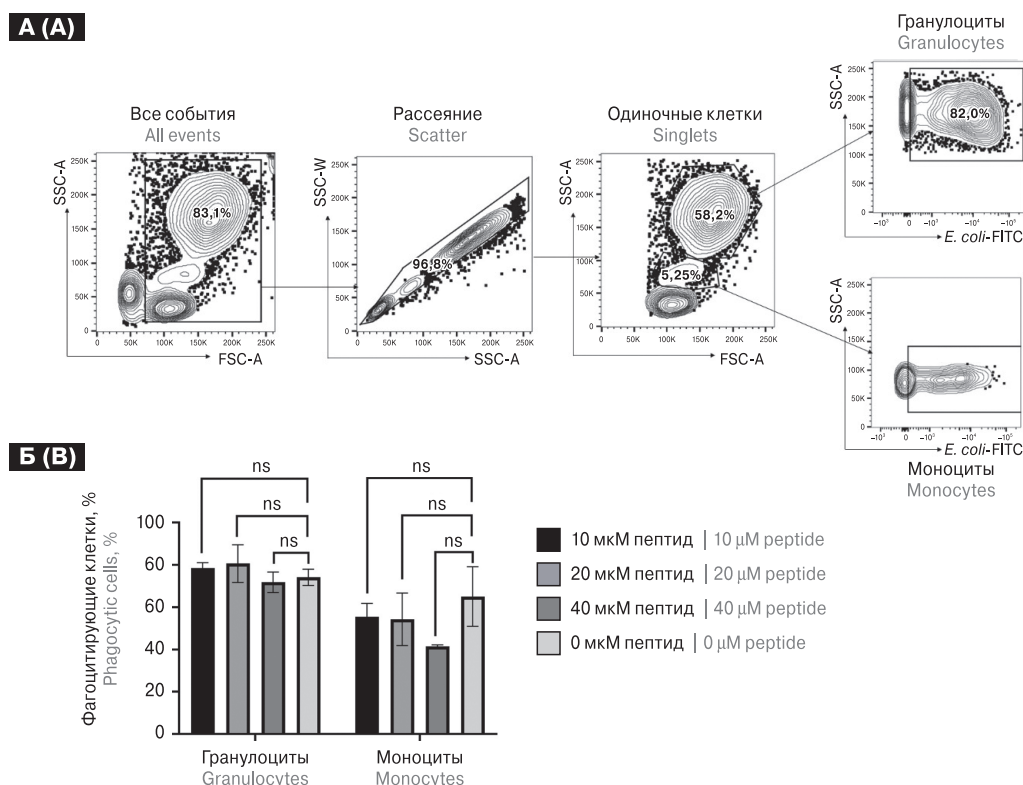


Рисунок 1. Влияние TLR-блокирующего пептида 5R667 на фагоцитоз бактерий *E. coli* моноцитами и гранулоцитами периферической крови

Figure 1. Effect of dose-dependent effect from TLR-blocking peptide 5R667 on phagocytosis of *E. coli* bacteria by peripheral blood monocytes and granulocytes

Примечание. (А) Стратегия гейтирования популяций лейкоцитов периферической крови. Популяции гранулоцитов и моноцитов выделяли среди одиночных клеток (singlets) по размеру и гранулярности клеток. Фагоцитирующие клетки характеризовались наличием флуоресценции в канале FITC в связи с добавлением меченных FITC бактерий, как показано на правых панелях рисунка. (Б) Пептид 5R667 не вызывает значимых изменений фагоцитарной активности лейкоцитов периферической крови. Цельную гепаринизированную кровь инкубировали в присутствии различных концентраций пептида 5R667 в течении 30 мин, после чего добавляли меченные флуоресцеином бактерии. Долю фагоцитирующих клеток оценивали методом проточной цитометрии через 1 ч после добавления бактерий. Статистический анализ выполнен с помощью U-критерия Манна–Уитни.

Note. (A) Gating strategy for peripheral blood leukocyte populations. Granulocyte and monocyte populations were distinguished from singlets based on cell size and granularity. Phagocytic cells were characterized by fluorescence in the FITC channel due to the addition of FITC-labeled bacteria, as shown in the right panels of the figure. (B) Peptide 5R667 does not significantly affect the phagocytic activity of peripheral blood leukocytes. Heparinized blood was incubated in the presence of various concentrations of peptide 5R667 for 30 min, then the fluorescein-labeled bacteria were added. The proportion of phagocytic cells was assessed by flow cytometry 1 h after the addition of bacteria. Statistical analysis was performed using the Mann–Whitney U-test.

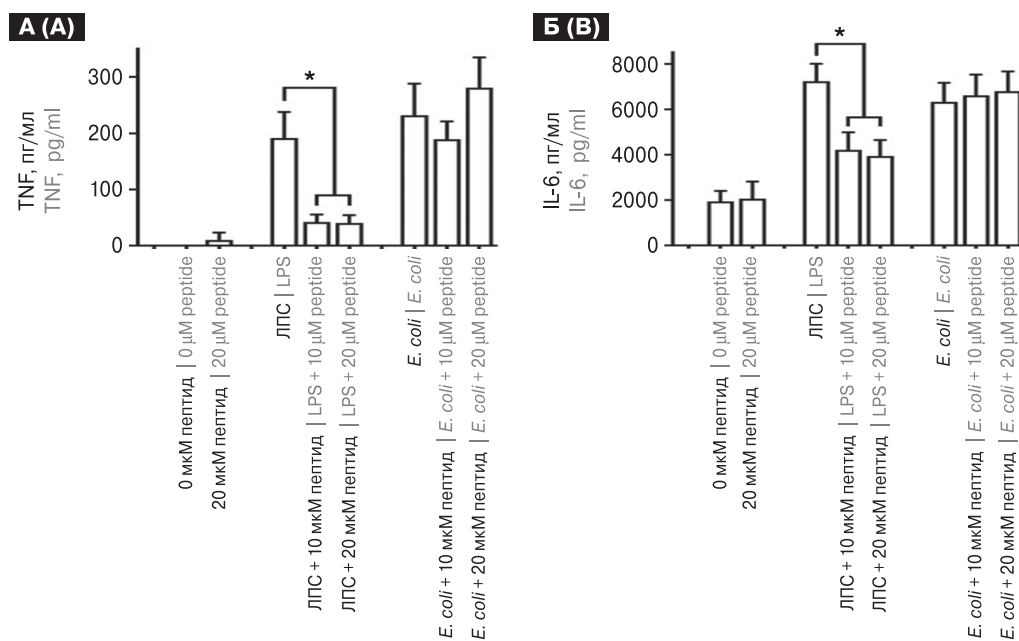


Рисунок 2. Продукция провоспалительных цитокинов адгезирующимися лейкоцитами крови человека при стимуляции растворимым ЛПС и фагоцитируемыми бактериями

Figure 2. Proinflammatory cytokine production by adherent human blood leukocytes stimulated with soluble LPS and phagocytosed bacteria

Примечание. Адгезировавшиеся к пластику клетки крови отмывали от эритроцитов, преинкубировали с различными концентрациями пептида 5R667 в течение 30 мин и стимулировали либо высокоочищенным, растворимым ЛПС в дозе 100 нг/мл, либо фиксированными бактериями в количестве ~20 бактерий на лейкоцит. Супернатанты для измерения содержания цитокинов собирали через 22 ч после стимуляции клеток. (А) Продукция TNF. (Б) Продукция IL-6. Статистический анализ выполнялся методом однофакторного дисперсионного анализа. * — $p < 0.05$. Проанализированы пробы крови, полученные от 12 доноров.

Note. Plastic-adherent blood cells were washed from erythrocytes, preincubated with different concentrations of peptide 5R667 for 30 min and stimulated with either highly purified, soluble LPS (100 ng/ml) or formalin-fixed bacteria at ~20 bacteria per leukocyte. Supernatants for cytokine measurement were collected 22 h after cell stimulation. (A) TNF production. (B) IL-6 production. Statistical analysis was performed by one-way analysis of variance. * — $p < 0.05$. Blood samples from 12 donors were analyzed.

цепторы активируются различными фрагментами пептидогликанов, присутствующих в бактериальной стенке как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий [6]. Оба рецептора активируют транскрипционные факторы, стимулирующие транскрипцию провоспалительных цитокинов (транскрипционные факторы семейства NF-κB, а также МАПК) [1]. Эти рецепторы экспрессируются лейкоцитами периферической крови, в частности NOD2 обильно экспрессируется в моноцитах [9].

Заключение

Настоящее исследование выявило существенные различия механизмов индукции цитокинов растворимым очищенным ЛПС и корпускулярными бактериями. Эти различия обусловлены не только более широким спектром ПАМС, активирующих дополнительные TLR рецепторы при стимуляции цельными бактериями, но и задействованием цитоплазматических рецепторов, предположительно NOD1 и NOD2, распознающих бактериальное присутствие,

за счет интернализации бактериальных продуктов посредством фагоцитоза. Наше исследование также указывает на неполноту моделирования бактериальных инфекций с использованием растворимого ЛПС (или иных высокоочищенных бактериальных продуктов). Использование корпускулярных, содержащих ПАМС фагоцитируемых частиц, таких как фиксированные бактерии, может повысить корректность моделирования иммунного ответа на бактериальные инфекции. В будущем мы планируем более детально изучить механизмы активации продукции цитокинов цельными бактериями, а также использовать фиксированные бактерии в экспериментальном моделировании иммунного ответа на бактериальные инфекции.

Благодарности

Авторы благодарят сотрудников ресурсного центра клеточных технологий и иммунологии, лабораторного комплекса НТУ «Сириус» за предоставление оборудования и техническую поддержку исследований.

Дополнительная информация

Соблюдение этических норм. Все процедуры, выполненные в исследовании с образцами добровольцев на анонимной основе, соответствуют национальным этическим стандартам,

Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям и были одобрены комитетом по биоэтике Университета «Сириус» (протокол от 06.03.2023 г.). Информированное добровольное согласие получено от всех участников исследования до отбора образцов крови.

Список литературы/References

1. Elinav E., Strowig T., Henao-Mejia J., Flavell R.A. Regulation of the antimicrobial response by NLR proteins. *Immunity*, 2011, vol. 34, pp. 665–679. doi: 10.1016/j.immuni.2011.05.007
2. Fu Y.L., Harrison R.E. Microbial phagocytic receptors and their potential involvement in cytokine induction in macrophages. *Front. Immunol.*, 2021, vol. 12: 662063. doi: 10.3389/fimmu.2021.662063
3. Janeway C.A., Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu. Rev. Immunol.*, 2002, vol. 20, pp. 197–216. doi: 10.1146/annurev.immunol.20.083001.084359
4. Javmen A., Zou J., Nallar S.C., Szmecinski H., Lakowicz J.R., Gewirtz A.T., Toshchakov V.Y. TLR5-derived, TIR-interacting decoy peptides to inhibit TLR signaling. *J. Immunol.*, 2023, vol. 210, pp. 1419–1427. doi: 10.4049/jimmunol.2200394
5. Kawai T., Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity*, 2011, vol. 34, pp. 637–650. doi: 10.1016/j.immuni.2011.05.006
6. Keestra-Gounder A.M., Tsohis R.M. NOD1 and NOD2: beyond peptidoglycan sensing. *Trends Immunol.*, 2017, vol. 38, pp. 758–767. doi: 10.1016/j.it.2017.07.004
7. Lysakova E.V., Shumeev A.N., Chuvpilo S.A., Laktyushkin V.S., Arsentieva N.A., Bobrov M.Y., Rybtsov S.A. Quantitative analysis of phagocytosis in whole blood using double staining and visualization. *Biochemistry (Moscow)*, 2024, vol. 89, pp. 923–932. doi: 10.1134/S0006297924050122
8. Núñez G. Intracellular sensors of microbes and danger. *Immunol. Rev.*, 2011, vol. 243, pp. 5–8. doi: 10.1111/j.1600-065X.2011.01058.x
9. Ogura Y., Inohara N., Benito A., Chen F.F., Yamaoka S., Núñez G. Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to monocytes and activates NF- κ B. *J. Biol. Chem.*, 2001, vol. 276, pp. 4812–4818. doi: 10.1074/jbc.M008072200
10. Sundaram B., Tweedell R.E., Prasanth Kumar S., Kanneganti T.D. The NLR family of innate immune and cell death sensors. *Immunity*, 2024, vol. 57, pp. 674–699. doi: 10.1016/j.immuni.2024.03.012
11. Toshchakov V.Y. Peptide-based inhibitors of the induced signaling protein interactions: current state and prospects. *Biochemistry (Moscow)*, 2024, vol. 89, pp. 784–798. doi: 10.1134/S000629792405002X
12. Toshchakov V.Y., Javmen A. Targeting the TLR Signalosome with TIR domain-derived cell-permeable decoy peptides: the current state and perspectives. *Innate Immun.*, 2020, vol. 26, pp. 35–47. doi: 10.1177/1753425919844310
13. Toshchakov V., Jones B.W., Perera P.Y., Thomas K., Cody M.J., Zhang S., Williams B.R.G., Major J., Hamilton T.A., Fenton M.J., Vogel S.N. TLR4, but Not TLR2, Mediates IFN- β -induced STAT1 α/β -dependent gene expression in macrophages. *Nat. Immunol.*, 2002, vol. 3, no. 4, pp. 392–398. doi: 10.1038/ni774
14. Toshchakov V.Y., Neuwald A.F. A survey of TIR domain sequence and structure divergence. *Immunogenetics*, 2020, vol. 72, pp. 181–203. doi: 10.1007/s00251-020-01157-7
15. Zhou H., Coveney A.P., Wu M., Huang J., Blankson S., Zhao H., O’Leary D.P., Bai Z., Li Y., Redmond H.P., Wang J.H., Wang J. Activation of both TLR and NOD signaling confers host innate immunity-mediated protection against microbial infection. *Front. Immunol.*, 2019, vol. 9: 3082. doi: 10.3389/fimmu.2018.03082

Авторы:

Лысакова Е.В., аспирант АНО ВО Научно-технологический университет «Сириус», Федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия;
Рыбцов С.А., к.б.н., руководитель ресурсного центра клеточных технологий и иммунологии АНО ВО Научно-технологический университет «Сириус», Федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия;
Тощак В.Ю., к.м.н., ведущий научный сотрудник, направление «Иммунобиология и биомедицина», АНО ВО Научно-технологический университет «Сириус», Федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия.

Authors:

Lysakova E.V., PhD Student, Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Krasnodar Region, Russian Federation;
Rybtsov S.A., PhD (Biology), Head of the Resource Center for Cell Technologies and Immunology, Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Krasnodar Region, Russian Federation;
Toshchakov V.Yu., PhD (Medicine), Leading Researcher, Division of Immunobiology and Biomedicine, Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Krasnodar Region, Russian Federation.

Поступила в редакцию 02.08.2024
 Принята к печати 05.08.2024

Received 02.08.2024
 Accepted 05.08.2024

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В РАЗВИТИИ КРАЙНЕ ТЯЖЕЛОГО СОСТОЯНИЯ ПРИ COVID-19

Л.А. Ащина¹, Н.И. Баранова¹, О.А. Кулиева¹, А.И. Болгова^{1,2}

¹ Пензенский институт усовершенствования врачей — филиал ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава РФ, г. Пенза, Россия

² ГБУЗ Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи, г. Пенза, Россия

Резюме. COVID-19 — это респираторное заболевание, вызванное вирусом SARS-CoV-2, которое может прогрессировать до острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и запускать иммунопатологические механизмы, приводящие к чрезмерному воспалению. Toll-подобные рецепторы, как рецепторы распознавания образов, выполняют незаменимую функцию при идентификации вируса и активируют врожденную иммунную систему, что может приводить к секреции провоспалительных цитокинов, таких IL-1, IL-6, TNF α и IFN γ . Противовирусные Toll-подобные рецепторы, включающие TLR3, TLR7 и TLR9 способны активировать TRIF-зависимый путь, индуцировать продукцию провоспалительных цитокинов, хемокинов и интерферонов типа I и типа III, участвовать в распознавании dsRNA, а также участвовать в обнаружении неметилированной CpG-ДНК. Кроме того, показана немаловажная роль TLR2 при COVID-19, который распознает пептидогликаны поверхности грамположительных бактерий и TLR4, который распознает липополисахарид грамотрицательных бактерий и играет роль в гипервоспалении у пациентов с COVID-19. Доказано, что TLR могут быть вовлечены как в первоначальный срыв клиренса вируса, так и в последующее развитие тяжелых клинических проявлений COVID-19, в основном острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) с фатальной дыхательной недостаточностью. Целью данной работы явилось изучение полиморфизмов TLR3 (rs3775291), TLR9 (rs352140), TLR7 (rs3853839), TLR4 (rs4986790), TLR4 (rs4986791), TLR2 (rs574708) у пациентов с COVID-19 в зависимости от исхода заболевания. В исследование вошли 187 пациентов, из которых выздоровевшие составили 157 человек, со смертельным исходом — 30. Генетический анализ на полиморфизмы генов TLR3 (rs3775291), TLR9 (rs352140), TLR7 (rs3853839), TLR4 (rs4986790), TLR4 (rs4986791), TLR2 (rs574708) был проведен методом ПЦР с детекцией результатов в режиме «реального времени». Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи программ Statistica 12.0 (США). Различия групп считали статистически значимым при $p < 0,05$. Силу ассоциаций оценивали в значениях показателя отношения шансов odds ratio (OR) и 95% доверительному интервалу. Отмечено, что генотипы GC TLR7 (rs3853839), AG TLR2 (rs574708), GG TLR4 (rs4986790), TT TLR4 (rs4986791) могут являться предикторами летального исхода COVID-19. Напротив, генотипы GG TLR7 (rs3853839), AA TLR2 (rs574708), AA TLR4 (rs4986790), CC TLR4 (rs4986791) могут являться протективными и способствовать выздоровлению пациентов.

Ключевые слова: COVID-19, выздоровление, смертельный исход, ПЦР, полиморфизмы, Toll-подобные рецепторы.

Адрес для переписки:

Ащина Людмила Андреевна
440060, Россия, г. Пенза, ул. Стасова, д. 8А,
Пензенский институт усовершенствования врачей — филиал
ГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ.
Тел.: 8 937 400-48-20.
E-mail: pushino2008@yandex.ru

Contacts:

Lyudmila A. Ashchina
440060, Russian Federation, Penza, Stasova str., 8A,
Penza Institute for Further Training of Physicians — Branch
of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education.
Phone: +7 937 400-48-20.
E-mail: pushino2008@yandex.ru

Для цитирования:

Ащина Л.А., Баранова Н.И., Кулиева О.А., Болгова А.И. Роль полиморфизмов Toll-подобных рецепторов в развитии крайне тяжелого состояния при COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 185–189. doi: 10.15789/2220-7619-ROT-17800

Citation:

Ashchina L.A., Baranova N.I., Kulieva O.A., Bolgova A.I. Role of Toll-like receptors polymorphisms in the development of extremely severe COVID-19 // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 185–189. doi: 10.15789/2220-7619-ROT-17800

ROLE OF TOLL-LIKE RECEPTORS POLYMORPHISMS IN THE DEVELOPMENT OF EXTREMELY SEVERE COVID-19

Ashchina L.A.^a, Baranova N.I.^a, Kulieva O.A.^a, Bolgova A.I.^{a,b}

^a Penza Institute for Further Training of Physicians – Branch of the “Russian Medical Academy of Continuing Professional Education” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Penza, Russian Federation

^b Penza Regional Clinical Center of Specialized Types of Medical Care, Penza, Russian Federation

Abstract. COVID-19 is a respiratory disease caused by the SARS-CoV-2 virus that can proceed to acute respiratory distress syndrome (ARDS) and trigger immunopathological mechanisms that lead to excessive inflammation. Toll-like receptors, as pattern recognition receptors, play an indispensable role in virus identification and activate the innate immune system, which can lead to the secretion of proinflammatory cytokines such as IL-1, IL-6, TNF α , and type I IFN. Antiviral toll-like receptors, including TLR3, TLR7, and TLR9, can activate the TRIF-dependent pathway, induce the production of proinflammatory cytokines, chemokines, and type I and type III interferons, participate in recognition of dsRNA and detection of unmethylated CpG DNA. In addition, an important role of TLR2 in COVID-19, which recognizes peptide glycans on the surface of gram-positive bacteria, and TLR4, which recognizes gram-negative bacteria lipopolysaccharide and plays a role in hyperinflammation in COVID-19, has been shown. It was confirmed that TLRs can be involved both in the initial failure of virus clearance and in the subsequent development of severe COVID-19 clinical manifestations mainly acute respiratory distress syndrome (ARDS) with fatal respiratory failure. The aim of this work was to study the polymorphisms of TLR3 (rs3775291), TLR9 (rs352140), TLR7 (rs3853839), TLR4 (rs4986790), TLR4 (rs4986791), TLR2 (rs574708) in patients with COVID-19 depending on disease outcome. The study included 187 patients, of whom 157 recovered and 30 deceased. Genetic analysis for polymorphisms of the TLR3 (rs3775291), TLR9 (rs352140), TLR7 (rs3853839), TLR4 (rs4986790), TLR4 (rs4986791), TLR2 (rs574708) genes was performed by real-time PCR. Statistical processing of the obtained results was performed using Statistica 12.0 (USA) software. The inter-group difference was considered statistically significant at $p < 0.05$. The strength of associations was estimated and presented as odds ratio (OR) and 95% confidence interval. It was noted that the genotypes GC TLR7 (rs3853839), AG TLR2 (rs574708), GG TLR4 (rs4986790), TT TLR4 (rs4986791) can be predictors of a fatal COVID-19 outcome. On the contrary, the genotypes GG TLR7 (rs3853839), AA TLR2 (rs574708), AA TLR4 (rs4986790), CC TLR4 (rs4986791) can be protective and contribute to the recovery of patients.

Key words: COVID-19, convalescence, mortality, PCR, polymorphisms, Toll-like receptors.

Введение

Вспышка вирусной инфекции COVID-19 возникла в Ухане в 2019 г. и быстро распространилась по всему миру, превратившись в пандемию. В настоящее время патогенез COVID-19 до конца не выяснен. Однако было показано, что взаимодействие вируса SARS-CoV-2 с организмом человека может вызывать чрезмерный иммунный ответ, что ведет к повреждению органов, особенно у пациентов в тяжелом состоянии [3]. Toll-подобные рецепты (TLR) как компонент врожденного иммунитета играют ключевую роль в распознавании вирусных частиц и активации иммунной системы [1]. Противовирусные TLR включают TLR3, который распознает dsRNA, TLR7 и TLR8, которые задействуют одноцепочечную РНК (ssRNA), в то время как TLR9 обнаруживает метилированную CpG-ДНК. Вовлечение TLR3 вирусной дцРНК активирует TRIF-зависимый путь и индуцирует провоспалительные цитокины, хемокины и интерфероны типа I и типа III через NF- κ B и IRF3 [7]. TLR2 опознает пептидогликаны поверхности грамположительных бактерий, липоарабиноманнан (гликолипид, характерный для представителей рода микобактерий), липопотеины, липопептиды [2]. TLR4 распознает

липополисахарид (LPS) грамотрицательных бактерий и была показана роль TLR4 в гипервоспалении у пациентов с COVID-19 [4]. Таким образом, TLR могут быть вовлечены как в первоначальный срыв клиренса вируса, так и в последующее развитие тяжелых клинических проявлений COVID-19, в основном острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) с фатальной дыхательной недостаточностью. Целью данной работы явилось изучение полиморфизмов TLR3 (rs3775291), TLR9 (rs352140), TLR7 (rs3853839), TLR4 (rs4986790), TLR4 (rs4986791), TLR2 (rs574708) у пациентов с COVID-19 в зависимости от исхода заболевания.

Материалы и методы

Проведено обследование 187 пациентов с COVID-19 в возрасте от 20 до 60 лет, находящихся на лечении в ГБУЗ «Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи». Диагноз устанавливался согласно действующим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» (версия 15 от 22.02.2022 г.) и выявления РНК SARS-CoV-2 в мазках из носа и зева методом ПЦР. Пациенты были разделены на 2 группы

в зависимости от исхода заболевания. В группу выздоровевших пациентов вошло 157 человек, а в группу со смертельным исходом — 30. Генетический анализ на полиморфизмы генов TLR3 (rs3775291), TLR9 (rs352140), TLR7 (rs3853839), TLR4 (rs4986790), TLR4 (rs4986791), TLR2 (rs574708) был проведен на базе лаборатории молекулярной и персонализированной медицины ПИУВ — филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. Выделение ДНК проводили из цельной венозной крови наборами «Проба-рапид-генетика» согласно прилагаемой инструкции (ДНК-Технология, Россия). Полученные препараты ДНК хранили при температуре -18°C ... -22°C в течение одного года. Типирование полиморфных вариантов генов TLR3 (rs3775291), TLR9 (rs352140), TLR7 (rs3853839), TLR4 (rs4986790), TLR4 (rs4986791), TLR2 (rs574708) осуществляли методом полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме «реального времени» на амплификаторе «ДТ-лайт» (ДНК-Технология, Россия) с использованием реагентов, синтезированных компанией «ДНК-синтез» (Москва). Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи программ

Statistica 12.0 (США). Различие групп считали статистически значимым при $p < 0,05$. Силу ассоциаций оценивали в значениях показателя отношения шансов odds ratio (OR) и 95% доверительному интервалу.

Результаты и обсуждение

Результаты проведенного исследования отражены в таблице. Анализ частоты встречаемости генотипов TLR3 (rs3775291) показал, что в группе выздоровевших пациентов наиболее часто встречающимся генотипом был СС (48,4%), а в группе умерших пациентов — СТ (53,3%). Оценка частоты встречаемости генотипов TLR9 (rs352140) выявила, что в группах выздоровевших и умерших пациентов наиболее часто встречался генотип СТ (64,3% и 66,7% соответственно). Однако сравнительный анализ по частоте встречаемости генотипов TLR3 (rs3775291) и TLR9 (rs352140) в группах с благоприятным и летальным исходами не выявил достоверно значимых различий. Изучение полиморфизма гена TLR7 (rs3853839) обнаружило, что наиболее часто встречался генотип СС, как в группе выздоровевших, так и в группе с летальным ис-

Таблица. Распределение и сравнение генотипов полиморфных вариантов генов TLR3 (rs3775291), TLR9 (rs352140), TLR7 (rs3853839), TLR4 (rs4986790), TLR4 (rs4986791), TLR2 (rs574708) у больных COVID-19 в зависимости от исхода

Table. Distribution and comparison of genotypes of polymorphic variants of TLR3 (rs3775291), TLR9 (rs352140), TLR7 (rs3853839), TLR4 (rs4986790), TLR4 (rs4986791), TLR2 (rs574708) genes in COVID-19 patients depending on outcome

Полиморфизм Polymorphism	Генотип Genotype	Пациенты с COVID-19 выздоровевшие COVID-19 patients recovered n (%)	Умершие пациенты Deceased patients n (%)	OR (95%ДИ)	p
TLR3 (rs3775291)	CC	76 (48,4%)	10 (33,4%)	1,88 (1,06–3,3)	0,09
	CT	66 (42,0%)	16 (53,3%)	0,64 (0,36–1,12)	0,09
	TT	15 (9,6%)	4 (13,3%)	0,66 (0,27–1,63)	0,09
TLR9 (rs352140)	CC	32 (20,4%)	6 (20%)	1,0 (0,50–2,00)	0,92
	CT	101 (64,3%)	20 (66,7%)	0,91 (0,51–1,64)	0,92
	TT	24 (15,3%)	4 (13,3%)	1,18 (0,53–2,63)	0,92
TLR7 (rs3853839)	GG	19 (12,2%)	0 (0%)	28,71 (1,68–492,08)*	0,04
	GC	20 (12,7%)	6 (20,0%)	0,55 (0,25–1,2)*	0,04
	CC	118 (75,1%)	24 (80,0%)	0,78 (0,4–1,53)	0,54
TLR4 (rs4986790)	GG	34 (21,7%)	24 (80,0%)	0,07 (0,03–0,14)*	0,001
	GA	32 (20,4%)	6 (20,0%)	1,03 (0,51–2,05)	0,62
	AA	91 (57,9%)	0 (0%)	278,49 (16,81–4613,18)*	0,001
TLR4 (rs4986791)	TT	24 (15,6%)	10 (33,3%)	0,36 (0,18–0,71)*	0,002
	TC	87 (55,2%)	16 (53,3%)	1,08 (0,62–1,9)	0,84
	CC	46 (29,2%)	4 (13,4%)	2,74 (1,33–5,67)*	0,002
TLR2 (rs574708)	AA	11 (7,0%)	0 (0%)	16,3 (0,92–289,36)*	0,004
	AG	15 (9,5%)	6 (20,0%)	0,4 (0,17–0,93)*	0,004
	GG	131 (83,5%)	24 (80,0%)	1,3 (0,63–2,68)	0,78

Примечание. * — статистически значимое различие показателей в группах больных COVID-19 ($p < 0,05$).

Note. * — statistically significant difference of indicators in groups of COVID-19 patients ($p < 0.05$).

ходом (75,1% и 80,0% соответственно). Однако достоверно значимые различия были выявлены по генотипам GG и GC. В группе умерших пациентов частота встречаемости генотипа GC была достоверно выше ($p = 0,04$), а генотип GG не был представлен. В работе El-Hefnawy S. и соавт. было обнаружено, что генотип GG также значительно чаще встречается у пациентов в тяжелом и критическом состоянии, а уровни экспрессии мРНК TLR7 были значительно выше у пациентов с COVID-19 по сравнению со здоровыми людьми. Предполагается, что генотип GG однонуклеотидного полиморфизма TLR7 (rs3853839) может быть генетическим фактором риска заражения COVID-19, тяжелого течения болезни и неблагоприятного клинического исхода [12]. Изучение гена TLR4 проводилось по двум однонуклеотидным полиморфизмам — rs4986790 и rs4986791. В группе пациентов COVID-19 с благоприятным исходом была показана достоверно более высокая частота встречаемости генотипа AA гена TLR4 (rs4986790) ($p = 0,001$) и более низкая частота встречаемости генотипа GG ($p = 0,001$) по сравнению с больными с летальным исходом. В одной из работ было показано, что генотип GG TLR4 rs4986790 был связан с риском развития COVID-19 и острого респираторного дистресс-синдрома [10], что согласуется с полученными данными. Кроме того, известно, что rs4986790 в гене TLR4 расположен за пределами лиганд-связывающего домена и поэтому не препятствует связыванию полисахарида, однако вызывает локальное изменение конформации, которое влияет на сворачивание, уровень экспрессии на поверхности клетки, стабильность белка и взаимодействие с нижестоящими сигнальными белками, что приводит к снижению функциональной активности TLR4 [13].

Наиболее часто встречающимся генотипом TLR4 (rs4986791) в обеих группах больных отмечен TC, однако достоверно значимые различия по частоте встречаемости выявлены по генотипам TT и CC. У больных с летальным исходом отмечена более высокая частота встречаемости

генотипа TT (в 2 раза) ($p = 0,002$) и достоверно более низкая частота встречаемости генотипа CC ($p = 0,002$). Доказано, что выработка провоспалительных цитокинов и интерферонов имеет решающее значение в борьбе с вирусными инфекциями, при этом TLR4 играет ключевую роль в связывании с S-белком SARS-CoV-2 и регуляции последующих воспалительных реакций [8]. В научной литературе имеются данные о том, что у лиц, имеющих полиморфизмы TLR2 (rs5743708) или TLR4 (rs4986791), вероятность развития пневмонии и более тяжелого течения заболевания была, соответственно, в 3,6 и 2,5 раза выше [6]. Анализ полиморфизма TLR2 (rs574708) выявил, что наибольший процент встречаемости в исследуемых группах имел генотип GG. Сравнительный анализ показал, что у выздоровевших пациентов с COVID-19 отмечалась достоверно более высокая частота встречаемости генотипа AA ($p = 0,04$) и более низкая частота встречаемости генотипа AG ($p = 0,04$) по сравнению с умершими пациентами. Отмечено, что генотип AG TLR2 (rs5743708) был значительно связан с более высоким риском заражения COVID-19, представляя собой значительный фактор риска тяжести течения COVID-19 [5], что также согласуется с нашими данными. Полученные результаты подтверждают идею о том, что генетические особенности могут существенно влиять на исход COVID-19, а также предполагается, что полиморфизмы TLR7 (rs3853839), TLR2 (rs574708), TLR4 (rs4986790), TLR4 (rs4986791) могут использоваться в качестве молекулярных предикторов исхода COVID-19. Отмечено, что генотипы GC TLR7 (rs3853839), AG TLR2 (rs574708), GG TLR4 (rs4986790), TT TLR4 (rs4986791) могут быть предикторами более тяжелого течения и неблагоприятного прогноза клинического исхода COVID-19. Напротив, генотипы GG TLR7 (rs3853839), AA TLR2 (rs574708), AA TLR4 (rs4986790), CC TLR4 (rs4986791) могут являться протективными и способствовать выздоровлению.

Список литературы/References

1. Белоглазов В.А., Яцков И.А., Камший А.А., Агзамова Ю.М. Роль полиморфизма генов Toll-like рецепторов в патогенезе новой коронавирусной инфекции // Медицинская иммунология. 2023. Т. 25, № 6. С. 1299–1306. [Beloglazov V.A., Yatskov I.A., Kamshiy A.A., Agzamova U.M. Role of polymorphism of Toll-like receptor genes in the pathogenesis of a new coronavirus infection. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2023, vol. 25, no. 6, pp. 1299–1306. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-ROT-2607
2. Бурместер Г.Р., Пецутто А. Наглядная иммунология. М.: Лаборатория знаний, 2022. 320 с. [Burmester G.R., Petsutto A. *Visual immunology*. Moscow: *Laboratoriya znaniy*, 2022. 320 p. (In Russ.)]
3. Йокота Ш., Куройва Е., Нишиока К. Новая коронавирусная болезнь (COVID-19) и «цитокиновый шторм». Перспективы эффективного лечения с точки зрения патофизиологии воспалительного процесса // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2020. Т. 9, № 4. С. 13–25. [Yokota S.H., Kuroiwa E., Nishioka K. New coronavirus disease (COVID-19) and the «cytokine storm». Prospects for effective treatment from the perspective of inflammatory pathophysiology. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*, 2020, vol. 9, no. 4, pp. 13–25. (In Russ.)] doi: 10.33029/2305-3496-2020-9-4-13-25

4. Сinyaкин И.А., Андриевская И.А., Ишутина Н.А., Баталова Т.А., Григорьев Н.Р. Роль Toll-подобных рецепторов в патогенезе COVID-19 // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2021. Т. 82. С. 107–115 [Sinyakin I.A., Andrievskaya I.A., Ishutina N.A., Batalova T.A., Grigoriev N.R. Role of Toll-like receptors in COVID-19 pathogenesis. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya = Bulletin Physiology and Pathology of Respiration*, 2021, vol. 82, pp. 107–115. (In Russ.)] doi: 10.36604/1998-5029-2021-82-107-115
5. Alhabibi A., Hassan A., Mohamed Abd Elbaky N., Asaad Eid H., Aldeen Abd Alzاهر Khalifa M., Wahab M., Ali Althoqapy A., E Abdou A., Zakaria D., Mostafa Nassef E., Kasim S., Saleh O., Elsheikh A., Lotfy M., Sayed A. Impact of Toll-like receptor 2 and 9 gene polymorphisms on COVID-19: susceptibility, severity, and thrombosis. *J. Inflamm. Res.*, 2023, vol. 16, pp. 665–675. doi: 10.2147/JIR.S394927
6. Bakaros E., Voulgaridi I., Paliatsa V., Gatselis N., Germanidis G., Asvestopoulou E., Alexiou S., Botsfari E., Lygoura V., Tsachouridou O., Mimitsoudis I., Tseroni M., Sarrou S., Mouchtouri V., Dadouli K., Kalala F., Metallidis S., Dalekos G., Christos Hadjichristodoulou C., Speletas M. Innate immune gene polymorphisms and COVID-19 prognosis. *Viruses*, 2023, vol. 15, no. 9, pp. 1784. doi: 10.3390/v15091784
7. Bortolotti D., Gentili V., Rizzo S., Schiuma G., Beltrami S., Strazzabosco G., Fernandez M., Caccuri F., Caruso A., Rizzo R. TLR3 and TLR7 RNA sensor activation during SARS-CoV-2 infection. *Microorganisms*, 2021, vol. 9, no. 9: 1820. doi: 10.3390/microorganisms9091820
8. Choudhury A., Mukherjee S. In silico studies on the comparative characterization of the interactions of SARS-CoV-2 spike glycoprotein with ACE-2 receptor homologs and human TLRs. *J. Med. Virol.*, 2020, vol. 92, pp. 2105–2113. doi: 10.1002/jmv.25987
9. Crane M.J., Lee K.M., FitzGerald E.S., Jamieson A.M. Surviving deadly lung infections: innate host tolerance mechanisms in the pulmonary system. *Front. Immunol.*, 2018, vol. 9: 1421. doi: 10.3389/fimmu.2018.01421
10. Flores-Gonzalez J., Chavez-Galan L., Falfán-Valencia R., Roldán I., Fricke-Galindo I., Veronica-Aguilar A., Martínez-Morales A., Hernández-Zenteno R., Guzmán-Guzmán I., Pérez-Rubio G. Variant rs4986790 of toll-like receptor 4 affects the signaling and induces cell dysfunction in patients with severe COVID-19. *Int. J. Infect. Dis.*, 2024, vol. 138, pp. 102–109. doi: 10.1016/j.ijid.2023.11.032
11. Pirofski L.-A., Casadevall A. Pathogenesis of COVID-19 from the perspective of the damage-response framework. *mBio*, 2020, vol. 11, no. 4, pp. 1–12. doi: 10.1128/mBio.01175-20
12. El-Hefnawy S., Eid H., Mostafa R., Soliman S., Omar T., Azmy R. COVID-19 susceptibility, severity, clinical outcome and Toll-like receptor (7) mRNA expression driven by TLR7 gene polymorphism (rs3853839) in middle-aged individuals without previous comorbidities. *Gene Rep.*, 2022, vol. 27, no. 8, pp. 101612. doi: 10.1016/j.genrep.2022.101612
13. Ziakas P.D., Prodromou M.L., El Khoury J., Zintzaras E., Mylonakis E. The role of TLR4 896 AG and 1196 CT in susceptibility to infections: a review and meta-analysis of genetic association studies. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 11, pp. 10–13. doi: 10.1371/journal.pone.0081047

Авторы:

Ащина Л.А., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной и персонализированной медицины Пензенского института усовершенствования врачей — филиал ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава РФ, г. Пенза, Россия;

Баранова Н.И., д.б.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной и персонализированной медицины Пензенского института усовершенствования врачей — филиал ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава РФ, г. Пенза, Россия;

Кулиева О.А., ассистент кафедры медицинской микробиологии и лабораторной медицины Пензенского института усовершенствования врачей — филиал ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава РФ, г. Пенза, Россия;

Болгова А.И., аспирант кафедры инфекционных болезней Пензенского института усовершенствования врачей — филиал ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава РФ, г. Пенза, Россия; зав. инфекционным отделением ГБУЗ Пензенский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи, г. Пенза, Россия.

Authors:

Ashchina L.A., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular and Personalised Medicine, Penza Institute for Further Training of Physicians – Branch of the “Russian Medical Academy of Continuing Professional Education” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Penza, Russian Federation;

Baranova N.I., DSc (Biology), Professor, Leading Researcher, Laboratory of Molecular and Personalised Medicine, Penza Institute for Further Training of Physicians – Branch of the “Russian Medical Academy of Continuing Professional Education” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Penza, Russian Federation;

Kulieva O.A., Assistant Professor, Department of Medical Microbiology and Laboratory Medicine, Penza Institute for Further Training of Physicians – Branch of the “Russian Medical Academy of Continuing Professional Education” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Penza, Russian Federation;

Bolgova A.I., PhD Student, Department of Infectious Diseases, Penza Institute for Further Training of Physicians – Branch of the “Russian Medical Academy of Continuing Professional Education” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Penza, Russian Federation; Head of the Infectious Diseases Department, Penza Regional Clinical Center of Specialized Types of Medical Care, Penza, Russian Federation.

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ ПЛАЗМЫ ИММУННОЙ АНТИ-COVID-19 И ЕГО СВЯЗЬ С ИСХОДОМ ЗАБОЛЕВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИММУННОЙ ПЛАЗМОЙ

М.П. Потапнев, А.В. Максимович, И.А. Дунаев, Л.М. Гущина, Ф.Н. Карпенко

Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Минск, Республика Беларусь

Резюме. Плазма иммунная анти-COVID-19 (ССР) рассматривается как важный элемент терапии пациентов на начальных стадиях заболевания. Терапевтическое действие ССР связывают с наличием специфических противовирусных антител. Дополнительно в качестве терапевтического рассматривается иммуномодулирующее действие ССР, где цитокины считаются одними из основных факторов. Цель исследования — оценить значение цитокинов и балансов цитокинов перелитой ССР для исхода заболевания у пациентов, получавших ее при проведении стационарного лечения COVID-19. *Материалы и методы.* В исследование включены данные 111 пациентов с COVID-19, получавших ССР. Содержание цитокинов в ССР измерялось методом иммуноферментного анализа. *Результаты.* Установлено, что повышенный уровень интерлейкина-6 (IL-6) и интерферона-гамма (IFN γ), но не IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-15, IP-10/CXCL10, MCP-1/CCL2 был выявлен в ССР, перелитой преимущественно пациентам, имевшим неблагоприятный (смертельный) исход заболевания. В этих сериях ССР достоверно повышены значения балансов цитокинов IFN γ /IL-10, IFN γ /IP-10, IFN γ /MCP-1, IL-6/IL-8, IL-6/IL-10, IL-6/IP-10, IL-6/IL-15 по сравнению с образцами ССР, перелитой пациентам группы выздоровевших. Низкий уровень IL-6 и IFN γ , сниженные значениями баланса IL-6/IP-10, IL-6/IL-15, IFN γ /MCP-1, IFN γ /IP-10, IFN γ /IL-15 были характерны для ССР, которую переливали пациентам, впоследствии выздоровевшим. Уровень IL-6 в образцах ССР, перелитой пациентам группы выздоровевших, имел сильную прямую корреляционную связь ($r = 0,9$) с балансами цитокинов IL-6/IL-10 и IL-6/IP-10, в то время как в группе умерших сильной связи не наблюдалось ($r = 0,6$). Уровни IFN γ в ССР проявляли сильную прямую корреляционную связь со значениями всех проанализированных балансов цитокинов (IFN γ /IL-10 ($r = 0,9$), IFN γ /IP-10 ($r = 0,9$), IFN γ /MCP-1 ($r = 0,9$)). IFN γ в ССР, перелитой пациентам группы выздоровевших, имел положительную корреляционную связь с значениями балансов IFN γ /IL-10 ($r = 0,78$), IFN γ /IP-10 ($r = 0,9$), IFN γ /MCP-1 ($r = 0,75$). Уровень IFN γ в ССР, перелитой пациентам группы умерших, имел более высокие значения положительной корреляционной связи с IFN γ /IL-10 ($r = 0,96$), IFN γ /IP-10 ($r = 0,92$), IFN γ /MCP-1 ($r = 0,92$). *Заключение.* Уровень цитокинов IL-6 и IFN γ , баланс цитокинов на их основе в ССР могут влиять на исход COVID-19 у пациентов, получавших лечение с использованием ССР.

Ключевые слова: COVID-19, пациенты, плазма иммунная анти-COVID-19, цитокины, балансы цитокинов, исход заболевания.

Адрес для переписки:

Потапнев Михаил Петрович
220080, Республика Беларусь, Минск, Долгиновский тракт, 160,
Республиканский научно-практический центр трансфузиологии
и медицинских биотехнологий.
Тел.: 8 (017) 289-86-20; 8 (029) 638-02-71.
E-mail: mpotapnev@yandex.by

Contacts:

Michael P. Potapnev
220080, Republic of Belarus, Minsk, Dolginovsky tract, 160,
Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and
Medical Biotechnologies.
Phone: +7 (017) 289-86-20; +7 (029) 638-02-71.
E-mail: mpotapnev@yandex.by

Для цитирования:

Потапнев М.П., Максимович А.В., Дунаев И.А., Гущина Л.М.,
Карпенко Ф.Н. Цитокиновый профиль плазмы иммунной анти-COVID-19
и его связь с исходом заболевания пациентов при лечении иммунной
плазмой // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 1. С. 190–196.
doi: 10.15789/2220-7619-CPO-16580

Citation:

Potapnev M.P., Maksimovich A.V., Dunayeu I.A., Hushchina L.M.,
Karpenko F.N. Cytokine profile of COVID-19 convalescent plasma and its
relationship to outcome of treated patients // Russian Journal of Infection
and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 1, pp. 190–196.
doi: 10.15789/2220-7619-CPO-16580

Работа выполнена при содействии гранта 20220295 Министерства здравоохранения Республики Беларусь.
The study was supported by the grant 20220295 of the Ministry of Health of the Republic of Belarus.

CYTOKINE PROFILE OF COVID-19 CONVALESCENT PLASMA AND ITS RELATIONSHIP TO OUTCOME OF TREATED PATIENTS

Potapnev M.P., Maksimovich A.V., Dunayeu I.A., Hushchina L.M., Karpenko F.N.

Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnologies, Minsk, Republic of Belarus

Abstract. COVID-19 convalescent plasma (CCP) is considered as an important element of therapy for patients in the initial stages of the disease. The main therapeutic effect of CCP is associated with the presence of specific antiviral antibodies. Additionally, the immunomodulatory effect of CCP is considered as therapeutic where cytokines represented one of the main factors. The aim of the study was to evaluate the importance of cytokines and cytokine ratio of transfused CCP for the outcome of the disease in patients who received it during inpatient treatment of COVID-19. *Materials and methods.* The study included data from 111 patients with COVID-19 who received CCP. The cytokine content in the CCP was measured by enzyme immunoassay. *Results.* It was found that elevated levels of interleukin-6 (IL-6) and interferon-gamma (IFN γ), but not IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-15, IP-10/CXCL10, MCP-1/CCL2 were detected in CCP transfused mainly to patients who had an unfavorable (fatal) outcome of the disease. Values of cytokine ratios of IFN γ /IL-10, IFN γ /IP-10, IFN γ /MCP-1, IL-6/IL-8, IL-6/IL-10, IL-6/IP-10, IL-6/IL-15 were also significantly increased in these CCP series as compared to CCP samples transfused to patients of the recovered group. Low levels of IL-6 and IFN γ , reduced level of cytokine ratios of IL-6/IP-10, IL-6/IL-15, IFN γ /MCP-1, IFN γ /IP-10, IFN γ /IL-15 were characteristic of CCP, which was transfused to patients, subsequently recovered. The level of IL-6 in the CCP samples transfused to the patients of the recovered group had a strong direct correlation ($r = 0.9$) with the cytokine ratios of IL-6/IL-10 and IL-6/IP-10, while in the group of the deceased patients there was no strong association ($r = 0.6$). IFN γ levels in the CCP showed a strong direct correlation with the values of all analyzed cytokine ratios (IFN γ /IL-10 ($r = 0.9$), IFN γ /IP-10 ($r = 0.9$), IFN γ /MCP-1 ($r = 0.9$)). The level of IFN- γ in the CCP transfused to patients of the recovered group had a positive correlation with the cytokine ratios of IFN γ /IL-10 ($r = 0.78$), IFN γ /IP-10 ($r = 0.9$), IFN γ /MCP-1 ($r = 0.75$). The level of IFN γ in the CCP transfused to patients of the deceased group had higher values of positive correlation with ratios of IFN γ /IL-10 ($r = 0.96$), IFN γ /IP-10 ($r = 0.92$), IFN γ /MCP-1 ($r = 0.92$). *Conclusion.* The level of cytokines IL-6 and IFN γ , the cytokine ratios based on them in the CCP may affect the outcome of COVID-19 in patients treated with CCP.

Key words: COVID-19, patients, COVID-19 convalescent plasma, cytokines, cytokine ratio, disease outcome.

Введение

Использование реконвалесцентной плазмы, полученной от пациентов, переболевших COVID-19 (плазмы иммунной анти-COVID-19, англ. Coronavirus disease 2019 convalescent plasma [CCP]), для лечения пациентов с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2, имеет неоднозначную оценку. С одной стороны, ее терапевтическое применение рекомендуется для пациентов с COVID-19 средней тяжести и в ранние сроки инфекции [8, 11]. С другой стороны, применение CCP не оказывало существенного влияния на уровень смертности пациентов с COVID-19, особенно требовавших искусственной вентиляции легких [5, 10, 15]. CCP рассматривают как источник нейтрализующих антител к SARS-CoV-2, в то же время роль остальных компонентов иммунного ответа остается малоизученной [7, 9]. Цитокины в составе CCP рассматриваются как действенные компоненты CCP, оказывающие при переливании иммуномодулирующее действие на пациента и участвующие в процессе выздоровления [6, 9, 14].

Цель исследования — оценить значение цитокинов и баланса цитокинов перелитой CCP для исхода заболевания у пациентов, получавших ее при проведении стационарного лечения COVID-19.

Материалы и методы

Был проведен ретроспективный анализ историй болезни 111 пациентов с COVID-19, получавших стационарное лечение в учреждении здравоохранения (УЗ) «Солигорская центральная районная больница», УЗ «Витебская областная клиническая инфекционная больница», УЗ «Витебский областной клинический специализированный центр», УЗ «Лиозненская центральная районная больница», государственного учреждения (ГУ) «Республиканский научно-практический центр (РНПЦ) пульмонологии и фтизиатрии», ГУ «РНПЦ неврологии и нейрохирургии». Пациенты с COVID-19 были обследованы и получали терапию в соответствии с рекомендациями, утвержденными Министерством здравоохранения Республики Беларусь (приказ № 255 от 06.03.2020 в редакции приказа № 430 от 13.04.2020). Она включала длительное пребывание в проп-позиции 15–24–36 часов подряд, гидратационно-инфузионную терапию, препараты ремдесивира, ингибиторов IL-6 по показаниям; профилактику и лечение тромбозов, коагулопатий и ДВС-синдрома, включая антиагрегантную терапию, антикоагуляционную терапию препаратами низкомолекулярного или нефракционированного гепарина по показаниям,

препараты системных глюкокортикоидных гормонов. Пациентам, нуждающимся в респираторной поддержке, проводилась интенсивная терапия острой дыхательной недостаточности. Антибактериальная терапия проводилась строго по показаниям, исключительно для лечения бактериальных осложнений. Плазму иммунную анти-COVID-19 (ССР) получали все пациенты в дозе от 190 до 750 мл (1–3 дозы), заготовленную в ГУ «РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий» (ГУ РНПЦ ТиМБ) и предоставленную пациентам после предварительной консультации с врачом-трансфузиологом ГУ РНПЦ ТиМБ. Сбор и анализ клинических данных пациентов, получавших плазму иммунную, осуществляли во исполнение приказа Министерства здравоохранения Республики Беларусь «Об оказании медицинской помощи пациентам с инфекцией COVID-19» от 05.06.2020 г. № 615.

Материалом исследования также были образцы ССР, приготовленной в ГУ РНПЦ ТиМБ методом автоматического плазмафереза в 2020–2022 гг. на основании приказа Министерства здравоохранения Республики Беларусь «О дополнительных мерах по обеспечению бесперебойной работы субъектов службы крови» от 03.04.2020 г., № 379, и прошедшей патогенредукцию с использованием систем «Терафлекс», «Интерсепт», «Мирасол» на основании инструкций фирм — производителей систем патогенредукции. Получение компонента крови «плазма иммунная анти-COVID-19» (ССР) осуществляли на основании положительных результатов тестирования с целью обнаружения антител к SARS-CoV-2 при отрицательных результатах тестирования на вирус SARS-CoV-2 и отсутствии признаков заболевания не менее 2 недель после перенесенного заболевания. Определение титра антител производили с использованием тест-системы «ichroma™ COVID-19 Ab» (Boditech Med Inc., Корея). Эффективными титрами считали превышающие уровень cut off (≥ 1.1) установленный производителем тест-систем.

В качестве контроля использовали аналогичные образцы плазмы, полученной от доноров крови, не болевших COVID-19, и подвергнутой аналогичной патогенредукции. Забор крови и ее компонентов от доноров крови в количестве 2–4 мл проводили на основании решения Комитета по этике ГУ РНПЦ ТиМБ от 10.04.2020 г. (заседание № 1) и на основании подписанного информированного согласия донора крови.

В контрольных образцах плазмы лиц, не болевших COVID-19, антител в диагностически значимом уровне не выявлено (хотя они и определялись как следствие специфической вакцинации или латентно перенесенного заболевания).

Определение цитокинов в образцах плазмы проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА) в соответствии с инструкциями производителей для IFN γ , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 (АО «Вектор-Бест», Россия), CXCL10/IP-10, CCL2/MCP-1 (Cloud-Clone Corp., Китай), TGF- β (BT Lab, Китай), IL-15 (Wuhan Fine Biotech Co., Китай). Исследуемые образцы плазмы лиц-реконвалесцентов и здоровых лиц вносили в лунки микропланшета для определения уровней цитокинов. Для каждого цитокина по результатам ИФА были построены калибровочные кривые на основании данных титрования внутренних стандартов и получены расчетные значения концентрации цитокинов в исследуемых образцах плазмы в соответствии с рекомендациями фирм-производителей.

Статистическая обработка результатов экспериментов проводили с использованием пакета Statistica 10.0. Рассчитаны средние значения и ошибка средних значений вариационных рядов изученных показателей. Данные представлены как $M \pm SD$. Для установления различий между двумя исследуемыми группами использовали t-критерий Стьюдента для сравнения независимых выборок, статистический уровень значимости $p < 0,05$. Сравнение групп пациентов с различным исходом заболевания проводили на основе корреляционного анализа с использованием критерия χ^2 Пирсона. Дальнейший анализ полученных данных проводили с использованием программного обеспечения MedCalc 22.009 и программного пакета R 4.3.1. С использованием ROC-анализа определялись чувствительность, специфичность, прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов анализируемых данных.

Результаты и обсуждение

Анализ когорты пациентов, получавших терапию с использованием ССР, показал, что большинство из них выздоровели ($n = 84$), а у остальных был зафиксирован смертельный исход ($n = 27$), связанный с прогрессией COVID-19. Сравнение этих подгрупп пациентов с различным исходом заболевания показал, что они достоверно не различались по возрасту (59,9 и 67,5 лет соответственно), распределению по полу (35/49 и 14/13 мужчин и женщин), индексу массы тела (32,8 и 33,32 соответственно). Сравнимые подгруппы пациентов характеризовались одинаковыми исходными показателями течения заболевания (длительность амбулаторного этапа лечения, длительность заболевания, показатели поражения легочной ткани, потребность в кислороде. Основное отличие касалось необходимости искусственной вентиляции легких, которая потребовалась 3 (3,57%)

Таблица 1. Уровень цитокинов в плазме иммунной анти-COVID-19, использованной для лечения пациентов с различными исходами заболевания

Table 1. Cytokine level in COVID-19 convalescent plasma used for therapy of patients with different disease outcome.

Цитокины Cytokines	Уровень цитокинов (пг/мл) в плазме иммунной анти-COVID-19, использованной для лечения пациентов Cytokine level (pg/ml) in CCP, used for therapy of patients				p
	выздоровевших recovered		умерших deceased		
	n	M±SD	n	M±SD	
IL-6	38	3,22±1,67	12	5,23±0,45	0,0002
IFN γ	33	7,40±2,72	16	15,83±9,67	0,00002
IL-10	43	11,39±2,89	13	12,14±2,14	0,3943
IL-15	30	7,34±1,87	11	7,99±2,43	0,3714
TGF- β	43	1,065±0,55	15	0,96±0,45	0,5055
IP-10/CXCL10	40	22,93±6,20	14	23,90±6,38	0,6215
MCP-1/CCL2	24	8,04±2,95	8	8,34±2,09	0,7921
IL-8	43	3,24±1,98	14	3,12±2,07	0,8461
IL-1 β	42	9,47±3,81	13	9,26±3,01	0,8536

пациентам подгруппы выздоровевших пациентов и 10 (37%) пациентам подгруппы умерших ($\chi^2 = 22,1$; $p \ll 0,001$).

Ранее нами и другими авторами [1, 7] были отмечены различия цитокинового профиля ССР и плазмы здоровых лиц, не болевших COVID-19, связанные с увеличением содержания в ССР интерферона-гамма (IFN γ). Vonny T. S. соавт. [7] также отметили повышение в ССР уровня интерлейкина-10 (IL-10), IL-15, IL-21, макрофагального воспалительного протеина (MIP-1 α), а также уменьшение уровня антагониста рецептора IL-1 (IL-1RA), IL-8, IL-16, васкулярного эндотелиального фактора роста А (VEGF-A).

Проведенное нами сравнение выявило некоторые различия в уровнях и балансах цитокинов в ССР, перелитой пациентам с COVID-19 с различным исходом заболевания. Как показано в табл. 1, содержание IL-6 и IFN γ оказалось достоверно выше в сериях ССР, перелитой пациентам, впоследствии умершим. Содержание IL-1- β , IL-8, IL-10, IL-15, TGF- β , IP-10/CXCL10, MCP-1/CCL2 достоверно не различалось в подгруппах пациентов, впоследствии выживших или умерших.

Для цитокинов IL-6 и IFN γ построены графики распределения их содержания в ССР, перелитой пациентам подгрупп выживших или умерших. Как видно из рисунка, для IL-6 четко выделяются два отдельных непересекающихся пика соответствующих низкому содержанию IL-6 (0–4 пг/мл), что характерно для ССР, перелитой пациентам, впоследствии выздоровевшим, и более высокому содержанию IL-6 (4–7 пг/мл), что характерно для ССР, перелитой пациентам, впоследствии умершим. Для IFN γ картина распределения несколько отличается. Уровень IFN γ в ССР, перелитой выздоровев-

шим пациентам, преимущественно формируют единый пик (2–10 пг/мл). В сериях ССР, перелитой пациентам, впоследствии умершим, наблюдались два пика содержания IFN γ , один из которых совпадает со значениями (2–10 пг/мл), характерными для ССР, перелитой пациентам, впоследствии выздоровевшим. Второй пик содержания IFN γ в ССР (24–32 пг/мл) наблюдался только у пациентов, впоследствии умерших. Такие распределения IL-6 и IFN γ в ССР свидетельствуют о роли цитокинов как прогностических факторов неблагоприятного исхода COVID-19 у пациентов, получавших лечение с использованием ССР.

Хорошо известно, что прогрессирование COVID-19 связано с вовлечением цитокинов, особенно при развитии системного воспалительного ответа [3, 4, 6, 13]. Активность и тяжесть заболевания проявляется совместным действием цитокинов с изменением их баланса на разных этапах патологического процесса. Поэтому мы оценили в ССР не только уровни, но и балансы отдельных цитокинов, их возможную связь с исходом заболевания у пациентов, пролеченных ССР. Как нами показано ранее, ССР по сравнению с контрольной плазмой здоровых лиц имеет выраженный дисбаланс цитокинов, связанный с повышением уровня IFN γ , IL-6, IL-8, IL-10 [1]. Как видно из табл. 2, баланс цитокинов первой, второй, третьей волны в ССР, использованной для терапии пациентов с COVID-19, является важным для развития и исхода заболевания [3, 4]. Прежде всего отмечают баланс IL-6/IL-10, повышение которого в крови пациентов связывают с плохим прогнозом заболевания. При этом IL-10 рассматривается как цитокин, снижающий иммуноопосредованное воспаление, а IL-6 ассоциируется с тяжелым течением и летальны-

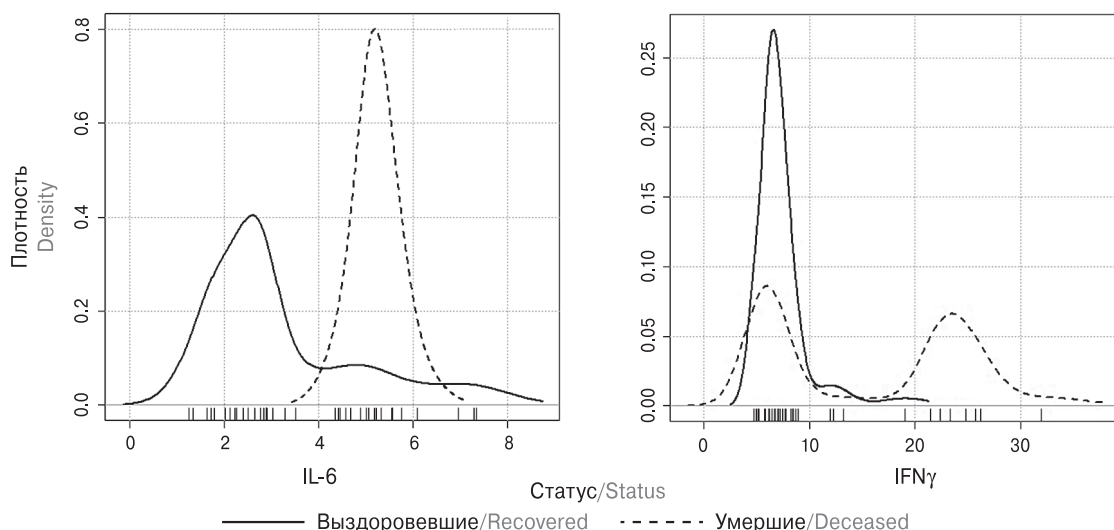


Рисунок. Распределение содержания IL-6 и IFN γ (пг/мл) в плазме иммунной, анти-COVID-19, перелитой пациентам групп выздоровевших (сплошная линия) или умерших (пунктирная линия)

Figure. Distribution of the level of IL-6 and IFN γ (pg/ml) in the COVID-19 convalescent plasma (CCP) transfused to patients of the groups recovered (solid line) or deceased (dotted line)

Примечание. По оси абсцисс — содержание цитокина в ССР, по оси ординат — частота встречаемости (Density).
Note. On the abscissa axis is the cytokine content in the CCP, on the ordinate axis is the frequency of occurrence (Density).

ми осложнениями при заболевании [4]. IL-6 и IFN γ не связаны прямо с вирусной нагрузкой у пациентов с тяжелым течением COVID-19, но отражают системное воспаление в организме пациентов, особенно при развитии острого респираторного дистресс-синдрома. Цитокин-опосредованный эффект благоприятного терапевтического эффекта ССР не связан с уровнем антител к S-антигену SARS-CoV-2 или нормальных антител [6]. Это указывает на само-

стоятельный иммуномодулирующий эффект цитокинов при переливании ССР пациентам с COVID-19 [6, 12, 14].

Для пациентов с COVID-19 с различным исходом заболевания мы оценили в использованной для их лечения ССР баланс цитокинов с участием IFN γ и IL-6. IL-6 в когорте всех исследованных образцов ССР и использованных в группе выживших пациентов имел сильную прямую корреляционную связь ($r = 0,8$ и $r = 0,9$)

Таблица 2. Сравнительная характеристика балансов цитокинов в плазме иммунной анти-COVID-19, перелитой выжившим и умершим пациентам

Table 2. Comparison of cytokine ratios in COVID-19 convalescent plasma, transfused to patients with different disease outcome

Баланс цитокинов Cytokine ratio	Значение показателей в ССР, использованной для лечения пациентов Value of cytokine ratio in COVID-19 convalescent plasma, used for therapy of patients				p
	выздоровевших recovered		умерших deceased		
	n	M \pm SD	n	M \pm SD	
IL-6/IL-10	37	0,29 \pm 0,12	10	0,4 \pm 0,04	0,0058
IL-6/IL-1 β	36	0,37 \pm 0,14	9	0,52 \pm 0,13	0,0075
IL-6/IL-8	37	1,38 \pm 0,93	10	2,38 \pm 1,14	0,0058
IL-6/IP-10	36	0,14 \pm 0,09	10	0,23 \pm 0,07	0,0058
IL-6/IL-15	28	0,48 \pm 0,3	8	0,79 \pm 0,36	0,0181
IFN γ /IL-10	32	0,74 \pm 0,27	13	1,26 \pm 0,76	0,0014
IFN γ /IL-1 β	31	1,05 \pm 0,51	13	1,55 \pm 0,71	0,0126
IFN γ /IL-8	32	3,45 \pm 1,9	14	5,57 \pm 4,16	0,0209
IFN γ /IP-10	31	0,34 \pm 0,18	14	0,73 \pm 0,63	0,0023
IFN γ /TGF- β	32	0,01 \pm 0,01	15	0,02 \pm 0,02	0,0008
IFN γ /IL-15	25	1,1 \pm 0,69	11	2,08 \pm 2,15	0,0444
IFN γ /MCP-1	15	1,14 \pm 0,69	8	2,44 \pm 1,16	0,0029

с балансами IL-6/IL-10 и IL-6/IP-10, в то время как в группе умерших таковой связи не наблюдалось ($r = 0,6$ и $r = 0,6$ соответственно), что может быть связано с повышением уровней IL-6 также в ССР, использованной для пациентов группы выживших. В ССР наблюдалась сильная прямая корреляционная связь уровней IFN γ со значениями всех проанализированных балансов цитокинов (IFN γ /IL-10 ($r = 0,9$), IFN γ /IP-10 ($r = 0,9$), IFN γ /TGF- β ($r = 0,8$), IFN γ /MCP-1 ($r = 0,9$)). При этом наблюдались различия в значениях баланса цитокинов в ССР, использованной для лечения пациентов групп умерших и выздоровевших. Так, в ССР, использованной для лечения группы выздоровевших, были снижены значения балансов IFN γ /IL-10, IFN γ /MCP-1 по сравнению с ССР, использованной для лечения пациентов группы умерших. В ССР, перелитой пациентам группы выживших, было также снижено значение баланса IFN γ /TGF- β относительно содержания в ССР, перелитой пациентам группы умерших. Полученные данные свидетельствуют о том, что балансовые соотношения цитокинов в ССР наряду с уровнем цитокинов имеют значение для исхода заболевания у пациентов, получавших терапию с использованием ССР. Баланс цитокинов IL-6/IFN γ , характеризующийся высокими значениями в крови пациентов с тяжелым COVID-19, в ССР имел невысокие значения ($0,39 \pm 0,158$, $n = 31$ для группы выздоровевших и $0,45 \pm 0,366$, $n = 12$ для группы умерших па-

циентов, $r = -0,15$; $p = 0,38$), что связано с забором плазмы по прошествии 2–3 недель после исхода заболевания и общим снижением уровня цитокинов к этому сроку [2, 4].

Выводы

Таким образом, ССР, использованная для лечения пациентов с COVID-19, характеризуется дисбалансом цитокинов, которые способны оказывать влияние на исход заболевания. Неблагоприятный исход заболевания пациентов с COVID-19, получавших терапию с использованием плазмы иммунной анти-COVID-19, ассоциируется с наличием в ССР повышенного содержания IL-6 и IFN γ , повышенными значениями баланса IFN γ /IL-10, IFN γ /IP-10, IFN γ /TGF- β , IFN γ /MCP-1, IL-6/IL-8, IL-6/IL-10, IL-6/IP-10, IL-6/IL-15. Низкий уровень IL-6 и IFN γ , сниженные значения балансов IL-6/IP-10, IL-6/IL-15, IFN γ /MCP-1, IFN γ /IP-10, IFN γ /TGF- β IFN γ /IL-15 были характерны для ССР, которую перелили пациентам, впоследствии выздоровевшим.

Благодарности

Авторы выражают благодарность врачу-трансфузиологу Вагановой Т.В. (ГУ РНПЦ ТиМБ) за консультации пациентов при назначении плазмы иммунной анти-COVID-19.

Список литературы/References

1. Максимович А.В., Потапнев М.П., Дунаев И.А., Гущина Л.М., Карпенко Ф.Н. Особенности цитокинового профиля и противовоспалительной активности in vitro плазмы иммунной анти-COVID-19 // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2023. № 2. С. 46–51. [Maksimovich A.V., Potapnev M.P., Dunayev I.A., Hushchina L.M., Karpenko F.N. Cytokine profile and anti-inflammatory activity in vitro of COVID-19 convalescent plasma. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology*, 2023, no. 2, pp. 46–51. (In Russ.)] doi: 10.14427/jipai.2023.2.46
2. Первакова М.Ю., Потапенко В.Г., Ткаченко О.Ю., Волчкова Е.В., Титова О.Н., Лапин С.В., Суркова Е.А., Блинова Т.В., Холопова И.В., Кузнецова Д.А., Мошникова А.Н., Мазинг А.В., Куликов А.Н., Полушин Ю.С., Афанасьев А.А., Шлык И.В., Гаврилова Е.Г., Климович А.В., Медведева Н.В., Эмануэль В.Л. Цитокиновые паттерны летальных гипервоспалительных состояний, индуцированных вторичным гемофагоцитарным синдромом, бактериальным сепсисом и COVID-19 // Иммунология. 2022. Т. 43, № 2. С. 174–187. [Pervakova M.Yu., Potapenko V.G., Tkachenko O.Yu., Volchkova E.V., Titova O.N., Lapin S.V., Surkova E.A., Blinova T.V., Kholopova I.V., Kuznetsova D.A., Moshnikova A.N., Mazing A.V., Kulikov A.N., Polushin Yu.S., Afanasyev A.A., Shlyk I.V., Gavrilova E.G., Klimovich A.V., Medvedeva N.V., Emanuel V.L. Cytokine patterns of fatal hyperinflammatory conditions, caused by secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis, bacterial sepsis and COVID-19. *Immunologiya = Immunologiya*, 2022, vol. 43, no. 2, pp. 174–187. (In Russ.)] doi: 10.33029/0206-4952-2022-43-2-174-187
3. Потапнев М.П. Цитокиновый шторм. Причины и последствия // Иммунология. 2021. Т. 42, № 2. С. 175–188. [Potapnev M.P. Cytokine storm. Causes and consequences. *Immunologiya = Immunologiya*, 2021, vol. 42, no. 2, pp. 175–188. (In Russ.)] doi: 10.33029/0206-4952-2021-42-2-175-188
4. Acosta-Ampudia Y., Monsalve D.M., Rojas M., Rodriguez Y., Gallo J.E., Salazar-Uribe J.C., Santander M.J., Gala M.P., Zapata W., Zapata M.I., Manrique R., Pardo-Oviedo J.M., Camacho B., Ramfrez-Santana C., Anaya J.-M., the CP-COVID-19 group. COVID-19 convalescent plasma composition and immunological effects in severe patients. *J. Autoimmunity*, 2021, vol. 118: 102598. doi: 10.1016/j.jaut.2021.102598
5. Agarwal A., Mukherjee A., Kumar G., Chatterjee P., Bhatnagar T., Malhotra P. Convalescent plasma in the management of moderate covid-19 in adults in India: open label phase II multicentre randomised controlled trial (PLACID Trial). *BMJ*, 2020. doi: 10.1136/bmj.m3939
6. Bhandopadhyay P., D’Rozario R., Lahiri A., Sarif J., Paul S.R., Roy R., Maiti R., Chaudhuri K., Bagchi S., Maiti A., Perwez M.M., Sarkar B.S., Roy D., Chakraborty R., Vasudevan J.S., Sharma S., Biswas D., Maiti C., Saha B., Bhattacharya P., Pandey R.,

- Chatterjee S., Paul S., Ganguly D. Nature and dimensions of systemic hyperinflammation and its attenuation by convalescent plasma in severe COVID-19. *J. Infect. Diseases*, 2021, vol. 224, no. 4, pp. 565–574. doi: 10.1093/infdis/jiab010
7. Bonny T.S., Patel E.U., Zhu X., Bloch E.M., Grabowski M.K., Abraham A.G., Littlefield K., Shrestha R., Benner S.E., Laeyendecker O., Shoham S., Sullivan D., Quinn T.C., Casadevall A., Pekosz A., Redd A.D., Tobian A.A.R. Cytokine and chemokine levels in coronavirus disease 2019 convalescent plasma. In: Open Forum Infectious Diseases. US: Oxford University Press, 2021, vol. 8, no. 2: ofaa574. doi: 10.1093/ofid/ofaa574
 8. Briggs N., Gormally M.V., Li F., Browning S.L., Treggiari M.M., Morrison A., Laurent-Rolle M., Deng Y., Hendrickson J.E., Tormey C.A., Desruisseaux M.S. Early but not late convalescent plasma is associated with better survival in moderate-to-severe COVID-19. *PLoS One*, 2021, vol. 16, no. 7: e0254453. doi: 10.1371/journal.pone.0254453
 9. Chavda V.P., Bezbaruah R., Dolia S., Shah N., Verma S., Savale S., Ray S. Convalescent plasma (hyperimmune immunoglobulin) for COVID-19 management: an update. *Process. Biochemistry*, 2023, vol. 127, pp. 66–81. doi: 10.1016/j.procbio.2023.01.018
 10. Hakim S.M., Chikhouni G.M.A., Ammar M.A., Amer A.M. Effect of convalescent plasma transfusion on outcome of coronavirus disease 2019: a meta-analysis with trial sequential analysis. *J. Anesthesia*, 2023, pp. 1–14. doi: 10.1007/s00540-023-03171-x
 11. Kandula U.R., Tuji T.S., Gudeta D.B., Bulbula K.L., Mohammad A.A., Wari K.D., Abbas A. Effectiveness of COVID-19 convalescent plasma (CCP) during the pandemic era: a literature review. *J. Blood Med.*, 2023, vol. 14, pp. 159–187. doi: 10.2147/JBM.S397722
 12. Pouladzadeh M., Safdarian M., Eshghi P., Abolghasemi H., Ghorbanibavani A., Sheibani B., Choghakabodi P.M., Fegghi A., Boroujerdnia M.G., Forouzan A., Far M.A.J., Kaydani G.A., Rajaei E., Amin M., Torabizadeh M., Yousefi F., Hadaddezfuli R. A randomized clinical trial evaluating the immunomodulatory effect of convalescent plasma on COVID-19-related cytokine storm. *Intern. Emerg. Med.*, 2021, vol. 16, pp. 2181–2191. doi: 10.1007/s11739-021-02734-8
 13. Rabaan A.A., Al-Ahmed S.H., Muhammad J., Khan A., Sule A.A., Tirupathi R., Mutair A.A., Alhumaid S., Al-Omari A., Dhawan M., Tiwari R. Sharun K., Mohapatra R.K., Mitra S., Bilal M., Alyami S.A., Emran T.B., Moni M.A., Dhama K. Role of inflammatory cytokines in COVID-19 patients: a review on molecular mechanisms, immune functions, immunopathology and immunomodulatory drugs to counter cytokine storm. *Vaccines*, 2021, vol. 9: 436. doi: 10.3390/vaccines9050436
 14. Royas M., Rodriguez Y., Monsalve D.M., Acosta-Ampudia Y., Camacho B., Gallo J.E., Royas-Villarraga A., Ramirez-Santana C., Diaz-Coronado J.C., Manrique R., Mantilla R.D., Shoenfeld Y., Anaya J.-M. Convalescent plasma in Covid-19: possible mechanisms of action. *Autoimmun. Rev.*, 2020, vol. 19: 102554. doi: 10.1016/j.autrev.2020.102554
 15. Simonovich V.A., Burgos Prax L.D., Scibona P., Beruto M.V., Vallone M.G., Vázquez C., Savoy N., Giunta D.H., Pérez L.G., Sánchez M.L., Gamarnik A.V., Ojeda D.S., Santoro D.M., Camino P.J., Antelo S., Rainero K., Vidiella G.P., Miyazaki E.A., Cornistin W., Trabadelo O.A., Ross F.M., Spotti M., Funtowicz G., Scordo W.E., Losso M.H., Ferniot I., Pardo P.E., Rodriguez E., Rucci P., Pasquali P., Fuentes N.A., Esperatti M., Speroni G.A., Nannini E.C., Matteaccio A., Michelangelo H.G., Follmann D., Lane H.C., Belloso W.H., for the PlasmAr Study Group. A randomized trial of convalescent plasma in COVID-19 severe pneumonia. *N. Engl. J. Med.*, 2021, vol. 384, no. 7, pp. 619–629. doi: 10.1056/NEJMoa2031304

Авторы:

Потапнев М.П., д.м.н., профессор, зав. отделом клеточных биотехнологий Республиканского научно-практического центра трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Минск, Республика Беларусь;

Максимович А.В., младший научный сотрудник лаборатории биологии и генетики стволовых клеток Республиканского научно-практического центра трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Минск, Республика Беларусь;

Дунаев И.А., к.м.н., врач-трансфузиолог Республиканского научно-практического центра трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Минск, Республика Беларусь;

Гущина Л.М., зам. директора по трансфузиологии Республиканского научно-практического центра трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Минск, Республика Беларусь;

Карпенко Ф.Н., к.м.н., директор Республиканского научно-практического центра трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Минск, Республика Беларусь.

Authors:

Potapnev M.P., DSc (Medicine), Professor, Head the Department of Cellular Biotechnologies, Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies, Minsk, Republic of Belarus;

Maksimovich A.V., Junior Researcher, Laboratory of Biology and Genetics of Stem Cells, Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies, Minsk, Republic of Belarus;

Dunayev I.A., PhD (Medicine), Transfusiology, Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies, Minsk, Republic of Belarus;

Hushchina L.M., Deputy Director for Transfusiology, Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies, Minsk, Republic of Belarus;

Karpenko F.N., PhD (Medicine), Director, Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies, Minsk, Republic of Belarus.

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

Андрюшин А.Е.	79	Логонов И.А.	37	Чирсков П.Р.	173
Ащина Л.А.	185	Лозовский Ю.В.	57	Чумачкова Е.А.	9
Бакштановская И.В.	71	Лукина Г.В.	103	Шалепо К.В.	46
Балацкая Н.В.	79	Лысакова Е.В.	178	Шаршов К.А.	134
Баранова Н.И.	185	Любовцева Л.А.	143	Шестопалов А.М.	134
Батожаргалова Б.Ц.	103	Максимович А.В.	190	Шилова Л.Д.	9
Беспалова О.Н.	46	Минаева С.В.	88	Шмитько А.Д.	103
Бишева И.В.	103	Муртазалиева Д.А.	103	Шелканова Е.Ю.	57
Благовидов Д.А.	103	Мякошина Е.Б.	79	Шербакова С.А.	9
Болгова А.И.	185	Новицкая И.В.	173	Ярулина С.А.	9
Будилковская О.В.	46	Озерова А.Н.	71	Afsahi A.M.	112
Бузицкая Ж.В.	134	Попкова М.И.	88	Afzalian A.	112
Буй Л.А.Т.	173	Поспелов М.В.	9	Ali Z.	112
Гапон М.Н.	37	Потапнев М.П.	190	Alikarami S.	112
Гапон Э.А.	37	Рыбальченко Д.А.	57	Amirkhani S.	152
Гималдинова Н.Е.	143	Рыбцов С.А.	178	Badiee Z.	152
Григорьева С.А.	71	Саакян С.В.	79	Bagheri F.	152
Гущина Л.М.	190	Савичева А.М.	46	Belaide K.	168
Дмитриева Л.Н.	9	Сароян Т.А.	134	Benaklef N.	168
Дунаев И.А.	190	Сахаров Н.А.	88	Boskabadi H.	152
Еноктаева О.В.	19	Светлова Е.В.	79	Dadjou A.	112
Ерофеева М.К.	134	Свирина И.В.	79	Eslami S.	112
Захарова И.Б.	173	Сергеев А.В.	143	Habibi M.A.	112
Зиминова А.А.	9	Серебряная Н.Б.	27	Hackett D.	112
Зубова А.А.	9	Смирнова Н.И.	57	Hanna H.W.Z.	125
Иванова А.В.	9	Соломатина М.В.	134	Mahrokhi S.	112
Иванова Е.А.	37	Степанова К.Б.	71	Matini P.	112
Кальгина Г.А.	71	Степанова Т.Ф.	71	Mehraeen E.	112
Кантария А.В.	37	Сторожева К.В.	46	Mirzapour P.	112
Карпенко Ф.Н.	190	Стукова М.А.	134	Molla A.	112
Касьян Ж.А.	9	Сходова С.А.	103	Nayeri M.	152
Копылова А.А.	46	Тагиров З.Т.	37	Paranjkhoo P.	112
Костинов М.П.	103	Тапильская Н.И.	46	Parikhani S.N.	112
Краснов Я.М.	57	Твердохлебова Т.И.	37	Pashaei A.	112
Крысанова А.А.	46	Терешко Д.Л.	173	Samy L.A.	125
Кулиева О.А.	185	Томсон Ш.	173	Seba D.	168
Куликова И.Г.	79	Тошаков В.Ю.	178	Sevgi E.	161
Курбатова Е.А.	103	Уткин О.В.	88	SeyedAlinaghi S.	112
Курлаева Л.В.	71	Федоров А.В.	57	Shahin R.M.H.	125
Курская О.Г.	134	Филатова Е.Н.	88	Sinem A.	161
Кутырев В.В.	17, 57	Хостелиди С.Н.	27	Vahedi F.	112
Лиознов Д.А.	134	Хуснутдинова Т.А.	46	Zakerihamidi M.	152

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

адаптивный иммунитет	71	мелиоидоз	173	чума	9
антитела	173	местная неспецифическая		эндометрий	46
артериальная гипертония	71	резистентность	37	эпидемиологическая эффективность	
бактерии	178	метотрексат	103	вакцин	134
балансы цитокинов	190	микобактерии	143	эффлюксные белки ABC и MFS	19
беременность	37	микробиота	46	AIDS	112
бесплодие	46	микробиота толстой кишки мышей	37	Algeria	168
вакцина	27	морфологические изменения тканей	37	bacteria	152
вакцинация	134	НСТ-тест	103	BATS	168
вариабельность генома	57	обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия	9	biofilm	161
вирусы группы герпеса	79	особо опасные инфекционные болезни	9	<i>Burkholderia pseudomallei</i>	173
ВИЧ-инфекция	88	оценка риска завоза	9	<i>Candida</i>	19
врожденный иммунитет	71	патогенность	57	<i>Candida spp.</i>	27
выздоровление	185	пациенты	190	CD4-лимфоциты	143
ВЭБ-1	88	ПКВ13	103	CD8-лимфоциты	143
ВЭБ-2	88	плазма иммунная анти-COVID-19	190	COVID-19	185, 190
генетические полиморфизмы	71	поверхностный кандидоз	27	cytokines	112
геномный надзор	57, 173	показатели иммунной системы	71	fungi	161
грипп	134	полиморфизмы	185	HBV	125
детекция патогенов	178	продукция цитокинов	178	HCV	125
дефензины	46	проспективное когортное исследование	134	HIV	112, 125
иммунорегуляторный индекс	143	противогрибковая вакцина	27	HIV infection	112
иммуноterapia	27	ПЦР	79, 88, 185	infection	112
инвазивный микоз	27	ревматоидный артрит	103	influenza A	168
ингибиторы Toll-подобных рецепторов	178	РНГА	173	invasive fungal infections	161
индекс эффективности	134	секвенирование	88	LMP-1	88
Индо-Западно-Тихоокеанский регион ВОЗ	9	смертельный исход	185	mean platelet volume (MPV)	152
исход заболевания	190	субпопуляции лимфоцитов	79	neonates	152
кандидоз	27	типирование на основе WGS	173	neuropathological disorder	112
катехоламины	143	ткань опухоли	79	optimization	161
коллоидное наносеребро	37	тофацитиниб	103	platelet distribution width (PDW)	152
комбинаторный стресс	19	трансформирующий фактор роста	46	platelets	152
копрофильтраты	37	туберкулема	143	prediction	168
коэффициент эффективности	134	тучные клетки	143	pre-operative testing	125
кровь	79	увальная меланома	79	risk management	168
лекарственная резистентность	19	фагоцитная активность лейкоцитов	103	SARS-CoV-2	134
лекарственная устойчивость	57	фагоцитная активность лейкоцитов	178	screening cost	125
лихорадка денге	9	филогения	57	sepsis	152
ЛПС	178	хронический описторхоз	71	time series	168
макрофаги	143	цинк-кластерные факторы транскрипции TAC1 и MRR1	19	Toll-подобные рецепторы	185
малярия	9	цитокины	46, 190	<i>Trichosporon asahii</i>	161
медиатор экологического стресса	19			Türkiye	161
				<i>V. cholerae</i>	57
				viral infections	125

Иллюстрация к статье «Иммунотерапия инфекций, вызванных *Candida* spp.: миф или реальность?» (авторы: С.Н. Хостелиди, Н.Б. Серебряная) (с. 27–36)
 Illustration for the article “Immunotherapy of *Candida* spp.-caused infections: myth or reality?” (authors: Khostelidi S.N., Serebryanaya N.B.) (pp. 27–36)

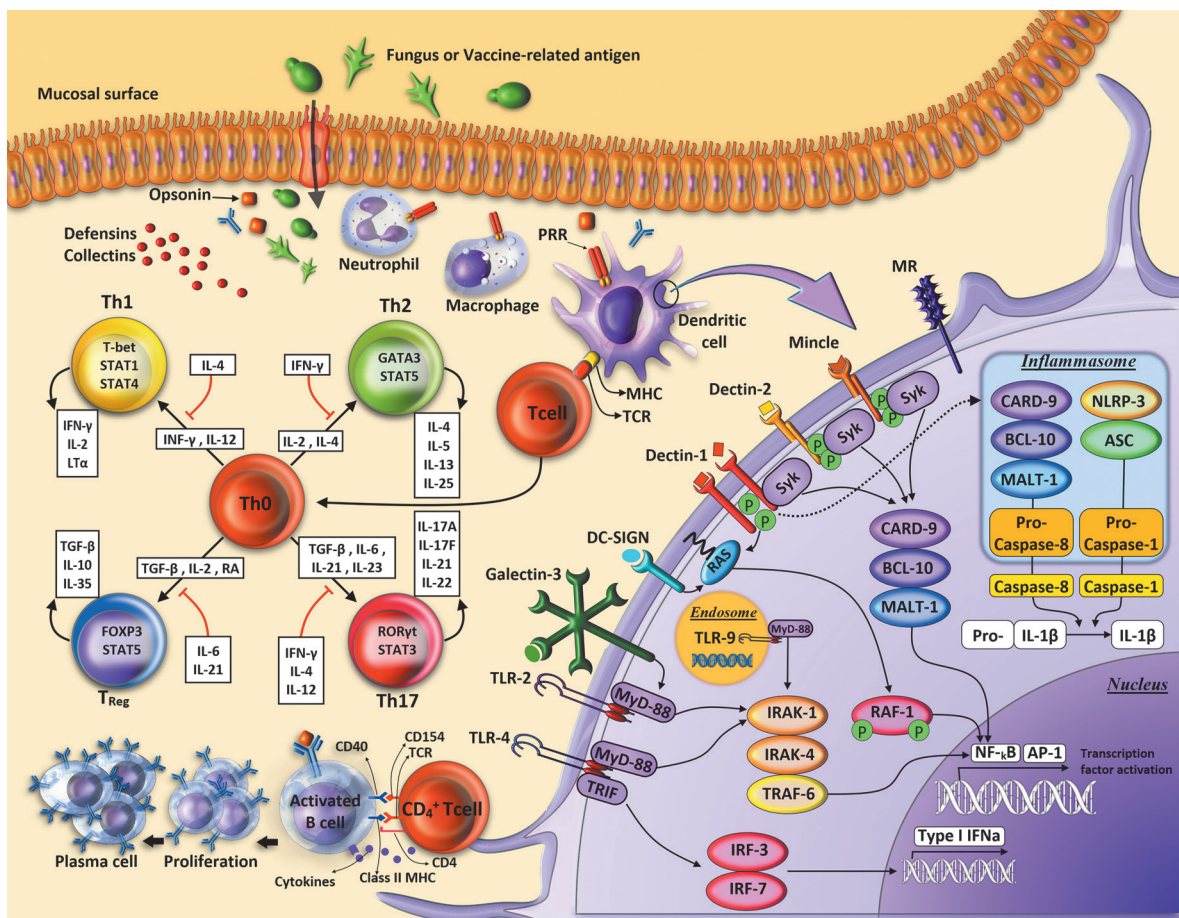


Рисунок 1. Иммунные реакции, индуцированные антигенами *Candida*. Адаптировано из [36]

Figure 1. Immune responses induced by *Candida* antigens. Adapted from [36]

Комментарий. Первая линия защиты от *Candida* представлена эпителиальным барьером. Эпителиальные клетки продуцируют антимикробные пептиды, которые ограничивают рост *Candida*. Количество продуцирующихся антимикробных пептидов зависит от IL-17 и IL-22, которые производятся Т-хелперами 17 (TH17). В случае повреждения эпителиального барьера происходит взаимодействие антигенов (PAMP) грибов с PRR (TLR, дектинов, галектина-3, маннозных рецепторов, DC-SIGN и Mincle) дендритных клеток, что приводит к созреванию ДК. Зрелые ДК презентуют антигены наивным CD4⁺ Т-клеткам с помощью молекул МНС II класса при костимуляции через CD40-CD40L (CD154). ДК вырабатывают цитокины, которые определяют формирование определенных субпопуляций Т-клеток. Например, IL-23, IL-6 и TGF-β запускают формирование Th17, которые продуцируют IL-17 и IL-21, и являются основными участниками воспалительной реакции. Активированные CD4⁺ Т-клетки взаимодействуют с В-клетками, которые реагируют на белковые антигены в процессе Т-зависимого иммунного ответа. В результате Т-зависимого ответа В-клетки продуцируют антитела различных изоформ, обладающие высокой аффинностью и длительным периодом полураспада. Ответ В-клеток на небелковые антигены (полисахариды, липиды, гликолипиды, нуклеиновые кислоты) происходит без участия Т-клеток (Т-независимый ответ), в ходе которого не формируется иммунологическая память, нет вторичного ответа и вырабатываются антитела только изоформы IgM с низкой аффинностью и коротким периодом полураспада. Исследования по разработке вакцин к *Candida* (субъединичных и конъюгированных) направлены на развитие Т-зависимого иммунного ответа за счет связывания полисахаридов грибов с различными белками-носителями.

Comments. Epithelial barrier builds up the first line defense against *Candida*. Epithelial cells produce antimicrobial peptides restraining *Candida* growth. The level of antimicrobial peptide production depends on T helper 17 (TH17) cell-released IL-17 and IL-22. When the epithelial barrier becomes damaged, fungal antigens (PAMPs) interact with dendritic cell (DC) PRRs (TLRs, dectins, galectin-3, mannose receptors, DC-SIGN and Mincle) followed by DC maturation promoting antigen presentation to activate naive CD4⁺ T cells via MHC class II molecules and costimulatory CD40-CD40L (CD154). DCs produce cytokines that control formation of specific T cell subsets. For example, IL-23, IL-6, and TGF-β skew towards Th17 (signature cytokines: IL-17 and IL-21) mainly involved in inflammatory response. Activated CD4⁺ T cells interact with B cells to elicit production of antibodies of various isotypes with high affinity and long half-life. B cell response to non-protein antigens (polysaccharides, lipids, glycolipids, nucleic acids) occurs without T cell help (T-independent response) not resulting in emerging immunological memory and, subsequently, no secondary response, featured solely with low affinity short half-life IgM antibodies. Research into development of *Candida* (subunit and conjugate) vaccines is aimed at developing a T-dependent immune response by binding fungal polysaccharides to various carrier proteins.

Иллюстрации к статье «Оценка медико-биологических параметров у беременных мышей при пероральном приеме коммерческих препаратов наносеребра» (авторы: М.Н. Гапон, Е.А. Иванова, Т.И. Твердохлебова, А.В. Кантария, З.Т. Тагиров, И.А. Логинов, Э.А. Гапон) (с. 37–45)

Illustrations for the article “Biomedical parameters assessed in pregnant mice receiving oral commercial nanosilver preparations” (authors: Gapon M.N., Ivanova E.A., Tverdokhlebova T.I., Kantaria A.V., Tagirov Z.T., Loginov I.A., Gapon E.A.) (pp. 37–45)

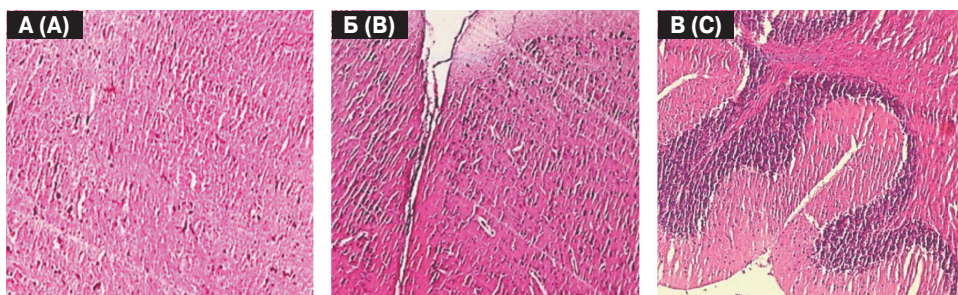


Рисунок 2. Препарат ткани мозга самок мышей до (А) и после приема препаратов «Витаргол» (Б) и «Аджента» (В)

Figure 2. Brain histology in female mice before (a) and after “Vitargol” (B) and “Adzhenta” (C) intake

Примечание. Микроскоп «LEICA DFC 295» (Окуляр HC Plan ×10/20. Объектив HI-Plan ×10/0,25).

Note. Microscope “LEICA DFC 295” (Ocular HC Plan ×10/20. Objective HI-Plan ×10/0.25).

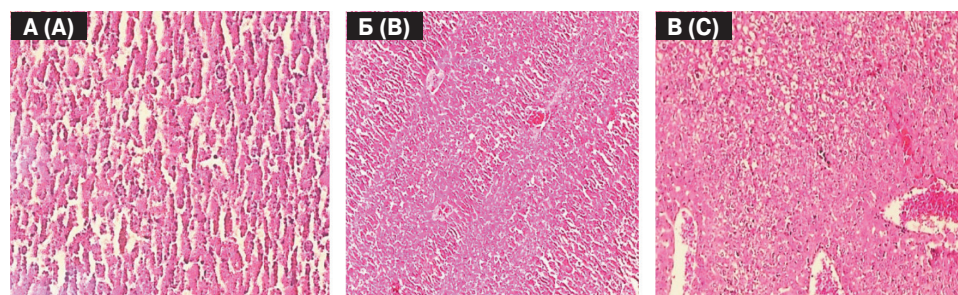


Рисунок 3. Препарат ткани печени самок мышей до (А) и после приема препаратов «Витаргол» (Б) и «Аджента» (В)

Figure 3. Liver histology in female mice before (a) and after “Vitargol” (B) and “Adzhenta” (C) intake

Примечание. Микроскоп «LEICA DFC 295» (Окуляр HC Plan ×10/20. Объектив HI-Plan ×10 /0,25).

Note. Microscope “LEICA DFC 295” (Ocular HC Plan ×10/20. Objective HI-Plan ×10 /0.25).

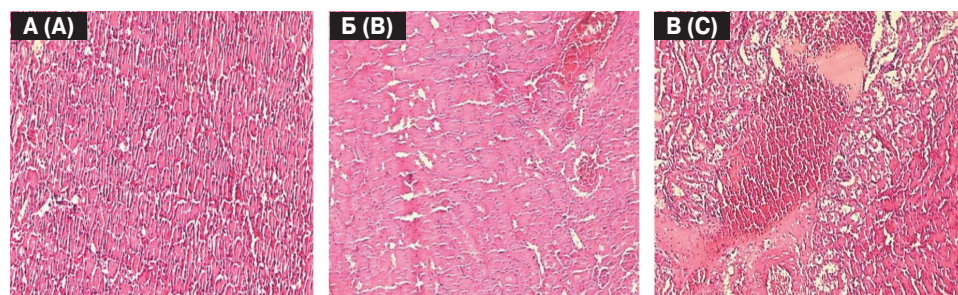


Рисунок 4. Препарат ткани почки самок мышей до (А) и после приема препаратов «Витаргол» (Б) и «Аджента» (В)

Figure 4. Kidney histology in female mice before (a) and after “Vitargol” (B) and “Adzhenta” (C) intake

Примечание. Микроскоп «LEICA DFC 295» (Окуляр HC Plan ×10/20. Объектив HI-Plan ×10 /0,25).

Note. Microscope “LEICA DFC 295” (Ocular HC Plan ×10/20. Objective HI-Plan ×10 /0.25).

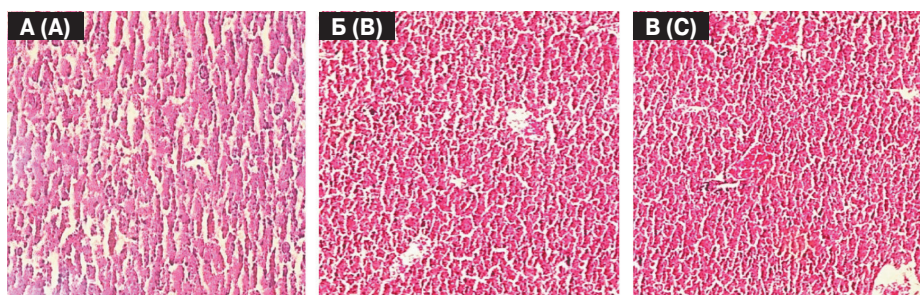


Рисунок 5. Препарат ткани печени молодежи мышей до (А) и после приема препаратов «Витаргол» (Б) и «Аджента» (В)

Figure 5. Liver histology in female in mouse offspring before (a) and after “Vitargol” (B) and “Adzhenta” (C) intake

Примечание. Микроскоп «LEICA DFC 295» (Окуляр HC Plan ×10/20. Объектив HI-Plan ×10 /0,25).

Note. Microscope “LEICA DFC 295” (Ocular HC Plan ×10/20. Objective HI-Plan ×10 /0.25).

Подписной индекс:
Урал-Пресс – 41392

