Том 15, № 3. С. 401–600
2025
ISSN 2220-7619 (print)
ISSN 2313-7398 (online)

ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ

Данный выпуск реализован при финансовой поддержке Правительства Санкт-Петербурга

Иллюстрации к статье «Молекулярная характеристика генов *pga* типа A–D среди полирезистентных штаммов *Acinetobacter baumannii*» (авторы: М.С. Суприта, К. Канника Парамешвар, А.С. Смилине Гириджа, Дж. Виджаяшри Приядхарсини) (с. 536–542)

Illustrations for the article “Molecular characterization of *pga* gene types A–D among multi-drug resistant strains of *Acinetobacter baumannii*” (authors: Supreeta M.S., Kannika Parameshwari K., Smiline Girija A.S., Vijayashree Priyadharsini J.) (pp. 536–542)

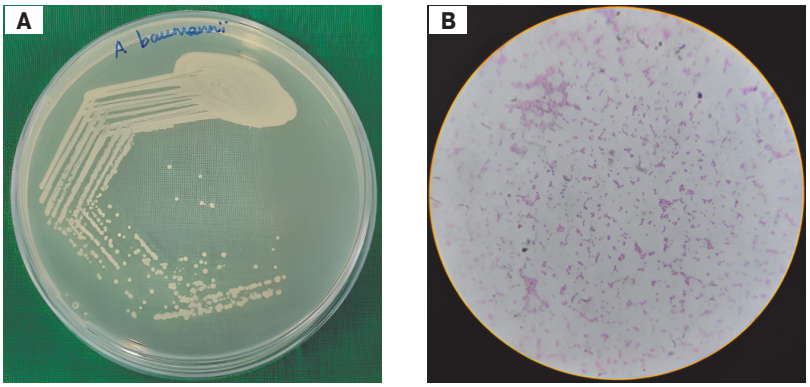


Figure 1. Isolation and identification of *A. baumannii* from the respiratory samples of the patients with VAP
Note. A. Typical *A. baumannii* colonies on the nutrient agar plate. B. Gram staining showing the typical gram negative coccobacillary forms

Иллюстрация к статье «Взаимодействия между вирусными и бактериальными патогенами в развитии инфекций: обзор с акцентом на вирус простого герпеса» (авторы: М.Х. Калантар Нейестанаки, А. Мехдипур) (с. 465–475)

Illustration for the article “The interaction between viral and bacterial infections: a comprehensive review focusing on Herpes Simplex Virus (HSV)” (authors: Kalantar Neyestanaki M.H., Mehdipour A.) (pp. 465–475)

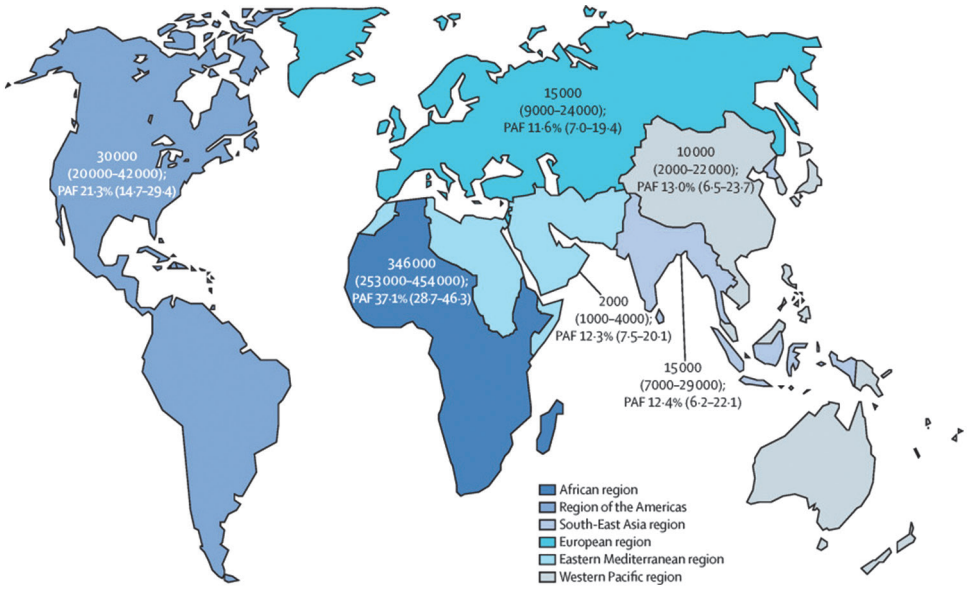


Figure 1. The global prevalence of HSV-2 across different geographic regions [24]

СЕВЕРО-ЗАПАДНОЕ ОТДЕЛЕНИЕ МЕДИЦИНСКИХ НАУК
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМЕНИ ПАСТЕРА
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОЕ РЕГИОНАЛЬНОЕ ОТДЕЛЕНИЕ РОССИЙСКОЙ АССОЦИАЦИИ АЛЛЕРГОЛОГОВ И КЛИНИЧЕСКИХ ИММУНОЛОГОВ (СПб РО РААКИ)

ИНФЕКЦИЯ И ИММУНИТЕТ

май–июнь
2025, том 15 **№ 3**

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

Главный редактор

Тотолян 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., ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной вирусологии Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
Лобзин Ю.В. д.м.н., профессор, академик РАН, президент ФГБУ Федеральный 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 Ангелоффа, 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 27.06.2025 г. Формат 60 x 90 1/8.
Печать офсетная. Усл.-печ. л. 25.
Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.).
Заказ № 1124

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

NORTH-WEST REGIONAL BRANCH OF MEDICAL SCIENCES
SAINT PETERSBURG PASTEUR INSTITUTE
RUSSIAN ASSOCIATION OF ALLERGOLOGISTS AND CLINICAL IMMUNOLOGISTS,
ST. PETERSBURG REGIONAL BRANCH (SPb RAACI)

Russian Journal of Infection and Immunity

(Infektsiya i immunitet)

May–June

2025, volume 15 **No. 3**

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 Neurodeneration, Montevideo, Uruguay

Paul Brey — PhD, Professor, Institute 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, Leading Researcher, Laboratory of Experimental Virology, St. Petersburg, Russian Federation

Yuri V. Lobzin — DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Federal Research and Clinical Center for Infectious Diseases, President, 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, Institute Stephan Angeloff; Head of the Department of Infectious Microbiology, Sofia, Bulgaria

Gennadiy G. Onishchenko — DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Deputy President of the Russian Academy of Education, Moscow, Russian Federation

Vadim V. Pokrovskiy — DSc (Medicine), Professor, RAS Full Member, Central Research Institute of Epidemiology, Head of the Federal AIDS Center, Moscow, Russian Federation

Angela Santoni — PhD, Professor, Institut Pasteur in Italy — Cenci Bolognetti Foundation, Scientific Director; Full Professor of Immunology and Immunopathology, Department of Molecular Medicine, Sapienza University of Rome, Rome, Italy

Andrei S. Simbirtsev — DSc (Medicine), Professor, RAS Corresponding Member, St. Petersburg Institute of Pure Biochemicals, Scientific Director, St. Petersburg, Russian Federation

Valery A. Chereshnev — 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

Ilja 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-rewieded scientific journals intended for publication of key research results of MD Theses, as reccomended by the Higher Attestation Comission 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, Staroobryadcheskaya str., 22, build. B, suite 1-H, off. 4.
Phone/fax: +7 (812) 388-90-00.

Passed for printing 27.06.2025. 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

Лекции

Кубарь О.И.

ЭТИЧЕСКИЙ БАЛАНС КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В РАЗЛИЧНЫХ СОЦИАЛЬНО-ЭКОНОМИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ ИХ ПРОВЕДЕНИЯ 409

Обзоры

Талаев В.Ю., Бабайкина О.Н., Светлова М.В., Заиченко И.Е., Куркова Е.В.

ТКАНЕВЫЕ РЕЗИДЕНТНЫЕ CD8$^+$ Т-КЛЕТКИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ И ИХ РОЛЬ В ИММУННОМ ОТВЕТЕ НА ИНФЕКЦИЮ И ВАКЦИНАЦИЮ 415

Кондратьева Т.К., Кондратьева Е.В., Апт А.С.

РАННИЕ ФАЗЫ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ: ИММУННЫЙ ОТВЕТ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ХОЗЯИНА 431

Лысакова Е.В., Бурак М.Ю., Навроцкий М.Б., Рыбцов С.А.

ВЛИЯНИЕ ВИРУСОВ И РЕТРОТРАНСПОЗОНОВ НА ГЕНЕТИЧЕСКУЮ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ И СТАРЕНИЕ ОРГАНИЗМА 446

Калантар Нейестанаки М.Х., Мехдипур А.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ ВИРУСНЫМИ И БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ПАТОГЕНАМИ В РАЗВИТИИ ИНФЕКЦИЙ: ОБЗОР С АКЦЕНТОМ НА ВИРУС ПРОСТОГО ГЕРПЕСА 465

Оригинальные статьи

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

ПЕРВЫЕ ДАННЫЕ О МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОМ РАЗНООБРАЗИИ ВГЧ6В И ЕГО ВЛИЯНИИ НА КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЕ ТЕЧЕНИЕ МОНОНУКЛЕОЗОПОДОБНОГО СИНДРОМА У ДЕТЕЙ 476

Калашникова А.А., Бычкова Н.В., Ракитянская И.А.

ТРОГОЦИТОЗ АДАПТИВНЫМИ NK-КЛЕТКАМИ ФРАГМЕНТОВ МЕМБРАН В-ЛИМФОЦИТОВ ПРИ АКТИВАЦИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ВЭБ-ИНФЕКЦИИ ПРИВОДИТ К ЭКСПРЕССИИ CD19 НА NK 489

Зубова К.В., Кузнецова В.А., Каневский М.В., Кондратенко О.В., Глинская Е.В., Нечаева О.В., Афиногенова А.Г.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ БАКТЕРИЙ СЕМЕЙСТВА *WEEKSELLACEAE* 505

Попова А.Ю., Горбунова А.Ю., Останкова Ю.В., Егорова С.А., Рейнгардт Д.Э., Иванова А.Р., Щемелев А.Н., Дрозд И.В., Жимбаева О.Б., Данилова Е.М., Миличкина А.М., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Башкетова Н.С., Буц Л.В., Тотолян А.А.

ОЦЕНКА ПОПУЛЯЦИОННОГО ИММУНИТЕТА К ВИРУСУ ГЕПАТИТА Е У НАСЕЛЕНИЯ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА И ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ 517

Арсентьева Н.А., Елезов Д.С., Кудрявцев И.В., Коробова З.Р., Тотолян А.А.

СУБПОПУЛЯЦИИ CXCR3$^+$ В-КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ С 529

Суприта М.С., Канника Парамешвар К., Смилине Гириджа А.С., Виджаяшри Приядхарсини Дж.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОВ *PGA* ТИПА A–D СРЕДИ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ *ACINETOBACTER BAUMANNII* 536

Петров С.А., Суховей Ю.Г., Каленова Л.Ф., Костоломова Е.Г., Касторнов А.А.

РЕГУЛЯЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА МЕТАБОЛИТАМИ МИКРООРГАНИЗМОВ МНОГОЛЕТНЕМЕРЗЛЫХ ПОРОД ЧЕРЕЗ ЭФФЕКТОРНЫЕ Т-ЛИМФОЦИТЫ 543

Самади К., АждариМогаддам Е., Зераати Аб.А., Хатиби С.А.Ак., Зераати Т., Раваншад Я., Джаламбадани З.

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ВК-ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С ДИСФУНКЦИЕЙ ТРАНСПЛАНТАТА ПОЧКИ 551

Широбокова С.А., Шабалина А.В., Сухих И.С., Шайеб В.А., Долгова А.С., Дедков В.Г.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ОТ-ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ВИРУСОВ ХЕНДРА И НИПАХ **559**

Краткие сообщения

Кравцов А.Л., Клюева С.Н., Кожевников В.А., Бугоркова С.А.

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ФРАГМЕНТОВ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК В КРОВИ РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ С ПОСТКОВИДНЫМ СИНДРОМОМ МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОФЛУОРИМЕТРИИ **568**

Монахова Е.В., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Гаевская Н.Е.

НЕТОКСИГЕННЫЕ ШТАММЫ *VIBRIO CHOLERAE* O1, ВЫЗВАВШИЕ ГАСТРОЭНТЕРОКОЛИТЫ В ЗАПОРОЖСКОЙ И ХЕРСОНСКОЙ ОБЛАСТЯХ: ОПИСАНИЕ СЛУЧАЕВ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ **575**

Малышева И.Е., Балан О.В., Тихонович Э.Л.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ *FOXO1, FOXO3* И *BECN1* В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ТЕЧЕНИИ САРКОИДОЗА ЛЕГКИХ **582**

Хедаяти Ф., Лотфи С., Эбрахими П., Яваниан М., Баяни Ф., Дарбанди З., Баяни М.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПОВЕРХНОСТНОГО АНТИГЕНА ГЕПАТИТА В У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН ДО И ПОСЛЕ СТАРТА НАЦИОНАЛЬНЫХ ПРОГРАММ ВАКЦИНАЦИЙ **587**

В помощь практическому врачу

Альпидовская О.В.

РЕДКИЙ СЛУЧАЙ КРИПТОКОККОЗА ЛЕГКИХ У ПАЦИЕНТА С СИНДРОМОМ ВИСКОТТА–ОЛДРИЧА НА ФОНЕ ЗАРАЖЕНИЯ ШТАММОМ FLiRT **592**

Правила для авторов **597**

Авторский указатель **600**

Предметный указатель **600**

CONTENTS

Lections

Kubar O.I.
ETHICAL BALANCE OF CLINICAL TRIALS IN DIFFERENT SOCIO-ECONOMIC CONDITIONS OF THEIR IMPLEMENTATION 409

Reviews

Talayev V.Yu., Babaykina O.N., Svetlova M.V., Zaichenko I.Ye., Kurkova E.V.
TISSUE-RESIDENT MEMORY CD8$^+$ T CELLS AND THEIR ROLE IN THE IMMUNE RESPONSE TO INFECTION AND VACCINATION 415

Kondratieva T.K., Kondratieva E.V., Apt A.S.
EARLY PHASES OF TUBERCULOSIS INFECTION: IMMUNE RESPONSE AND HOST GENETIC CONTROL 431

Lysakova E.V., Burak M.Yu., Navrotsky M.B., Rybtsov S.A.
IMPACT OF VIRUSES AND RETROTRANSPOSONS ON GENETIC INSTABILITY AND AGING 446

Kalantar Neyestanaki M.H., Mehdipour A.
INTERACTIONS BETWEEN VIRAL AND BACTERIAL PATHOGENS IN INFECTION DEVELOPMENT: A REVIEW WITH AN EMPHASIS ON HERPES SIMPLEX VIRUS (HSV) 465

Original articles

Filatova E.N., Sakharnov N.A., Suslov N.A., Popkova M.I., Utkin O.V.
FIRST DATA ON THE MOLECULAR GENETIC DIVERSITY OF HHV6B AND ITS IMPACT ON THE CLINICAL AND LABORATORY COURSE OF MONONUCLEOSIS-LIKE SYNDROME IN CHILDREN 476

Kalashnikova A.A., Bychkova N.V., Rakityanskaya I.A.
ADAPTIVE NK CELLS ACQUIRE B-LYMPHOCYTE CD19 SURFACE MARKER VIA TROGOCYTOSIS DURING ACTIVATION OF CHRONIC EBV INFECTION 489

Zubova K.V., Kuznetsova V.A., Kanevsky M.V., Kondratenko O.V., Glinskaya E.V., Nechaeva O.V., Afinogenova A.G.
BIOLOGICAL PROPERTIES AND PATHOGENETIC POTENTIAL OF *WEEKSELLACEAE* FAMILY BACTERIA 505

Popova A.Yu., Gorbunova A.Yu., Ostankova Yu.V., Egorova S.A., Reingardt D.E., Ivanova A.R., Shchemelev A.N., Drozd I.V., Zhimbaeva O.B., Danilova E.M., Milichkina A.M., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Bashketova N.S., Buts L.V., Totolian A.A.
ASSESSMENT OF COLLECTIVE IMMUNITY TO HEPATITIS E VIRUS IN THE SAINT PETERSBURG AND LENINGRAD REGION 517

Arsentieva N.A., Elezov D.S., Kudryavtsev I.V., Korobova Z.R., Totolian A.A.
PERIPHERAL BLOOD B-CELLS AND CXCR3 EXPRESSION IN CHRONIC HEPATITIS C VIRUS INFECTION 529

Supreeta M.S., Kannika Parameshwari K., Smiline Girija A.S., Vijayashree Priyadharsini J.
MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *PGA* GENE TYPES A–D AMONG MULTI-DRUG RESISTANT STRAINS OF *ACINETOBACTER BAUMANNII* 536

Petrov S.A., Sukhovey Yu.G., Kalenova L.F., Kostolomova E.G., Kastornov A.A.
REGULATION OF IMMUNE RESPONSE BY PERMAFROST MICROORGANISM METABOLITES VIA EFFECTOR T-LYMPHOCYTES 543

Samadi K., AzhdaryMoghaddam Ye., Zeraati Ab.A., Khatibi S.A.Ak., Zeraati T., Ravanshad Ya., Jalambadani Z.
THE INCIDENCE OF BK VIRUS INFECTION IN PATIENTS WITH DYSFUNCTION OF KIDNEY TRANSPLANT 551

Shirobokova S.A., Shabalina A.V., Sukhikh I.S., Chayeb V.A., Dolgova A.S., Dedkov V.G.
DEVELOPMENT OF A REAL-TIME RT-PCR ASSAY FOR DETECTION OF HENDRA AND NIPAH VIRUSES 559

Short communications

Kravtsov A.L., Klyueva S.N., Kozhevnikov V.A., Bugorkova S.A.

FLOW CYTOMETRY FOR ASSESSING BLOOD EXTRACELLULAR DNA FRAGMENTS LEVEL IN WITH POST-COVID SYNDROME CONVALESCENT SUBJECTS **568**

Monakhova E.V., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Gaevskaya N.E.

NON-TOXIGENIC *VIBRIO CHOLERAE* O1 STRAINS THAT CAUSED GASTROENTEROCOLITIS IN THE ZAPORIZHIA AND KHERSON REGIONS: CASE REPORTS AND PATHOGEN MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS **575**

Malysheva I.E., Balan O.V., Tikhonovich E.L.

EXPRESSION OF *FOXO1, FOXO3* AND *BECN1* GENES IN PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTES IN CHRONIC COURSE OF PULMONARY SARCOIDOSIS **582**

Hedayati F., Lotfi S., Ebrahimi P., Javanian M., Bayani F., Darbandi Z., Bayani M.

HEPATITIS B SURFACE ANTIGEN PREVALENCE IN PREGNANT WOMEN BEFORE AND AFTER NATIONAL VACCINATIONS **587**

For the physicians

Alpidovskaya O.V.

A RARE CASE OF PULMONARY CRYPTOCOCCOSIS IN A PATIENT WITH WISKOTT–ALDRICH SYNDROME INFECTED WITH FLiRT COVID VARIANT **593**

Instructions to Authors **597**

Author index **600**

Subject index **600**

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 409–414

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 409–414

ЭТИЧЕСКИЙ БАЛАНС КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В РАЗЛИЧНЫХ СОЦИАЛЬНО-ЭКОНОМИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ ИХ ПРОВЕДЕНИЯ

О.И. Кубарь

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

Резюме. Современная концепция международных клинических исследований нормативно и этически достигла строгой регламентации и убедительно отражена в серии действующих законодательных актов глобального, регионального и национального уровня. Особый интерес в данной сфере представляют собой ситуации двойной лояльности в плане нравственной, финансовой и правовой градации исследований в странах с различным уровнем экономического и социального развития и приоритета по обладанию патента на разработку исследовательского препарата. С этих позиций новая картина современной геополитической карты участия РФ в международных исследованиях требует адаптации и пересмотра целого ряда смысловых характеристик. В первую очередь это касается принципиального изменения статуса РФ с региона проведения исследований зарубежных препаратов с целью их регистрации на позицию спонсора исследований отечественных препаратов в третьих странах, как правило, обладающих ограниченными экономическими и инфраструктурными ресурсами. Указанная метаморфоза не только значима по факту качественного перераспределения ролей, но, в связи с высокими темпами популяризации и реального наращивания объема подобных исследований, например, в странах Африки, диктует необходимость переосмысления всей системы административных и этических подходов к их проведению. В данной статье впервые обращено целевое внимание на фактор особой ответственности по изучению, принятию и регуляторному закреплению в РФ специфики этического кодекса спонсорских исследований в условиях их осуществления в регионах с ограниченными ресурсами. Эта задача сопряжена с введением в протокол разработки спонсорских исследований, как собственного отечественного опыта, так и накопленного международной практикой солидного правового и информационного багажа возможностей. Особый интерес данной работы заключается также в том, что она построена на непосредственной авторской вовлеченности в процесс формирования этического кодекса партнерства на основе принципов справедливости, уважения, заботы и честности в условиях неравных базовых ресурсов сторон исследований.

Ключевые слова: *ответственность в клинических исследованиях, этика партнерства, доверие, потеря этики клинических исследований, нравственный кодекс, справедливость, уважение, забота.*

Адрес для переписки:
Кубарь Ольга Иосифовна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 (812) 233-21-56.
E-mail: okubar@list.ru

Contacts:
Olga I. Kubar
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Тел.: +7 (812) 233-21-56.
E-mail: okubar@list.ru

Для цитирования:
Кубарь О.И. Этический баланс клинических исследований в различных социально-экономических условиях их проведения // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 409–414. doi: 10.15789/2220-7619-EBO-17826

Citation:
Kubar O.I. Ethical balance of clinical trials in different socio-economic conditions of their implementation // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 409–414. doi: 10.15789/2220-7619-EBO-17826

© Кубарь О.И., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-EBO-17826

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

ETHICAL BALANCE OF CLINICAL TRIALS IN DIFFERENT SOCIO-ECONOMIC CONDITIONS OF THEIR IMPLEMENTATION

Kubar O.I.

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

Abstract. The modern concept of international clinical trials (CT) has reached strict regulation in terms of norms and ethics and is convincingly reflected in a series of current legislative acts, at the global, regional and national levels. Of particular interest in this area are situations of dual loyalty related to moral, financial and legal gradation of research in countries with different levels in economic development and priorities for owning the investigational drug's patent. Based on this, the new picture of the modern Russia geopolitical map on participation in international research requires adapting and revisiting the series of semantic characteristics. First of all, this concerns a fundamental change in Russia's status that developed from a region for conducting research on foreign drugs to be further registered, to the position as the sponsor of research on domestic drugs in third countries, usually with limited economic and infrastructural resources. This metamorphosis is not only significant in terms of the qualitative redistribution of roles, but, in connection with the high rates of popularization and real increase in the volume of such research, for example, in Africa, it dictates a need to rethink the entire system of administrative and ethical approaches to their implementation. In this article, a targeted attention is first paid to the factor of special responsibility for the adoption and regulatory consolidation in the Russia the special ethical code for sponsor's research in the context of their implementation in regions with limited resources. This task is coupled to introducing domestic experience as well as deep legal and information baggage accumulated by international practice into the protocol for the development of sponsor research in the Russia. The specificity is also of special importance because this work consists of the direct authorial involvement in the process for establishing and forming partnership ethical code based on the principles of justice, respect, care and honesty in research with unequal resources.

Key words: *clinical trials responsibility, ethics of partnerships, trust, loss of clinical trials, code of ethics, fairness, respect, care.*

Введение

Современная концепция проведения клинических исследований (КИ) в Российской Федерации характеризуется системным переходом с доминирующего участия клинических баз страны в международных многоцентровых исследованиях зарубежных лекарственных средств на спонсорские исследования отечественных препаратов, как на национальном уровне, так и в других странах. Данные перемены обусловлены актуальными геополитическими причинами и реальной необходимостью достижения стратегической безопасности фармацевтического рынка страны. Динамика участия РФ в традиционных международных КИ с детальными количественными графиками для различных фармацевтических групп представлена в серии информационно-аналитических бюллетеней Ассоциации организаций по клиническим исследованиям [1]. Принципиальным моментом является факт общего снижения числа разрешений, выданных уполномоченными на то органами РФ на проведение всех видов КИ в первой половине 2024 г. до 251, что составило минимальный показатель, начиная с 2012 г., даже по сравнению с аналогичным периодом 2023 г. — 300 КИ. При этом число новых международных многоцентровых исследований составило в первом полугодии 2024 г. 8, что равно 3,1% российского рынка КИ в сравнении с 40% этого показателя в 2022 г.

Указанные тенденции со всей очевидностью стимулировали увеличение объема и расширение сферы отечественных разработок с развитием инфраструктуры их экспорта на международный рынок КИ третьих стран. В силу неопровержимой логики, основанной на уникальных возможностях рынка обращения лекарственных средств и целого ряда исторических и геополитических характеристик, одним из ведущих направлений становится развитие партнерства со странами Африки [5, 10, 12, 14]. Сложившаяся ситуация не входит в противоречие и в полной мере требует соблюдения всех действующих норм национального и международного регулирования исследовательского процесса [2, 6, 7, 8, 11, 21]. Однако, помимо традиционного регламента, продуктивное освоение данного направления в свою очередь неосуществимо без знания и учета всех существующих в данном регионе конфликтов для их потенциального и реального предотвращения и принятия на себя ответственности по достижению международных стандартов КИ. Комплекс вопросов включает существующее экономическое, инфраструктурное, социальное неравенство и значимые экологические и фармако-генетические различия, исторически ассоциируемые с исследованиями в странах Африки.

Указанные условия определили ведущую цель данной работы, заключающуюся в удовлетворении запроса профессиональных структур и общества на достоверную информацию о состоянии и перспективах проведения российских спонсорских КИ в странах Африки. Специальную задачу представляет собой решение проблемы компетентного интерпретирования связанных с этим этических вызовов и их преодоление.

Факторы инфраструктурной и этической уязвимости проведения спонсорских исследований в странах Африки

Африка представляет собой континент, состоящий из 55 стран с населением около 1,5 млрд человек, высоким бременем и диапазоном заболеваний инфекционного и неинфекционного спектра, дефицитом средств их лечения и профилактики в связи с неадекватным уровнем развития общественной системы здравоохранения [14]. Историческая и современная геополитика континента, сопряженная с негативными последствиями колонизации, определила очевидную экономическую и технологическую зависимость, ставшую причиной многих медико-социальных конфликтов. Нельзя обойти стороной существующие дискриминационные факторы, когда страны Африки становились площадками для КИ, вызывающих обеспокоенность по поводу соблюдения прав человека и отсутствия равных условий перспективного партнерства [22, 23, 28, 30]. Импорт фармацевтических и медицинских расходных материалов в Африке в настоящее время составляет более 80%. Более того, регион обеспечивает почти 25% мирового спроса на вакцины, но производит лишь 0,1% от мирового объема [14, 16].

Критическим проявлением этих проблем является диспропорциональный уровень HIV/AIDS и малярии среди населения Африки, где заболеваемость достигает 60 и 90% соответственно [33]. Актуальным показателем несостоятельности системы общественного здравоохранения континента также стала ситуация с пандемией COVID-19 [17, 19, 20, 24, 29].

В связи с этими фундаментальными чертами уязвимости и зависимости Африка закрепила за собой репутацию центра стратегических забот международных структур здравоохранения, таких как ВОЗ, и попала в сферу интересов двухсторонних гуманитарных акций отдельных государств, в том числе и РФ [5, 10, 12, 13, 33]. В последние годы отчетливо имеет место реализация созидательной политики региональных и глобальных структур в создании регуляторных агентств, системы этической экспертизы и реальной помощи странам Африки в планировании и проведении совместных научных исследований, разработки лекарственных средств, создания инфраструктуры и подготовки кадров [15, 26, 27].

Включение РФ в системный процесс сотрудничества со странами Африки приобрело стратегическое значение, убедительно отражено в протоколах международных документов и подкреплено практическими шагами развития партнерства в данной сфере [5, 13]. Однако объективное и динамическое вхождение РФ в актуальный список стран — спонсоров научных и клинических исследований в Африке имеет свои обязательства и связано с определенной ответственностью. Специального внимания заслуживает этическая составляющая спонсорских КИ, базирующаяся на универсальных критериях уважения к человеку, милосердия, справедливости, а также данных целевого проекта по формированию факторов доверия к подобным исследованиям на индивидуальном, общественном и государственном уровне [25, 32].

Этический спектр разрешения нравственного конфликта при проведении клинических исследований в условиях ограниченных ресурсов

Очевидно и исторически доказано, что партнерство в исследованиях между высокообеспеченными и малообеспеченными сообществами может иметь значительные преимущества для обеих сторон. Однако оно также может привести к потере этики в результате привнесения неэтичных элементов проведения исследований в малообеспеченных сообществах. Для исключения подобных ситуаций был разработан глобальный кодекс этики, как дополнение к стандарту добросовестной исследовательской и клинической практики в обстоятельствах, где имеет место значительный дисбаланс власти, ресурсов и знаний [18, 31].

Базисным условием соблюдения кодекса этики стало исключение практики двойных стандартов при проведении КИ, выполнение обязательств и строительство долгосрочных отношений между партнерами путем следования принципам справедливости, уважения, заботы и честности. Последовательное и детальное изложение структуры этих понятий представлено ниже.

Под справедливостью в формате проведения спонсорских КИ в странах с ограниченными ресурсами прежде всего следует понимать целесообразность и заинтересованность местного сообщества в таких исследованиях. Эти параметры не могут быть рассчитаны и представлены только спонсорской стороной, а должны определяться в сотрудничестве с местными партнерами. Следует четко различать и исключать исследования, не имеющие отношения к региону проведения, которые лишь налагают обязательства и трудности, но не несут ближайших и долгосрочных преимуществ местному сообществу.

К важным условиям сохранения статуса справедливого проведения КИ следует отнести обязательства по всесторонней вовлеченности местного сообщества в процесс участия и пользования результатами. Подобный формат отношений подразумевает реальный плюрализм, где может быть обеспечено достоверное отражение мнений и взглядов местных участников исследования от этапа планирования до анализа результатов исследования. Для формирования справедливого интеллектуального партнерства следует, по возможности, задействовать механизмы включения местных исследователей не только в выполнение самого КИ, но и в разработку дизайна исследования с сохранением прав интеллектуальной собственности и авторского права. Этическая значимость такого подхода заключена в специфике культур и традиционной духовной практики, знание и учет которых необходим для исключения потенциальных конфликтов и построения равноправного диалога при распределении выгод КИ между заинтересованными сторонами. При этом пристальное внимание должно быть отведено справедливому использованию биологических, материальных и культурных ресурсов только на основании предварительного добровольного, свободного информированного согласия их обладателей или хранителей. Относительно целостности оценки результатов исследования необходимо еще до начала формирования идеи КИ признать обязательства по открытости и доступности всех выгод и преимуществ на локальном и национальном уровне.

С позиции принципов уважения и заботы акценты должны быть расставлены на соблюдение добровольности и согласия не только конкретного участника планируемого КИ, но и местного сообщества, если такое предусмотрено традициями и обычаями. Достижение этого условия возможно путем вовлечения представителей сообщества в процесс работы локального комитета по этике и обязательности осуществления этической экспертизы на местном уровне. Другим гарантом уважения/заботы служит четкое понимание специфики процедуры получения информированного согласия с учетом знания местных требований и условий. Специальный интерес представляют КИ, направленные на решение медицинских задач, имеющих сугубо локальных характер в силу уникальной эпидемической целесообразности. В таком контексте принципы уважения и заботы становятся инструментами недопустимости стигматизации и дискриминации и зиждятся на двусторонних согласованных мерах обеспечения безопасности и благополучия конкретных участников КИ, исследователей и страны проведения исследования.

Переходя к трактовке принципа честности в спонсорских исследованиях, необходимо подчеркнуть значимость принятия всех усилий для достижения полной ясности в понимании всего цикла исследования всеми сторонами, вне зависимости от различий в образовательных стандартах, компетентности и других видов барьеров. С этой целью в спектр соглашения необходимо включать обсуждение всех очевидных различий, а также планы развития компетенций местных исследователей для предупреждения использования в ходе КИ неравных/более низких стандартов защиты данных или нарушения прав личности. Поскольку к подобным исследованиям может быть применен расширенный статус уязвимости по факту риска стигматизации, дискриминации не только отдельных личностей, но и страны в целом, следует избегать и предотвращать все возможные попытки зависимости и коррупции. Фактор инвестиций технологий производства исследуемого препарата должен быть согласован и предусмотрен в случае получения положительных результатов КИ.

Заключение

Все вышеуказанные положения обусловлены действующим нормативным регламентом, современным характером и перспективами лекарственного обеспечения РФ [3, 4]. Кроме того, знание и соблюдение этического баланса в полной мере соответствуют актуальным реалиям заинтересованности в спонсорских КИ отечественных разработок в третьих странах. Формирование направленного сотрудничества со странами Африки в данной сфере на основе нравственной и инновационной целостности, сопряжено с возрастанием профессиональной и персональной ответственности в вопросах этики исследований для нивелирования социального и экономического дисбаланса между партнерами. Оптимальными параметрами проведения КИ в таких условиях следует считать совершенствование, адаптацию и контроль универсальных этических стандартов для достижения справедливости, уважения, заботы об участниках исследований и честного распределения всех достигнутых в результате таких исследований благ. Знание и регуляторное закрепление этико-нормативного опыта по этическим принципам науки в свою очередь призвано способствовать базовой однородности, прозрачности и взаимной заинтересованности сторон.

Приверженность этическим принципам в сфере обеспечения солидарности и равного доступа к знаниям и научным достижениям предполагает не только справедливое использование преимуществ, но и необходимость

предупреждения или сведения к минимуму негативных последствий КИ в условиях неравенства базовых ресурсов. Важность гуманитарного подхода также заключается в формировании уважения к подобным исследованиям общественности за счет признания вклада науки в сферу удовлетворению потребностей отдельного человека и общества в целом.

Список литературы/References

1. Ассоциация организаций по клиническим исследованиям. Информационно-аналитический бюллетень № 29. I полугодие 2024. М., 2024. 25 с. [Association of Clinical Research Organizations. Information and analytical bulletin No. 29. Jan-Jun 2024. Moscow, 2024. 25 p. *(In Russ.)*] *URL: http://acto-russia.org/files/bulletin_29.pdf*
2. Всемирная медицинская ассоциация. Хельсинкская декларация: Этические принципы проведения медицинских исследований с участием человека. Принята 18-й Генеральной ассамблеей ВМА, Хельсинки, Финляндия, июнь 1964 г.; с изменениями, внесенными на 75-й Генеральной ассамблее ВМА, Хельсинки, Финляндия, октябрь 2024 г. [World Medical Association. Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Participants. Adopted by the 18th WMA General Assembly, Helsinki, Finland, June 1964; last amended by the 75th WMA General Assembly, Helsinki, Finland, October 2024] *URL: http://acto-russia.org/index.php?option=com_content&task=view&id=21*
3. ГОСТ Р. 1.0-2004. Национальный стандарт Российской Федерации. Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения (утв. Приказом Ростехрегулирования от 30.12.2004. № 152-ст.) [GOST R. 1.0-2004. National standard of the Russian Federation. Standardization in the Russian Federation. Basic provisions (approved by Order of Federal Agency for Technical Regulation and Metrology dated 30.12.2004. No. 152-st.) *(In Russ.)*] *URL: https://legalacts.ru/doc/gost-r-10-2004-natsionalnyi-standart-rossiiskoi-federatsii*
4. ГОСТ Р. 52379-2005. Национальный стандарт Российской Федерации. Надлежащая клиническая практика (утв. Приказом Ростехрегулирования от 27.09.2005. № 232-ст.) [GOST R. 52379-2005. National standard of the Russian Federation. Good clinical practice" (approved by Order of Rostekhregulirovanie dated September 27, 2005. No. 232-st.) *(In Russ.)*] *URL: https://docs.cntd.ru/document/1200041147*
5. Михаил Мурашко рассказал о перспективных направлениях для сотрудничества с африканскими странам // Министерство здравоохранения РФ. [Mikhail Murashko spoke about promising areas for cooperation with African countries // Ministry of Health of the Russian Federation. *(In Russ.)*] 28.07.2023. *URL: https://minzdrav.gov.ru/news/2023/07/28/20368-mihail-murashko-rasskazal-o-perspektivnyh-napravleniyah-dlya-sotrudnichestva-s-afrikanskimi-stranami*
6. О техническом регулировании: Федеральный закон РФ от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ (с изменениями на 2 июля 2021 года) (редакция, действующая с 23 декабря 2021 года). [On technical regulation: Federal Law of the Russian Federation of December 27, 2002 No. 184-FZ. (as amended on July 2, 2021) (version effective from December 23, 2021) *(In Russ.)*] *URL: https://docs.cntd.ru/document/901836556*
7. Об утверждении положения о совете по этике, порядка его создания и деятельности, требований к квалификации и опыту работы по экспертной оценке научных, медицинских и этических аспектов клинических исследований лекарственных препаратов для медицинского применения, предъявляемых к экспертам совета по этике, порядка организации и проведения этической экспертизы, форм заключений совета по этике, порядка размещения информации о составе совета по этике, планах его работы и текущей деятельности: Приказ Минздрава РФ от 31.10.2024 № 586н. Зарегистрировано в Минюсте России 28.11.2024 № 80360. [On approval of the Ethics Council regulation, the procedure for its establishment and activities, requirements for the qualifications and experience of work on expert assessment of scientific, medical and ethical aspects of clinical trials of medicinal products for medical use, presented to experts of the Ethics Council, the procedure for organizing and conducting ethical examination, forms of conclusions of the Ethics Council, the procedure for posting information on the composition of the Ethics Council, plans for its work and current activities: Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated October 31, 2024 No. 586n. Registered in the Ministry of Justice of Russia on November 28, 2024 No. 80360 *(In Russ.)*] *URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_492267*
8. Об утверждении Правил надлежащей клинической практики Евразийского экономического союза. Решение Совета Евразийской экономической комиссии № 79 от 06.11.2016. [On approval of the Rules of Good Clinical Practice of the Eurasian Economic Union. Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission No. 79 of 06.11.2016. *(In Russ.)*] *URL: https://docs.cntd.ru/document/456026110*
9. Об утверждении правил проведения фармацевтических инспекций: Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 года № 83 (с изменениями на 06.09.2024) [On approval of the rules for conducting pharmaceutical inspections: Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission of November 3, 2016 No. 83 (as amended on September 6, 2024) *(In Russ.)*] *URL: https://docs.cntd.ru/document/456026119?marker=64U0IK*
10. Россия и Африка: от помощи – к партнерству // Комсомольская правда. [Russia and Africa: from aid to partnership. Komsomolskaya Pravda. *(In Russ.)*] 30.07.2023. *URL: https://www.kp.ru/daily/27535.5/4801181*
11. Трапкова А.А. Проведение фармацевтических инспекций на соответствие требованиям GCP ЕАЭС в Российской Федерации является осознанной необходимостью // Безопасность и риск фармакотерапии. 2023. Т. 11, № 2. С. 127–130. [Trapkova A.A. Conducting pharmaceutical inspections for compliance with the requirements of the EAEU GCP in the Russian Federation is a conscious need. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii = Safety and Risk of Pharmacotherapy, 2023, vol. 11, no. 2, pp. 127–130. (In Russ.)*] *doi: 10.30895/2312-7821-2023-11-2-127-130*
12. Центр им. Гамалеи заявил о готовности поставлять странам Африки вакцины // ТАСС. Саммит Россия – Африка. [The Gamaleya Center has announced its readiness to supply vaccines to African countries. TASS. Russia – Africa Summit. *(In Russ.)*] 28.07.2023. *URL: https://tass.ru/obschestvo/18394227*
13. Экспорт оригинальных препаратов позволит нам обеспечить и себя, и другие страны новыми эффективными лекарствами и развивать технологический суверенитет страны // Коммерсант. Иннопром. Приложение № 123.

[Export of original drugs will allow us to provide ourselves and other countries with new effective drugs and develop the technological sovereignty of the country. Kommersant. Innoprom. Appendix No. 123. *(In Russ.)*] 11.07.2023. *URL: https://www.kommersant.ru/doc/6081959*
14. African Union. African Medicine Agency (AMA) Treaty. 05.02.2020. *URL: https://au.int/en/pressreleases/20200205/african-medicine-agency-ama-treaty*
15. Appiah D., Teye-Adjei D., Auagah C. Ethics Dumping: Case Studies from Global North and South Research Collaborations: Book Review. *Research Ethics: Journal of Multidisciplinary Research, 2024, vol. 2, no. 1. URL: https://www.researchgate.net/profile/Research-Ethics/publication/378525257_Ethics_Dumping_Case_Studies_from_North-South_Research_Collaborations_Edited/links/65deb5e1e7670d36abe30848/Ethics-Dumping-Case-Studies-from-North-South-Research-Collaborations-Edited.pdf?_tp=eyJjb250ZXh0Ijp7ImZpcnN0UGFnZSI6InB1YmxpY2F0aW9uIiwicGFnZSI6InB1YmxpY2F0aW9uIn19*
16. Bolstering Vaccine Manufacturing Capacity in Africa: a move towards self-sufficiency. *The Brown Journal of World Affairs, 2020, vol. XXVIII, iss. 1, 16 p.*
17. Bwire G., Ario A.R., Eyu P., Ocom F., Wamala J.F., Kusi K.A., Ndeketa L., Jambo K.C., Wanyenze R.K., Talisuna A.O. The COVID-19 pandemic in the African continent. *BMC Med., 2022, vol. 20, no. 1: 167. doi: 10.1186/s12916-022-02367-4*
18. Chatfield K., Schroeder D., Guantai A., Bhatt K., Bukusi E., Odhiambo J.-A., Cook J., Kimani J. Preventing ethics dumping: the challenges for Kenyan research ethics committees. *Research Ethics, 2021, vol. 17, no. 1, pp. 23–44. doi:10.1177/1747016120925064*
19. Extraordinary Session of the IBC/Join Session of the IBC and IGBC/11th (Extraordinary) Session of COMEST. 23 and 24 February 2021. *URL: http://www.events.unesco.org*
20. Grüner S., Krüger F. The intention to be vaccinated against COVID-19: stated preferences before vaccines were available. *Appl. Econ. Lett., 2021, vol. 28, pp. 1847–1851. doi: 10.1080/13504851.2020.1854445*
21. Guideline for good clinical practice E6(R3): ICH harmonised guideline. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. Final version Adopted on 06 January 2025. *URL: https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_E6%28R3%29_Step4_FinalGuideline_2025_0106.pdf*
22. Kelly A.H. The Territory of Medical Research: Experimentation in Africa's Smallest State. In: Geissler P.W., editor. Para-States and Medical Science: Making African Global Health. *Durham (NC): Duke University Press; 2015. Chapter 10.*
23. Molyneux S., Geissler P.W. Ethics and the ethnography of medical research in Africa. *Soc. Sci. Med., 2008, vol. 67, no. 5, pp. 685–695. doi: 10.1016/j.socscimed.2008.02.023*
24. Nachega J.B., Sam-Agudu N.A., Mellors J.W., Zumla A., Mofenson L.M. Scaling Up Covid-19 Vaccination in Africa - Lessons from the HIV Pandemic. *N. Engl. J. Med., 2021, vol. 385, no. 3, pp. 196–198. doi: 10.1056/NEJMp2103313*
25. Nature addresses helicopter research and ethics dumping. *Nature, 2022, vol. 606, no. 7912: 7. doi: 10.1038/d41586-022-01423-6*
26. Ncube B.M., Dube A., Ward K. Establishment of the African Medicines Agency: progress, challenges and regulatory readiness. *J. Pharm. Policy Pract., 2021, vol. 14, no. 1: 29. doi: 10.1186/s40545-020-00281-9*
27. Ndomondo-Sigonda M., Miot J., Naidoo S., Dodoo A., Kaale E. Medicines Regulation in Africa: Current State and Opportunities. *Pharmaceut. Med., 2017, vol. 31, no. 6, pp. 383–397. doi: 10.1007/s40290-017-0210-x*
28. Ozawa S., Evans D.R., Bessias S., Haynie D.G., Yemeke T.T., Laing S.K., Herrington J.E. Prevalence and Estimated Economic Burden of Substandard and Falsified Medicines in Low- and Middle-Income Countries: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open, 2018, vol. 1, no. 4: e181662. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2018.1662*
29. Paul E., Steptoe A., Fancourt D. Attitudes towards vaccines and intention to vaccinate against COVID-19: Implications for public health communications. *Lancet Reg Health Eur., 2021, vol. 1: 100012. doi: 10.1016/j.lanepe.2020.100012*
30. Peeters Grietens K., Ribera J.M., Erhart A., Hoibak S., Ravinetto R.M., Gryseels C., Dierickx S., O'Neill S., Muela S.H., D'Alessandro U. Doctors and vampires in sub-Saharan Africa: ethical challenges in clinical trial research. *Am. J. Trop. Med. Hyg., 2014, vol. 91, no. 2, pp. 213–215. doi: 10.4269/ajtmh.13-0630*
31. Schroeder D., Chatfield K., Chennells R., Herissone-Kelly P., Singh M. Equitable Research Partnerships: A Global Code of Conduct to Counter Ethics Dumping. *Cham: Springer Verlag, 2019. 122 p.*
32. The Belmont Report. Ethical Principles and Guidelines for the Protection of Human Subjects of Research. The National Commission for the Protection of Human Subjects of Biomedical and Behavioral Research. *DHEW Publication No. (OS) 78-0012, Washington D.C., U.S. Government Printing Office, 1978.*
33. World Health Organization. The health of the people: what works. The African Regional Health Report 2014. *URL: https://www.afro.who.int/publications/african-regional-health-report-2014-health-people-what-works#:~:text=Fuelled%20by%20rapid%20urbanization%20and,have%20been%20shown%20to%20work*

Автор:
Кубарь О.И., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории этиологии и контроля вирусных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Author:
Kubar O.I., DSc (Medicine), Leading Researcher, Department of Etiology and Control of Viral Infections, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 01.12.2024
Принята к печати 18.05.2025

Received 01.12.2024
Accepted 18.05.2025

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 415–430

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 415–430

ТКАНЕВЫЕ РЕЗИДЕНТНЫЕ CD8$^+$ Т-КЛЕТКИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ И ИХ РОЛЬ В ИММУННОМ ОТВЕТЕ НА ИНФЕКЦИЮ И ВАКЦИНАЦИЮ

В.Ю. Талаев, О.Н. Бабайкина, М.В. Светлова, И.Е. Заиченко, Е.В. Куркова

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

Резюме. Различные ткани организма содержат тканевые резидентные CD8$^+$ Т-клетки иммунологической памяти — долгоживущие полифункциональные эффекторные клетки, которые образуются в ходе иммунного ответа на инфекцию и на длительное время заселяют ранее инфицированную ткань. Локализацию этих клеток определяет экспрессия набора адгезивных молекул, удерживающих клетку в определенном тканевом микроокружении, а также недостаток молекул, участвующих в выходе клеток в кровеносные и лимфатические сосуды. Программа, формирующая такой специфический фенотип, по-видимому, может быть запущена на разных стадиях созревания Т-лимфоцитов в ходе иммунного ответа. Резидентные CD8$^+$ Т-клетки памяти защищают ткани от вирусов и других внутриклеточных паразитов, убивают трансформированные клетки, а в некоторых случаях участвуют в патогенезе иммуноопосредованных воспалительных заболеваний. Накопление резидентных Т-клеток памяти может быть индуцировано вакцинацией, и «нацеливание» вакцин на эти клетки, в дополнение к запуску протективного гуморального ответа, представляется желательным для предотвращения многих инфекций с внутриклеточной локализацией возбудителя. Резидентные CD8$^+$ Т-клетки памяти в месте внедрения патогена могут быстрее, чем циркулирующие Т-клетки обеспечить защиту ткани, что важно для предотвращения быстро развивающихся вирусных инфекций. Размещение CD8$^+$ Т-клеток памяти в тканях позволяет увеличивать пул этих клеток без явных ограничений, а значит, можно без потери эффективности увеличивать количество вакцинаций, стимулирующих эти клетки. Наконец, далеко не все антигенные эпитопы возбудителей, которые распознаются CD8$^+$ Т-клетками, подвергаются столь быстрым и систематическим изменениям, как поверхностные В-клеточные эпитопы тех же патогенов. Дополнительное вовлечение в ответ на вакцину резидентных CD8$^+$ Т-клеток памяти может дать большую широту охвата вариантов патогена и способствовать развитию гетеросубтипического иммунитета. В обзоре приведены данные о резидентных CD8$^+$ Т-клетках памяти различных тканей, их участии в иммунном ответе на инфекции и вакцинации, а также о молекулах, управляющих их локализацией.

Ключевые слова: *CD8$^+$ Т-клетки, тканевые резидентные Т-клетки памяти, миграция, инфекция, вакцины.*

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

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

Для цитирования:
Талаев В.Ю., Бабайкина О.Н., Светлова М.В., Заиченко И.Е., Куркова Е.В. Тканевые резидентные CD8+ Т-клетки иммунологической памяти и их роль в иммунном ответе на инфекцию и вакцинацию // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 415–430. doi: 10.15789/2220-7619-TRM-17842

Citation:
Talayev V.Yu., Babaykina O.N., Svetlova M.V., Zaichenko I.Ye., Kurkova E.V. Tissue-resident memory CD8+ T cells and their role in the immune response to infection and vaccination // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 415–430. doi: 10.15789/2220-7619-TRM-17842

© Талаев В.Ю. и соавт., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-TRM-17842

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

TISSUE-RESIDENT MEMORY CD8+ T CELLS AND THEIR ROLE IN THE IMMUNE RESPONSE TO INFECTION AND VACCINATION

Talayev V.Yu., Babaykina O.N., Svetlova M.V., Zaichenko I.Ye., Kurkova E.V.

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

Abstract. A variety of body tissues contain tissue-resident memory CD8+ T cells — long-lived multifunctional effector cells formed during the immune response to infection, which populate previously infected tissue long term. The localization of these cells is determined due to expression of a set of adhesive molecules that hold the cell in a specific tissue microenvironment, as well as the lack of molecules involved in exiting into the blood and lymphatic vessels. The program for establishing such cell phenotype can apparently be launched at various stages of T cell maturation during the immune response. Resident memory CD8+ T cells protect tissues from viruses and other intracellular parasites, kill transformed cells, and in some cases participate in the pathogenesis of immune-mediated inflammatory diseases. The accumulation of resident memory T cells can be induced by vaccination, and targeting these cells by vaccines, along with triggering a protective humoral response, appears desirable for the prevention of many intracellular infections. At the site of pathogen entry, resident memory CD8+ T cells can provide tissue protection quicker than circulating T cells, which is essential for preventing rapidly evolving viral infections. Localization of memory CD8+ T cells in tissues allows the pool of these cells to be increased without obvious restrictions. Accordingly, it is possible to carry out a large number of different vaccinations to stimulate these cells without losing the vaccines effectiveness. Finally, not all pathogens antigenic epitopes recognized by CD8+ T cells undergo rapid and systematic changes such as the surface B-cell epitopes of the same pathogens. Additional recruitment of resident memory CD8+ T cells in response to a vaccine may ensure greater coverage of pathogen variants and contribute to developing heterosubtypic immunity. The review presents data on resident memory CD8+ T cells in various tissues, their participation in the immune response to infections and vaccinations, as well as molecules that control their localization.

Key words: *CD8+ T cells, tissue-resident memory T cells, immune response, migration, infection, vaccines.*

Введение

CD8+ Т-клетки выполняют эффекторные функции при непосредственном контакте с клетками, зараженными вирусами или другими внутриклеточными патогенами. Для этого CD8+ Т-клетки должны мигрировать из вторичных лимфоидных органов (ВЛО) в ткань, пораженную инфекцией. Последующее расширение зоны защитного действия этих Т-клеток происходит за счет постоянного перераспределения оставшихся после инфекции долгоживущих Т-клеток иммунологической памяти между различными органами с помощью рециркуляции с лимфой и кровью. Однако не все Т-клетки памяти участвуют в рециркуляции. Значительное количество так называемых резидентных Т-клеток памяти (Trm) заселяет инфицированную ткань и после завершения инфекции не покидает ее в течение долгого срока, который измеряется месяцами и, даже, годами [16, 37, 68, 100]. Trm обнаружены в CD8+ и в CD4+ субпопуляциях Т-лимфоцитов [14, 22], но в данном обзоре мы ограничимся сведениями о наиболее изученной CD8+ субпопуляции Trm. Благодаря своей локализации CD8+ Trm служат первой линией обороны от внутриклеточных паразитов в тканях с повышенным риском повторного инфицирования [37, 44, 63, 102, 115]. Для того чтобы описать происхождение этих клеток следует кратко изложить схему созревания цитотоксических Т-лимфоцитов.

Созревание и миграция CD8+ Т-клеток в ходе иммунного ответа

В ходе первичного иммунного ответа наивные CD8+ Т-клетки обнаруживают клоноспецифичный антиген на молекулах главного комплекса гистосовместимости первого класса (MHC I) дендритных клеток (ДК) в Т-клеточной зоне ВЛО. Распознавшие антиген CD8+ Т-клетки получают дополнительную стимуляцию в микроокружении ВЛО, размножаются, и их потомки дифференцируются в короткоживущие эффекторные клетки (short-lived effector cell, SLEC) и в эффекторные клетки-предшественники клеток памяти (memory progenitor effector cell, MPEC) [27, 80] (рис.).

SLEC обладают мощным цитотоксическим потенциалом и характеризуются фенотипом $CD127^{low/-}KLRG1^{high}CD62L^{low}$. Эти клетки покидают ВЛО с лимфой, выходят в кровеносное русло и мигрируют в очаг воспаления. Их миграцию направляет набор мембранных молекул адгезии и рецепторов к хемокинам, которые продуцируются в периферических тканях, особенно при воспалении. Важно, что для миграции в разные ткани эффекторным Т-клеткам требуются разные наборы этих молекул в соответствии с наличием их лигандов в определенной ткани. Так, для миграции в тонкий кишечник эффекторные Т-клетки экспрессируют интегрин α4β7 и CCR9 — рецептор хемокина CCL25, продукция которого локализова-

на в тонком кишечнике [43, 74]. Рецептор CCR6 направляет миграцию зрелых Т-лимфоцитов в зоны продукции хемокина CCL20, в частности, в пейеровы бляшки и в воспаленные участки слизистой желудка и кишечника [3, 113, 122, 125]. Экспрессия лиганда E-селектина и хемокиновых рецепторов CCR4, CCR8, CCR10, CXCR6 и CXCR3 направляет эффекторные Т-клетки из лимфатических узлов в кожу [62, 131]. Рецепторы CXCR3, CXCR6 и CCR6 способствуют миграции Т-клеток в легкие [42, 107], а при респираторных вирусных инфекциях миграция CD8+ Т-клеток в дыхательные пути также управляется рецептором CCR5 [49].

Эффекторные Т-клетки приобретают наборы адгезивных молекул и хемокиновых рецепторов при созревании в ВЛО, дренирующих определенный тип ткани. Так, способность мигрировать в кишечник Т-клетки приобретают под действием ретиноевой кислоты, которую секретируют ДК в пейеровых бляшках и брыжеечных лимфатических узлах. Таким образом, Т-клетки в ВЛО не только вовлекаются в ответ на антигены, но приобретают homing — склонность мигрировать в тип ткани, из которой эти антигены поступили. Следует отметить, что homing является временным свойством. Так, усиленная миграция Т-клеток эффекторов в кожу сохраняется лишь несколько дней после завершения кожной инфекции [4].

В инфицированной ткани SLEC убивают зараженные клетки и гибнут после после выполнения защитных функций. Динамику пула антигенспецифических CD8+ Т-клеток в ходе инфекции с большой долей условности можно представить с помощью следующих цифр. До первичного иммунного ответа у мышей количество CD8+ Т-клеток, специфичных к одной комбинации MHC I и антигенного пептида, составляет всего лишь от 15 до 1000 клеток во всем организме [80]. В индуктивной фазе иммунного ответа, в зависимости от масштабов и особенностей инфекции, количество антигенспецифических Т-клеток увеличивается в сотни, тысячи и, возможно, в десятки тысяч раз в течение нескольких дней. Так, при инфи-

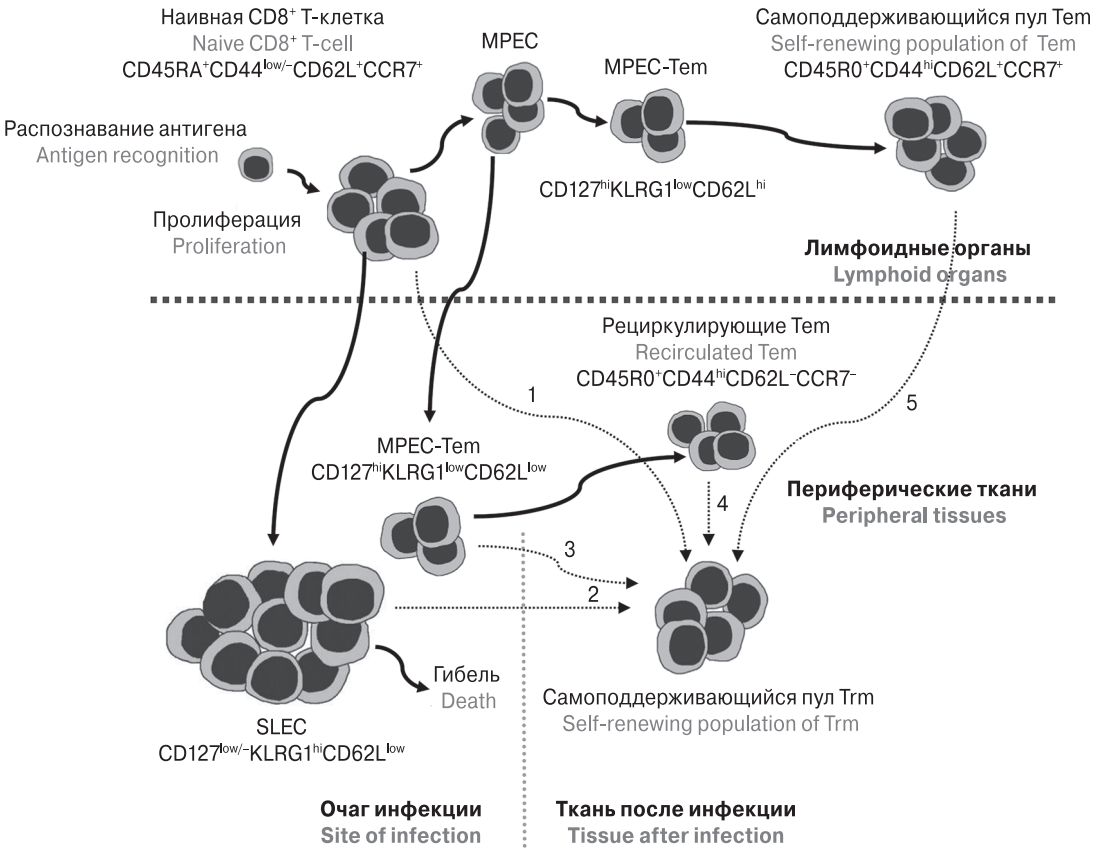


Рисунок. Стадии созревания CD8+ Т-клеток в ходе иммунного ответа

Figure. Stages of CD8+ T cell maturation during the immune response

Примечание. Возможные пути генерации Trm из «преэффекторных» Т-клеток (1), эффекторных CD8+ Т-лимфоцитов (2), из MPEC в эпидермисе (3), из Tem в легких (4) и развитие Trm печени из Tcm (5).

Note. Possible pathways of Trm generation from pre-effector T cells (1), effector CD8+ T lymphocytes (2), from MPEC in the epidermis (3), from Tem in the lungs (4) and development of liver Trm from Tcm (5).

цировании вирусом лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) у мышей, иммунная система которых была дополнена клоном антигенспецифических Т-клеток с генетической меткой, пик количества этих «меченых» клеток в селезенке достигался к 7 дню [68]. После завершения борьбы с инфекцией количество антигенспецифических клеток падает приблизительно в 20 раз по сравнению с максимальными значениями за счет гибели SLEC. В упомянутой выше модели с LCMV снижение количества антигенспецифических клеток до стабильных показателей происходило к 20 дню после инфекции. В живых остаются долгоживущие MPEC и созревшие из них клетки иммунологической памяти, которые подразделяются на две основные группы: эффекторные Т-клетки памяти (Tem) и центральные Т-клетки памяти (Tcm). По некоторым моделям, дифференцировка клеток памяти включает промежуточные стадии, представленные отдельными предшественниками для Tcm и Tem (соответственно, MPEC-Tcm с фенотипом $CD127^{high}KLRG1^{low}CD62L^{high}$ и MPEC-Tem с фенотипом $CD127^{high}KLRG1^{low}CD62L^{low}$) [80] (рис.).

Tcm и Tem циркулируют по организму, периодически покидая кровоток для поиска клоноспецифичного антигена. Tcm формируют самоподдерживающуюся популяцию в ВЛО, перераспределяясь между ними с помощью циркуляции. Выход Tcm из кровотока в ВЛО осуществляют с помощью L-селектина CD62L, который взаимодействует с эндотелием венул ВЛО, а хемокиновый рецептор CCR7 обеспечивает движение Tcm в Т-клеточную зону — место максимальной продукции хемокинов CCL19 и CCL21 [4]. Другая группа клеток памяти, Tem, выходит из кровотока в нелимфоидные ткани для поиска зараженных клеток. Tem лишены CD62L и CCR7, и их миграция, так же как и миграция эффекторных Т-клеток, направляется адгезивными молекулами и хемокиновыми рецепторами, лиганды которых синтезируются в периферических тканях [4]. Часть $CD8^+$ Т-лимфоцитов приобретает экспрессию белков, способствующих их удержанию в ткани, и утрачивает молекулы, необходимые для возвращения в кровоток [22, 118]. Эти клетки исключаются из рециркуляции и формируют самоподдерживающуюся местную популяцию Trm [69].

Клетки-предшественники Trm

Результаты поиска предшественников Trm наводят на мысль о том, что программа превращения циркулирующего лимфоцита в резидентную клетку может быть включена на разных этапах созревания [50, 130]. Показано, что гены сигнатуры Trm на 6-й день после активации экспрессируются в периферических эффекторных Т-клетках, соответственно, они могут быть предшественниками Trm (рис.). Основные регуляторы Trm — факторы транскрипции Runx3, Hobit и Blimp1 сильно экспрессируются в ранней эффекторной фазе созревания [10, 61, 72, 73, 84], а экспрессия гистон-лизин-N-метилтрансферазы Ezh2 возрастает еще раньше — в «преэффекторных» Т-клетках [45], причем известно, что Ezh2 может участвовать в характерной и, по-видимому, важной для созревания Trm репрессии ряда генов, включая *Tcf7, Eomes* и *Klf2* [84, 106]. Судя по этим данным, программа Trm может запускаться на раннем этапе созревания клеток-эффекторов. Однако имеются данные о более ранних событиях, влияющих на выбор пути созревания Trm. Так, действие TGF-β на наивные Т-клетки перед распознаванием антигена, способствует созреванию их потомков в Trm [65]. Это значит, что отдельные механизмы, управляющие созреванием Trm, могут запускаться в покоящихся наивных Т-клетках перед их вовлечением в иммунный ответ. С другой стороны, зрелые Т-клетки памяти и их непосредственные предшественники MPEC также могут вносить вклад в формирование местных популяций Trm. Так, $CD8^+$KLRG1- MPEC, после проникновения в эпидермис, под действием факторов микроокружения, в том числе локально синтезируемых IL-15 и TGF-β превращаются в $CD8^+CD103^+$ Trm кожи [62]. Популяция Trm в легких при реинфекции может восполняться за счет Tem [111, 112], тогда как Tcm могут восстанавливать популяции Trm кожи и печени [82, 120]. Следует отметить, что пул Trm эффективнее формируется при созревании из наивных Т-клеток, чем при конвертировании из циркулирующих Т-клеток памяти [82, 119] (рис. 1). Кем бы ни были предшественники $CD8^+$ Trm, их накопление в тканях зависит от хемокиновых рецепторов, которые используют эффекторные Т-клетки и Tem для проникновения в ткань. Так, миграция Т-клеток в тонкий кишечник и приобретение ими фенотипа Trm происходит с участием CCR9 [33], а CXCR6 важен для формирования группировки Trm в коже, причем экспрессия CXCR6 характерна для Trm различных тканей и, возможно, служит для колокализации Trm и ДК, продуцирующих CXCL16 — лиганд CXCR6 [118].

Наличие Trm в различных тканях и поддержание их численности

Для доказательства существования Trm были применены мышиные модели с пересадкой кожи и кишечных трансплантатов, использованием парабиоза (соединения кровеносных си-

стем двух мышей), а также способы устранения или внутрисосудистого мечения циркулирующих клеток [16, 37, 68, 112]. У людей Trm были обнаружены при анализе пересаженных тканей через большие сроки (до 2 лет) после трансплантации. Определение молекул, не совпадающих у доноров и реципиентов, позволило выявить длительное сохранение $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток доноров в трансплантатах кожи [59], кишечника [8], легких [108] и почек [28] при отсутствии донорских Т-лимфоцитов в крови реципиентов. Эти работы позволили идентифицировать истинных резидентов тканей и отличить их от рециркулирующих клеток, приходящих из крови в ткань и затем вновь возвращающихся в кровоток.

Наличие Trm документировано в различных, в первую очередь в барьерных, тканях: в коже, в слизистых кишечника и женских репродуктивных органов, в слюнных железах, в участках регенерации поврежденной ткани в легких [23, 54, 68, 69, 96, 112]. В коже и в слизистых большинство Trm локализовано вблизи или внутри эпителиального слоя. Кроме того, Trm обнаружены в печени, почках, поджелудочной железе, сердце и головном мозге после вирусной инфекции [118, 123]. Также Trm-подобные клетки обнаруживаются в центральных и периферических лимфоидных органах: в тимусе, селезенке и лимфатических узлах [118].

Долговременное поддержание численности $CD8^+$ Т-клеток памяти, в том числе Trm, не требует постоянного или периодического распознавания антигена [56, 78, 115], но зависит от цитокинов, причем интерлейкин-7 (IL-7) и тимический стромальный лимфопоэтин обеспечивают выживание, а IL-15 — гомеостатическое обновление пула клеток памяти за счет ограниченной пролиферации [9, 98].

Распознавание антигена при повторной инфекции активирует $CD8^+$ Trm к размножению, продукции цитокинов и цитотоксическому действию на инфицированные клетки в ткани их постоянного пребывания. В некоторых случаях реактивация и размножение $CD8^+$ Trm также приводит к пополнению пула циркулирующих Т-клеток [22]. Однако способность к клональной экспансии у $CD8^+$ клеток памяти меньше, чем у наивных $CD8^+$ Т-лимфоцитов [66, 126]. В связи с этим предполагается, что преимуществами, которые организм получает при созревании Т-клеток памяти и, особенно Trm, являются их готовность к выполнению эффекторных функций [114, 126] и тактически выгодная локализация в тканях, наиболее уязвимых для инфекции. Кроме того, численность Т-клеток памяти после перенесенной инфекции значительно превышает мизерное исходное количество их предшественников — наивных Т-лимфоцитов той же специфичности.

Важным представляется отсутствие каких-либо определяемых в эксперименте ограничений на количество $CD8^+$ Т-клеток памяти в отличие от «потолка ниши» для зрелых плазмоцитов и В-лимфоцитов [121, 127]. Иными словами, при большом количестве инфекций или вакцинаций вновь образовавшиеся плазмоциты и В-клетки памяти уменьшают количество плазмоцитов и В-клеток, созревших в ходе предыдущих иммунных ответов, тогда как новые $CD8^+$ Т-клетки памяти не вытесняют образовавшиеся ранее $CD8^+$ Т-клетки. По-видимому, фактором, разрешающим неограниченное накопление $CD8^+$ Т-клеток памяти, является возможность их размещения в тканях в виде Trm [22, 127]. Это делает индукцию $CD8^+$ Trm желанным результатом действия противовирусных вакцин, что, впрочем, не отменяет классической задачи нацеливания противовирусных вакцин на продукцию протективных антител.

Поверхностные молекулы, управляющие локализацией Trm

Идентификация истинных Trm позволила определить мембранные молекулы, которые связаны с локализацией этих клеток. Удержанию Trm в тканях способствуют лектин CD69 и адгезивные молекулы CD103, CD49a, Е-кадгерин и LFA-1, причем набор этих молекул в разных тканях может заметно различаться. Так, большинство Trm легких, тонкого кишечника и кожи имеют фенотип $CD69^+CD49a^{hi}CD103^{hi}$, причем экспрессия CD49a критична для формирования пула Trm легких, тонкого кишечника и кожи, а CD103 и хемокиновый рецептор CXCR6 необходимы для Trm легких и кожи. Следует отметить, что в коже Trm представлены двумя субпопуляциями, одна из которых с фенотипом $CD69^+CD49a^+CD103^+$ способна продуцировать IFNγ и проявлять цитотоксическую активность, тогда как субпопуляция с фенотипом $CD69^+CD49a^-CD103^+$ обладает свойствами Т-хелперов 17 (Th17) [22]. Trm слюнных желез обладают фенотипом $CD49a^{int}CD103^{lo}$, и для их удержания в ткани критична экспрессия Е-кадгерина. Trm печени осуществляют связь с тканью с помощью интегрина LFA-1 и слабо экспрессируют CD103 и CD49a [22]. Наряду с наличием адгезивных молекул для Trm характерно отсутствие молекул, способствующих выходу из ткани: рецептора-1 сфингозин-1-фосфата (S1PR1) и CCR7. Наконец, Trm, как и другие Т-клетки памяти, обладают повышенной экспрессией CD44. Следует отметить, что все эти

фенотипические особенности, не являются абсолютно специфичными для Trm, а, с другой стороны, Trm разных тканей могут иметь разный набор этих позитивных и негативных маркеров, что необходимо учитывать при поиске Trm по фенотипическим признакам.

Экспрессия CD69 и отсутствие S1PR1

Лектин CD69 появляется на наружной мембране Т-клеток вскоре после активации антигеном. Максимум его экспрессии *in vitro* находится в интервале от 3 до 24 часов после активации [89], а затем его экспрессия постепенно угасает в течение нескольких дней. Быстрая экспрессия и последующий уход этой молекулы с поверхности большинства Т-лимфоцитов позволяет использовать CD69 в качестве маркера активации [89]. В отличие от других Т-клеток, Trm приобретают постоянную экспрессию этой молекулы [95, 104], причем антагонизм CD69 с рецептором-1 сфингозин-1-фосфата во многом определяет локализацию Trm [60, 85]. Как известно, сфингозин-1-фосфат является одним из важнейших хемоаттрактантов, обеспечивающих выход клеток из тканей. Этот фосфолипид циркулирует в крови, диффундирует через сосудистую стенку и создает градиент концентрации, по которому чувствительные клетки могут двигаться к ближайшему сосуду. Сильная экспрессия CD69 лишает клетки этой возможности, поскольку CD69 и S1PR1 на наружной мембране клетки взаимодействуют друг с другом, что приводит к интернализации и деградации S1PR1 и утрате чувствительности к хемоаттрактанту [7]. Искусственное повышение экспрессии S1PR1 ведет к падению численности Trm [105]. Интересно, что антагонистические взаимоотношения S1PR1 и CD69 имеют обоюдный характер, и эти белки могут взаимно подавлять экспрессию друг друга на клеточной поверхности [7, 103]. Предполагается, что условием стабилизации экспрессии CD69 на мембране является исходный дефицит S1PR1, который может формироваться при недостатке Krüppel-подобного фактора 2 (KLF2) [105]. Дефицит этого ядерного фактора *in vitro* индуцирует трансформирующий фактор роста-β (TGF-β), который синтезируется в периферических, особенно, барьерных тканях, интерфероны (IFN) I типа, IL-33 — стимулятор Th2-зависимого иммунного ответа, и IL-12 — стимулятор Th1-зависимого иммунного ответа [20, 30]. Наибольшим эффектом обладают сочетания этих цитокинов друг с другом и с фактором некроза опухолей (TNF) [105]. Возможно, эти сочетания воспроизводят варианты цитокиновой атмосферы при разных иммунных реакциях в периферической ткани. Известно, что KLF2 запускает транскрипцию генов S1pr1 (кодирует S1PR1) и Sell (кодирует CD62L). Соответственно, дефицит KLF2 приводит к утрате экспрессии гена S1pr1 и белка S1PR1, что ведет к стабилизации экспрессии CD69 на наружной мембране [105] и увеличивает надежность удержания Т-клеток в поврежденной ткани.

Наряду с Trm, CD69 экспрессируют естественные киллеры [109] и клетки Лангерганса [15], причем CD69 на этих клетках также способствует их аресту в ткани. Отсутствие CD69 на $CD8^+$ Т-клетках значительно уменьшает количество Trm, но не приводит к их полному исчезновению [62], что говорит о роли других молекул в процессе удержания Т-клеток в тканях.

CD103

CD103 или интегриновая субъединица αE входит в состав интегрина αEβ7. Экспрессию CD103 на $CD8^+$ Т-клетках стимулирует TGF-β [31, 39]. Функцией интегрина αEβ7 является взаимодействие с Е-кадгерином. Как известно, Е-кадгерин обеспечивает плотные соединения эпителиальных клеток за счет гомотипических взаимодействий. Однако молекулы Е-кадгерина могут не только связываться друг с другом, но и взаимодействовать с иными адгезивными молекулами. Так, связывание интегрина αEβ7 Т-клеток с Е-кадгерином эпителия позволяет лимфоцитам внедряться в эпителиальный слой и удерживаться в нем [19]. Критическая роль CD103 для локализации Т-клеток в эпителиальных барьерах была доказана в экспериментах с искусственным дефицитом этой молекулы, ведущим к уменьшению количества $CD8^+$ Trm в коже [62], в легких после гриппа [55] и в кишечнике после инфицирования *Listeria* [101]. Благодаря экспрессии этой адгезивной молекулы $CD8^+$ Trm составляют существенную часть внутриэпителиальных лимфоцитов — самой передовой линии защиты кожи и слизистой от вирусов и других внутриклеточных паразитов. Наряду с защитой от инфекции, внутриэпителиальные Trm могут участвовать в предотвращении развития карцином и меланом, уничтожая злокачественные клетки эпителиального слоя [64, 79]. Противоопухолевая активность $CD8^+CD103^+$ Trm повышена по сравнению с $CD8^+CD103^-$ клетками [29], по-видимому, за счет лучшей адгезии на клетках-мишенях [35].

Следует отметить, что Е-кадгерин экспрессируется на клетках Лангерганса — особой популяции внутриэпителиальных ДК [2]. Связывание CD103 Т-клеток с Е-кадгерином

клеток Лангерганса может улучшить презентацию антигенов внутри эпителиального слоя при повторной инфекции. На позиционирование Т-клеток в ткани могут влиять взаимоотношения CD103 и хемокиновых рецепторов. Так, связывание CD103 цитотоксических Т-клеток с Е-кадгерином опухолевых клеток приводит к перераспределению рецепторов CCR5 внутрь иммунных синапсов, в результате чего Т-лимфоциты утрачивают чувствительность к CCL5 и прекращают движение по градиенту концентрации этого хемокина [36]. В тонком кишечнике экспрессия CD103 зависит от хемокина CCL25 и его рецептора CCR9, который направляет миграцию $CD103^-$ эффекторных Т-клеток в тонкий кишечник и индуцирует на них экспрессию CD103, способствуя задержке клеток в ткани и формированию локальной популяции внутриэпителиальных лимфоцитов, в частности, $CD8^+$ Trm [33].

CD49a

CD49a является интегриновой субъединицей α1, которая соединяется с субъединицей β1 (CD29) и образует коллаген-связывающий интегрин VLA-1. Этот интегрин может взаимодействовать с коллагеном-I, фибриллы которого присутствуют в соединительнотканных элементах большинства органов [90]. Однако наиболее эффективно VLA-1 связывается с коллагеном-IV [6, 92] — нефибриллярной формой коллагена в слое lamina densa базальной мембраны эпителия слизистых оболочек [51]. Важно, что молекулы VLA-1 и коллагена-IV вступают в динамические взаимодействия, которые позволяют лимфоцитам не только накапливаться под эпителиальным слоем, но и перемещаться под ним, а, возможно, и проникать сквозь базальную мембрану [6, 12, 92]. Исследования демонстрируют наличие CD49a на Т-клетках памяти в разных тканях и критическое значение CD49a для поддержания численности Trm в легких и кишечнике мышей [21, 62, 70, 87, 88]. Делеция или блокада CD49a не только уменьшает количество Trm [70, 88], но и заметно ослабляет созданную этими клетками «первую линию защиты», что проявляется в росте восприимчивости к вторичным гетеросубтипическим инфекциям и в увеличении скорости развития этих инфекций [32, 88, 129]. У людей большинство Trm в легких экспрессирует CD49a, а $CD8^+CD49a^+$ Trm кожи обладают выраженным защитным потенциалом: они продуцируют IFNγ и после стимуляции интерлейкином-15 производят большое количество перфорина и гранзима B [21]. Также CD49a участвует в защите Trm от апоптоза [91].

CD44

Гликопротеин CD44 экспрессирует большинство типов клеток. В частности, его экспрессируют практически все $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоциты, однако уровень экспрессии зависит от степени зрелости лимфоцита [46]. Наивные Т-клетки экспрессируют относительно небольшое количество CD44, которое заметно увеличивается после активации и созревания, причем мощная экспрессия этой молекулы длительное время сохраняется на Т-клетках памяти, в том числе на Trm [5, 17, 41, 124]. CD44 может взаимодействовать с компонентами внеклеточного матрикса: фибронектином, ламинином, коллагеном и, особенно, гиалуроновой кислотой. Гиалуроновая кислота — высокомолекулярный гетерополисахарид, один из основных компонентов внеклеточного матрикса соединительной, эпителиальной и нервной ткани, который также присутствует на эндотелиальных клетках и клетках иммунной системы, содержится в синовиальной жидкости и в лубрикантах фасций мышц [57, 58]. Ее продукция в тканях усиливается при воспалении [71]. Представляется вероятным, что CD44 может облегчать взаимодействие лимфоцитов с гиалуроновой кислотой сосудистой стенки и тем самым способствовать трасмиграции клеток [77], а в тканях — обеспечивать взаимодействие лимфоцитов с внеклеточным матриксом. Было показано, что взаимодействие CD44 с внеклеточным матриксом *in vitro* определяет нормальную морфологию, поляризацию и подвижность клеток [75]. Также была продемонстрирована существенная роль CD44 в выживании $CD4^+$ Th1, однако эта функция не была подтверждена для $CD8^+$ субпопуляции Т-клеток, и полная делеция CD44 не ограничивала накопление $CD8^+$ Trm в ткани после инфекции [5]. Таким образом, высокий уровень экспрессии CD44 характерен для Trm, но ее роль в формировании пула Trm пока не доказана.

Далее изложены сведения о Trm некоторых тканей в различном состоянии, в том числе при инфекциях и в ходе формирования поствакцинального иммунитета.

Trm слизистых желудочно-кишечного тракта (ЖКТ)

Различные ткани могут удерживать циркулирующие Т-лимфоциты, превращая их в Trm, но наиболее эффективными «ловушками» мигрирующих Т-клеток являются слизистые желудка и кишечника. Известно, что эти слизистые оболочки содержат большое количество $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, причем до 90%

этих клеток имеют фенотип Trm [52, 116]. Оптимальные условия развития резидентных Т-клеток в ЖКТ могут быть связаны с постоянной продукцией в слизистой цитокинов TGF-β, IL-7 и IL-15 — важных регуляторов созревания и поддержания численности Trm. Наряду с эндогенными регуляторами, на Trm в ЖКТ существенное влияние оказывают факторы микробиоты [83]. Известно, что мыши гнотобионты отличаются уменьшенным количеством $CD8^+$ Т-клеток, которые, к тому же, демонстрируют слабость синтеза цитокинов и усиленную экспрессию ингибирующих рецепторов [24]. Мыши, свободные от специфических патогенов (SPF), обладают относительно бедным видовым составом микробиома, и, при этом, имеют увеличенное количество наивных Т-лимфоцитов и сниженное количество $CD8^+$ Trm в слизистых по сравнению с дикими мышами или мышами, выращенными вне SPF-вивария. Характерно, что пул $CD8^+$ Trm кишечника у мышей из SPF-вивария восстанавливается при их совместном содержании с дикими собратьями [13]. Влияние микробиоты на $CD8^+$ Trm может быть опосредовано действием молекулярных паттернов патогенов или метаболитов, образующихся в результате микробного переваривания пищи, на клетки врожденного иммунитета и цитокиновую атмосферу или непосредственно на Т-лимфоциты [83]. Так, продукция в кишечнике IL-7 и IL-15 зависит от микрофлоры, а короткоцепочечные жирные кислоты, которые образуются при расщеплении пищевых волокон бактериями, способствуют выживанию и функционированию $CD8^+$ Т-клеток памяти, а также резидентных клеток с супрессорной активностью — $CD4^+$ регуляторных Т-клеток (Treg) кишечника [83]. Микробиота не только влияет на Trm различной антигенной специфичности, но и индуцирует формирование в кишечнике пула Т-клеток, специфичных к собственным антигенам микрофлоры. Поскольку микроорганизмы «нормофлоры» не обладают способностью к внутриклеточному паразитизму, их антигены, в основном, презентируются на молекулах MHC II. Соответственно, специфичные к ним клетки представлены $CD4^+$ Т-лимфоцитами, преимущественно Th17 и необычными Treg, которые наряду с Foxp3 экспрессируют Rorγt — мастер-регулятор созревания Th17 [81, 83, 99]. Также специфичные к микробиоте Т-клетки принадлежат к фолликулярным Т-хелперам и Th1. По-видимому, функцией специфичных к микробиоте Treg является сохранение «нормофлоры» за счет предотвращения чрезмерного иммунного ответа на ее антигены, тогда как Т-хелперы участвуют в продукции IgA и антимикробных факторов, которые ограничивают зону присутствия микробиоты, в частности, предотвращают излишнюю колонизацию слизи и адгезию бактерий на поверхности эпителия. $CD8^+$ Т-клетки, реагирующие на антигены бактерий «нормофлоры» и их бактериофагов, выявляются в малом количестве [34].

Описаны $CD8^+$ Trm, связанные с инфекционными, иммуноопосредованными воспалительными и онкологическими заболеваниями ЖКТ. Так, при язвенном колите обнаружены резидентные популяции $CD8^+$ Т-клеток, обладающие воспалительными (TNFα) или регуляторными (IL-26) транскрипционными модулями. Напротив, при болезни Крона в патологический иммунный ответ на антигены микробиоты вовлечены Th17 и Th1, тогда как количество $CD8^+$ Trm уменьшено [26].

Эксперименты на мышах демонстрируют различную защитную эффективность $CD8^+$ Trm кишечника при разных инфекциях ЖКТ. Так, адаптивный перенос $CD8^+CD44^{hi}$ Т-клеток памяти с рецептором хоминга в кишечник (интегрином α4β7), от нормальных мышей, инфицированных мышиным ротавирусом, в организм иммунодефицитных мышей с хронической ротавирусной инфекцией приводил к излечению реципиентов от заболевания, тогда как менее зрелые $CD8^+CD44^{lo}$ Т-клетки такой способностью не обладали [93]. В то же время норовирус в мышиной модели хронической инфекции уклонялся от действия $CD8^+$ Trm с помощью пространственного разделения с Т-клетками и персистирования в недоступной для Trm иммунопривилегированной зоне слизистой, а также с помощью изменения функциональной активности $CD8^+$ Т-клеток [117].

Эксперименты на мышах и исследования пациентов показывают участие $CD8^+$ Trm слизистой желудка в антигенспецифической защите при *H. pylori*-инфекции [47]. Количество $CD8^+CD69^+CD103^+$ Trm в желудке быстро возрастает после заражения животных хеликобактером, причем их концентрация обратно коррелирует с бактериальной нагрузкой, а после устранения *H. pylori* эти клетки длительно сохраняются в слизистой. Без эрадикации возбудителя при переходе инфекции в хроническую форму количество $CD8^+$ Trm в слизистой желудка постепенно уменьшается, тогда как количество $CD4^+$ клеток возрастает. Как известно, мишенью $CD8^+$ Т-лимфоцитов являются инфицированные внутриклеточными патогенами или трансформированные клетки. Внутриклеточный паразитизм нетипичен для *H. pylori*, но патогенные штаммы этого микроорганизма инъецируют в эпите-

лиальные клетки цитотоксин CagA с онкогенными свойствами, и пептиды этого белка, по-видимому, презентируются на MHC I. Показано, что популяция $CD8^+$ Trm при хеликобактериозе является олигоклональной с большой долей CagA-специфичных лимфоцитов. Предполагается, что $CD8^+$ Trm могут не только бороться с инфекцией, продуцируя провоспалительные цитокины, но и убивать эпителиальные клетки, подвергшиеся действию CagA, тем самым снижая риск развития аденокарциномы желудка.

Trm легких

При анализе трансплантатов было показано, что донорские Т-клетки сохраняются у людей в пересаженных легких до 1 года, постепенно замещаясь Т-клетками реципиента [108]. Trm легких являются клетками с постоянной готовностью к выполнению провоспалительных и цитотоксических функций, поскольку они без дополнительной активации экспрессируют мРНК IFNγ, TNF и гранзима B [42]. Респираторные инфекции приводят к накоплению в легких антигенспецифических Trm [54]. Так, после гриппа, вызванного вирусом гриппа A, в легких людей увеличивается количество $CD4^+$ и $CD8^+$ клеток с фенотипом Trm, а стимуляция *ex vivo* антигенами вируса приводит к пролиферации $CD8^+$ Trm и продукции ими цитокинов IFNγ, TNF и IL-2 [86]. Учитывая изменчивость вируса гриппа, чрезвычайно важными представляются сведения об участии Trm легких в гетеросубтипическом иммунитете, способном защищать организм от вариантов вируса, измененных генетическим дрейфом [110, 129].

При новой коронавирусной инфекции 2019 г. (COVID-19) у пациентов в фазе выздоровления в бронхиальном лаваже возрастает количество $CD4^+$ и $CD8^+$ клеток с фенотипом Trm [38]. В ходе доклинических испытаний моновалентной векторной вакцины ChAd-SARS-CoV-2-S было показано, что ее интраназальное введение индуцирует локальный ответ $CD8^+$ Trm и угнетает репликацию и выделение вируса [40]. В настоящее время эта вакцина прошла регистрацию и используется в Индии для массовой вакцинации. В России на основе двухкомпонентной векторной вакцины Гам-КОВИД-Вак разработана форма для интраназального применения — вакцина Салнавак (применение одобрено Минздравом России ЛП-008297 от 04.07.2022). Местное введение этой вакцины индуцирует у людей системный иммунный ответ [1], однако данных о ее действии на Trm дыхательных путей пока нет. Впрочем, распространенное мнение о том, что для генерации Trm необходима только местная вакцинация, может быть отражением наших упрощенных представлений. Так, в экспериментах с коронавирусной мРНК-вакциной показано, что специфические $CD4^+$ и $CD8^+$ Trm в легких мышей хорошо образуются при внутримышечной иммунизации, а наиболее эффективным способом их индукции оказалось сочетание внутримышечного и интраназального путей введения [53].

Наряду с защитой против вирусных инфекций Trm легких играют свою роль в борьбе с туберкулезом, а также в обеспечении противотуберкулезного поствакцинального иммунитета [54]. Показано, что поствакцинальный иммунитет может быть обеспечен резидентными Т-клетками легких, поскольку блокада притока циркулирующих Т-клеток в легкие не снижает протективной эффективности вакцинации [18, 25]. Для «нацеливания» вакцин против туберкулеза на локальный пул лимфоцитов легких использовали различные вакцины (бациллу Кальмета–Герена, субъединичные вакцины, векторные вакцины, индуцирующие синтез микобактериальных антигенов в клетках, а значит — презентацию пептидов на MHC I), проводили выбор адъювантов, схем и способов введения вакцин, включая такие пути введения, как внутривенный и интраназальный [54]. С помощью этих экспериментальных стратегий вакцинации мышей и приматов нескольким авторам удалось получить устойчивый ответ $CD4^+$ и $CD8^+$ Trm легких, который улучшал защиту от заражения туберкулезными микобактериями.

Trm других органов

Исследования на мышах показали, что долгоживущие $CD8^+$ Trm с защитными свойствами могут образовываться в слизистой женских половых органов при местной иммунизации или инфекции такими патогенами, как вирус простого герпеса-2 (ВПГ-2) [54]. Ранний максимум клиренса ВПГ-2 (в пределах первых 24 часов обострения хронической инфекции) наводит на мысль о значимости клеток-резидентов [94]. Однако эффективность Trm в защите половых путей может быть ограничена их малым количеством и слабой подвижностью внутри слизистой, в результате чего защищенными могут оказаться лишь отдельные ранее пострадавшие участки слизистой [97]. В связи с этим представляется вероятным, что защитные эффекты при ВПГ-2-инфекции половых органов связаны не с контактной цитотоксичностью, а с продукцией резидентными Т-клетками цитокинов [94], тогда как в коже эффективность борь-

бы с герпетической инфекцией связана с цитотоксической активностью многочисленных кожных $CD8^+$ Trm [48].

В мышиной модели цитомегаловирусной инфекции выявлены специфичные к вирусу $CD4^+$ и $CD8^+$ Trm в слюнных железах, но у людей поиск участвующих в ответе Т-клеток, в основном, проводился в крови и миндалинах, где большинство вирус-специфичных клеток обладало «циркуляционным» или промежуточным фенотипом с вариабельной экспрессией CD69 и слабой экспрессией CD103 [54].

При инфекции вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ) специфичные к вирусу полифункциональные эффекторные $CD8^+$ Trm накапливаются в миндалинах, где содержатся В-клетки памяти, латентно инфицированные ВЭБ. Часть Trm с фенотипом $CD69^+CD103^+$ располагается у эпителиального барьера, однако часть Trm, благодаря экспрессии CXCR5, может мигрировать в фолликулы к своим мишеням — инфицированным В-клеткам [78]. Предполагается, что Trm вносят существенный вклад в сдерживание инфекции, обеспечивая ее бессимптомное течение, хотя и не могут полностью устранить ВЭБ из организма.

Заключение

Различные органы содержат $CD8^+$ Trm — долгоживущие Т-клетки эффекторы, которые длительное время сохраняются в инфицированной ранее ткани и не участвуют в рециркуляции. При повторной инфекции эти клетки могут быстро включиться в защиту ткани от вирусов и других внутриклеточных паразитов. $CD8^+$ Trm могут быть индуцированы вакцинацией. «Нацеливание» вакцин на эти клетки, в дополнение к запуску протективного гуморального ответа, представляется желательным для предотвращения инфекций с внутриклеточной локализацией возбудителя.

Список литературы/References

1. Зуев Е.В., Маркова О.А., Кулемзин С.В., Потеряев Д.А., Литвинова Н.А., Короткевич И.А., Григорьева Т.В., Хамитов Р.А. Реакция нейтрализации псевдовирусных частиц вирус-нейтрализующими антителами как биоаналитическая часть клинического исследования вакцины Салнавак® // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 5. С. 853–863. [Zuev E.V., Markova O.A., Kulemzin S.V., Poteryaev D.A., Litvinova N.A., Korotkevich I.A., Grigor'eva T.V., Khamitov R.A. Virus neutralizing antibodies in pseudovirus particle neutralization reaction as a bioanalytical part of a Salnavac® vaccine clinical trial. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2023, vol. 13, no. 5, pp. 853–863. (In Russ.)*] *doi: 10.15789/2220-7619-VNA-8054*
2. Талаев В.Ю. Механизмы управления миграцией миелоидных дендритных клеток и клеток Лангерганса // Иммунология, 2012. Т. 33, № 2. С. 104–112. [Talayev V.Yu. The mechanisms controlling migration of myeloid dendritic cells and Langerhans cells. *Immunologia = Immunologia, 2012, vol. 33, no. 2, pp. 104–112. (In Russ.)*]
3. Талаев В.Ю., Талаева М.В., Воронина Е.В., Заиченко И.Е., Неумоина Н.В., Перфилова К.М., Бабайкина О.Н. Экспрессия хемокиновых рецепторов на Т-хелперах крови при заболеваниях, ассоциированных с Helicobacter pylori: хроническом гастродуодените и язвенной болезни // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 2. С. 295–303. [Talayev V.Yu., Talaeva M.V., Voronina E.V., Zaichenko I.E., Neumoyna N.V., Perfilova K.M., Babaykina O.N. Chemokine receptor expression on peripheral blood T-helper cells in Helicobacter pylori-associated diseases: chronic gastroduodenitis and peptic ulcer disease. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2019, vol. 9, no. 2, pp. 295–303. (In Russ.)*] *doi: 10.15789/2220-7619-2019-2-295-303*
4. Arens R., Schoenberger S.P. Plasticity in programming of effector and memory CD8+ T-cell formation. *Immunol. Rev., 2010, vol. 235, no. 1, pp. 190–205. doi: 10.1111/j.0105-2896.2010.00899.x*
5. Baaten B.J.G., Li C.R., Bradley L.M. Multifaceted regulation of T cells by CD44. *Commun. Integr. Biol., 2010, vol. 3, no. 6, pp. 508–512. doi: 10.4161/cib.3.6.13495*
6. Bank I., Book M., Ware R. Functional role of VLA-1 (CD49A) in adhesion, cation-dependent spreading, and activation of cultured human T lymphocytes. *Cell. Immunol., 1994, vol. 156, no. 2, pp. 424–437. doi: 10.1006/cimm.1994.1187*
7. Bankovich A.J., Shiow L.R., Cyster J.G. CD69 suppresses sphingosine 1-phosophate receptor-1 (S1P1) function through interaction with membrane helix 4. *J. Biol. Chem., 2010, vol. 285, no. 29, pp. 22328–22337. doi: 10.1074/jbc.M110.123299*
8. Bartolome-Casado R., Landsverk O.J.B., Chauhan S.K., Richter L., Phung D., Greiff V., Risnes L.F., Yao Y., Neumann R.S., Yaqub S., Øyen O., Horneland R., Aandahl E.M., Paulsen V., Sollid L.M., Qiao S.W., Baekkevold E.S., Jahnsen F.L. Resident memory CD8 T cells persist for years in human small intestine. *J. Exp. Med., 2019, vol. 216, no. 10, pp. 2412–2426. doi: 10.1084/jem.20190414*
9. Becker T.C., Wherry E.J., Boone D., Murali-Krishna K., Antia R., Ma A., Ahmed R. Interleukin 15 is required for proliferative renewal of virus-specific memory CD8 T cells. *J. Exp. Med., 2002, vol. 195, no. 12, pp. 1541–1548. doi: 10.1084/jem.20020369*
10. Behr F.M., Kragten N.A.M., Wesselink T.H., Nota B., van Lier R.A.W., Amsen D., Stark R., Hombrink P., van Gisbergen K.P.J.M. Blimp-1 Rather Than Hobit Drives the Formation of Tissue-Resident Memory CD8+ T Cells in the Lungs. *Front. Immunol., 2019, vol. 10: 400. doi: 10.3389/fimmu.2019.00400*
11. Behr F.M., Parga-Vidal L., Kragten N.A.M., van Dam T.J.P., Wesselink T.H., Sheridan B.S., Arens R., van Lier R.A.W., Stark R., van Gisbergen K.P.J.M. Tissue-resident memory CD8+ T cells shape local and systemic secondary T cell responses. *Nat. Immunol., 2020, vol. 21, no. 9, pp. 1070–1081. doi: 10.1038/s41590-020-0723-4*
12. Ben-Horin S., Bank I. The role of very late antigen-1 in immune-mediated inflammation. *Clin. Immunol., 2004, vol. 113, no. 2, pp. 119–129. doi: 10.1016/j.clim.2004.06.007*

13. Beura L., Hamilton S., Bi K., Schenkel J.M., Odumade O.A., Casey K.A., Thompson E.A., Fraser K.A., Rosato P.C., Filali-Mouhim A., Sekaly R.P., Jenkins M.K., Vezys V., Haining W.N., Jameson S.C., Masopust D. Normalizing the environment recapitulates adult human immune traits in laboratory mice. *Nature, 2016, vol. 532, no. 7599, pp. 512–516. doi: 10.1038/nature17655*
14. Beura L.K., Fares-Frederickson N.J., Steinert E.M., Scott M.C., Thompson E.A., Fraser K.A., Schenkel J.M., Vezys V., Masopust D. CD4+ resident memory T cells dominate immunosurveillance and orchestrate local recall responses. *J. Exp. Med., 2019, vol. 216, no. 5, pp. 1214–1229. doi: 10.1084/jem.20181365*
15. Bieber T., Rieger A., Stingl G., Sander E., Wanek P., Strobel I. CD69, an early activation antigen on lymphocytes, is constitutively expressed by human epidermal Langerhans cells. *J. Invest. Dermatol., 1992, vol. 98, no. 5, pp. 771–776. doi: 10.1111/1523-1747*
16. Boyman O., Hefti H.P., Conrad C., Nickoloff B.J., Suter M., Nestle F.O. Spontaneous development of psoriasis in a new animal model shows an essential role for resident T cells and tumor necrosis factor α. *J. Exp. Med., 2004, vol. 199, no. 5, pp. 731–736. doi: 10.1084/jem.20031482*
17. Budd R.C., Cerottini J.C., Macdonald H.R. Phenotypic identification of memory cytolytic T lymphocytes in a subset of Lyt-2+ cells. *J. Immunol., 1987, vol. 138, no. 4, pp. 1009–1013.*
18. Bull N.C., Kaveh D.A., Garcia-Pelayo M.C., Stylianou E., McShane H., Hogarth P.J. Induction and maintenance of a phenotypically heterogeneous lung tissue-resident CD4+ T cell population following BCG immunisation. *Vaccine, 2018, vol. 36, no. 39, pp. 5625–5635. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.07.035*
19. Cepek K.L., Parker C.M., Madara J.L., Brenner M.B. Integrin alpha E beta 7 mediates adhesion of T lymphocytes to epithelial cells. *J. Immunol., 1993, vol. 150, no. 8, pp. 3459–3470.*
20. Chen J., He Y., Tu L., Duan L. Dual immune functions of IL-33 in inflammatory bowel disease. *Histol. Histopathol., 2020, vol. 35, no. 2, pp. 137–146. doi: 10.14670/HH-18-149*
21. Cheuk S., Schlums H., Gallais Serezal I., Martini E., Chiang S.C., Marquardt N., Gibbs A., Detlofsson E., Introini A., Forkel M., Höög C., Tjernlund A., Michaëlsson J., Folkersen L., Mjösberg J., Blomqvist L., Ehrström M., Ståhle M., Bryceson Y.T., Eidsmo L. CD49a expression defines tissue-resident CD8+ T cells poised for cytotoxic function in human skin. *Immunity, 2017, vol. 46, no. 2, pp. 287–300. doi: 10.1016/j.immuni.2017.01.009*
22. Christo S.N., Park S.L., Mueller S.N., Mackay L.K. The Multifaceted Role of Tissue-Resident Memory T Cells. *Annu. Rev. Immunol., 2024, vol. 42, no. 1, pp. 317–345. doi: 10.1146/annurev-immunol-101320-020220*
23. Clark R.A., Chong B., Mirchandani N., Brinster N.K., Yamanaka K., Dowgiert R.K., Kupper T.S. The vast majority of CLA+ T cells are resident in normal skin. *J. Immunol., 2006, vol. 176, no. 7, pp. 4431–4439. doi: 10.4049/jimmunol.176.7.4431*
24. Clarke T.B., Davis K.M., Lysenko E.S., Zhou A.Y., Yu Y., Weiser J.N. Recognition of peptidoglycan from the microbiota by Nod1 enhances systemic innate immunity. *Nat. Med., 2010, vol. 16, no. 2, pp. 228–231. doi: 10.1038/nm.2087*
25. Connor L.M., Harvie M.C., Rich F.J., Quinn K.M., Brinkmann V., Le Gros G., Kirman J.R. A key role for lung-resident memory lymphocytes in protective immune responses after BCG vaccination. *Eur. J. Immunol., 2010, vol. 40, no. 9, pp. 2482–2492. doi: 10.1002/eji.200940279*
26. Corridoni D., Antanaviciute A., Gupta T., Fawkner-Corbett D., Aulicino A., Jagielowicz M., Parikh K., Repapi E., Taylor S., Ishikawa D., Hatano R., Yamada T., Xin W., Slawinski H., Bowden R., Napolitani G., Brain O., Morimoto C., Koohy H., Simmons A. Single-cell atlas of colonic CD8+ T cells in ulcerative colitis. *Nat. Med., 2020, vol. 26, no. 9, pp. 1480–1490. doi: 10.1038/s41591-020-1003-4*
27. Croft M., So T., Duan W., Soroosh P. The significance of OX40 and OX40L to T-cell biology and immune disease. *Immunol. Rev., 2009, vol. 229, no. 1, pp. 173–191. doi: 10.1111/j.1600-065X.2009.00766.x*
28. De Leur K., Dieterich M., Hesselink D.A., Corneth O.B.J., Dor F.J.M.F., de Graav G.N., Peeters A.M.A., Mulder A., Kimenai H.J.A.N., Claas F.H.J., Clahsen-van Groningen M.C., van der Laan L.J.W., Hendriks R.W., Baan C.C. Characterization of donor and recipient CD8 tissue-resident memory T cells in transplant nephrectomies. *Sci. Rep., 2019, vol. 9, no. 1: 5984. doi: 10.1038/s41598-019-42401-9*
29. Djenidi F., Adam J., Goubar A., Durgeau A., Meurice G., de Montpréville V., Validire P., Besse B., Mami-Chouaib F. CD8+CD103+ tumor-infiltrating lymphocytes are tumor-specific tissue-resident memory T cells and a prognostic factor for survival in lung cancer patients. *J. Immunol., 2015, vol. 194, no. 7, pp. 3475–3486. doi: 10.4049/jimmunol.1402711*
30. Drake L.Y., Kita H. IL-33: biological properties, functions, and roles in airway disease. *Immunol. Rev., 2017, vol. 278, no. 1, pp. 173–184. doi: 10.1111/imr.12552*
31. El-Asady R., Yuan R., Liu K., Wang D., Gress R.E., Lucas P.J., Drachenberg C.B., Hadley G.A. TGF-β-dependent CD103 expression by CD8+ T cells promotes selective destruction of the host intestinal epithelium during graft-versus-host disease. *J. Exp. Med., 2005, vol. 201, no. 10, pp. 1647–1657. doi: 10.1084/jem.20041044*
32. Ely K.H., Cookenham T., Roberts A.D., Woodland D.L. Memory T cell populations in the lung airways are maintained by continual recruitment. *J. Immunol., 2006, vol. 176, no. 1, pp. 537–543. doi: 10.4049/jimmunol.176.1.537*
33. Ericsson A., Svensson M., Arya A., Agace W.W. CCL25/CCR9 promotes the induction and function of CD103 on intestinal intraepithelial lymphocytes. *Eur. J. Immunol., 2004, vol. 34, no. 10, pp. 2720–2729. doi: 10.1002/eji.200425125*
34. Fluckiger A., Daillère R., Sassi M., Sixt B.S., Liu P., Loos F., Richard C., Rabu C., Alou M.T., Goubet A.G., Lemaitre F., Ferrere G., Derosa L., Duong C.P.M., Messaoudene M., Gagné A., Joubert P., De Sordi L., Debarbieux L., Simon S., Scarlata C.M., Ayyoub M., Palermo B., Facciolo F., Boidot R., Wheeler R., Boneca I.G., Sztupinszki Z., Papp K., Csabai I., Pasolli E., Segata N., Lopez-Otin C., Szallasi Z., Andre F., Iebba V., Quiniou V., Klatzmann D., Boukhalil J., Khelaifia S., Raoult D., Albiges L., Escudier B., Eggermont A., Mami-Chouaib F., Nistico P., Ghiringhelli F., Routy B., Labarrière N., Cattoir V., Kroemer G., Zitvogel L. Cross-reactivity between tumor MHC class I-restricted antigens and an enterococcal bacteriophage. *Science, 2020, vol. 369, no. 6506, pp. 936–942. doi: 10.1126/science.aax0701*

35. Franciszkiewicz K., Le Floc'h A., Boutet M., Vergnon I., Schmitt A., Mami-Chouaib F. CD103 or LFA-1 engagement at the immune synapse between cytotoxic T cells and tumor cells promotes maturation and regulates T-cell effector functions. *Cancer Res., 2013, vol. 73, no. 2, pp. 617–628. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2569*
36. Franciszkiewicz K., Le Floc'h A., Jalil A., Vigant F., Robert T., Vergnon I., Mackiewicz A., Benihoud K., Validire P., Chouaib S., Combadière C., Mami-Chouaib F. Intratumoral induction of CD103 triggers tumor-specific CTL function and CCR5-dependent T-cell retention. *Cancer Res., 2009, vol. 69, no. 15, pp. 6249–6255. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3571*
37. Gebhardt T., Wakim L.M., Eidsmo L., Reading P.C., Heath W.R., Carbone F.R. Memory T cells in nonlymphoid tissue that provide enhanced local immunity during infection with herpes simplex virus. *Nat. Immunol., 2009, vol. 10, no. 5, pp. 524–530. doi: 10.1038/ni.1718*
38. Grau-Expósito J., Sánchez-Gaona N., Massana N., Suppi M., Astorga-Gamaza A., Perea D., Rosado J., Falcó A., Kirkegaard C., Torrella A., Planas B., Navarro J., Suanzes P., Álvarez-Sierra D., Ayora A., Sansano I., Esperalba J., Andrés C., Antón A., Ramón Y. Cajal S., Almirante B., Pujol-Borrell R., Falcó V., Burgos J., Buzón M.J., Genescà M. Peripheral and lung resident memory T cell responses against SARS-CoV-2. *Nat. Commun., 2021, vol. 12, no. 1: 3010. doi: 10.1038/s41467-021-23333-3*
39. Hadley G.A., Bartlett S.T., Via C.S., Rostapshova E.A., Moainie S. The epithelial cell-specific integrin, CD103 (alpha E integrin), defines a novel subset of alloreactive CD8+ CTL. *J. Immunol., 1997, vol. 159, no. 8, pp. 3748–3756.*
40. Hassan A.O., Shrihari S., Gorman M.J., Ying B., Yuan D., Raju S., Chen R.E., Dmitriev I.P., Kashentseva E., Adams L.J., Mann C., Davis-Gardner M.E., Suthar M.S., Shi P.Y., Saphire E.O., Fremont D.H., Curiel D.T., Alter G., Diamond M.S. An intranasal vaccine durably protects against SARS-CoV-2 variants in mice. *Cell Rep., 2021, vol. 36, no. 6: 109452. doi: 10.1016/j.celrep.2021.109452*
41. Hogan R.J., Usherwood E.J., Zhong W., Roberts A.A., Dutton R.W., Harmsen A.G., Woodland D.L. Activated antigen-specific CD8+ T cells persist in the lungs following recovery from respiratory virus infections. *J. Immunol., 2001, vol. 166, no. 3, pp. 1813–1822. doi: 10.4049/jimmunol.166.3.1813*
42. Hombrink P., Helbig C., Backer R.A., Piet B., Oja A.E., Stark R., Brasser G., Jongejan A., Jonkers R.E., Nota B., Basak O., Clevers H.C., Moerland P.D., Amsen D., van Lier R.A. Programs for the persistence, vigilance and control of human CD8 lung-resident memory T cells. *Nat. Immunol., 2016, vol. 17, no. 12, pp. 1467–1478. doi: 10.1038/ni.3589*
43. Iwata M., Hirakiyama A., Eshima Y., Kagechika H., Kato C., Song S.Y. Retinoic acid imprints gut-homing specificity on T cells. *Immunity, 2004, vol. 21, no. 4, pp. 527–538. doi: 10.1016/j.immuni.2004.08.011*
44. Jiang X., Clark R.A., Liu L., Wagers A.J., Fuhlbrigge R.C., Kupper T.S. Skin infection generates non-migratory memory CD8+ T(RM) cells providing global skin immunity. *Nature, 2012, vol. 483, no. 7388, pp. 227–231. doi: 10.1038/nature10851*
45. Kakaradov B., Arsenio J., Widjaja C.E., He Z., Aigner S., Metz P.J., Yu B., Wehrens E.J., Lopez J., Kim S.H., Zuniga E.I., Goldrath A.W., Chang J.T., Yeo G.W. Early transcriptional and epigenetic regulation of CD8+ T cell differentiation revealed by single-cell RNA sequencing. *Nat. Immunol., 2017, vol. 18, no. 4, pp. 422–432. doi: 10.1038/ni.3688*
46. Kennel S.J., Lankford T.K., Foote L.J., Shinpock S.G., Stringer C. CD44 expression on murine tissues. *J. Cell Sci., 1993, vol. 104, no. 2, pp. 373–382. doi: 10.1242/jcs.104.2.373*
47. Koch M.R.A., Gong R., Friedrich V., Engelsberger V., Kretschmer L., Wanisch A., Jarosch S., Ralser A., Lugen B., Quante M., Vieth M., Vasapolli R., Schulz C., Buchholz V.R., Busch D.H., Mejías-Luque R., Gerhard M. CagA-specific Gastric CD8+ Tissue-Resident T Cells Control Helicobacter pylori During the Early Infection Phase. *Gastroenterology, 2023, vol. 164, no. 4, pp. 550–566. doi: 10.1053/j.gastro.2022.12.016*
48. Koelle D.M., Posavad C.M., Barnum G.R., Johnson M.L., Frank J.M., Corey L. Clearance of HSV-2 from recurrent genital lesions correlates with infiltration of HSV-specific cytotoxic T lymphocytes. *J. Clin. Invest., 1998, vol. 101, no. 7, pp. 1500–1508. doi: 10.1172/JCI1758*
49. Kohlmeier J.E., Miller S.C., Smith J., Lu B., Gerard C., Cookenham T., Roberts A.D., Woodland D.L. The chemokine receptor CCR5 plays a key role in the early memory CD8+ T cell response to respiratory virus infections. *Immunity, 2008, vol. 29, no. 1, pp. 101–113. doi: 10.1016/j.immuni.2008.05.011*
50. Kok L., Masopust D., Schumacher T.N. The precursors of CD8 tissue resident memory T cells: from lymphoid organs to infected tissues. *Nat. Rev. Immunol., 2022, vol. 22, no. 5, pp. 283–293. doi: 10.1038/s41577-021-00590-3*
51. Kuhn K. Basement membrane (type IV) collagen. *Matrix Biol., 1995, vol. 14, no. 6, pp. 439–445. doi: 10.1016/0945-053X(95)90001-2*
52. Kumar B.V., Ma W., Miron M., Granot T., Guyer R.S., Carpenter D.J., Senda T., Sun X., Ho S.H., Lerner H., Friedman A.L., Shen Y., Farber D.L. Human Tissue-Resident Memory T Cells Are Defined by Core Transcriptional and Functional Signatures in Lymphoid and Mucosal Sites. *Cell Rep., 2017, vol. 20, no. 13, pp. 2921–2934. doi: 10.1016/j.celrep.2017.08.078*
53. Künzli M., O'Flanagan S.D., LaRue M., Talukder P., Dileepan T., Stolley J.M., Soerens A.G., Quarnstrom C.F., Wijeyesinghe S., Ye Y., McPartlan J.S., Mitchell J.S., Mandl C.W., Vile R., Jenkins M.K., Ahmed R., Vezys V., Chahal J.S., Masopust D. Route of self-amplifying mRNA vaccination modulates the establishment of pulmonary resident memory CD8 and CD4 T cells. *Sci. Immunol., 2022, vol. 7, no. 78: eadd3075. doi: 10.1126/sciimmunol.add3075*
54. Lange J., Rivera-Ballesteros O., Buggert M. Human mucosal tissue-resident memory T cells in health and disease. *Mucosal Immunol., 2022, vol. 15, no. 3, pp. 389–397. doi: 10.1038/s41385-021-00467-7*
55. Lee Y.T., Suarez-Ramirez J.E., Wu T., Redman J.M., Bouchard K., Hadley G.A., Cauley L.S. Environmental and antigen receptor-derived signals support sustained surveillance of the lungs by pathogen-specific cytotoxic T lymphocytes. *J. Virol., 2011, vol. 85, no. 9, pp. 4085–4094. doi: 10.1128/JVI.02493-10*
56. Leignadier J., Hardy M.P., Cloutier M., Rooney J., Labrecque N. Memory T-lymphocyte survival does not require T-cell receptor expression. *Proc. Natl Acad. Sci. USA, 2008, vol. 105, no. 51, pp. 20440–20445. doi: 10.1073/pnas.0806289106*
57. Lesley J., Hascall V.C., Tammi M., Hyman R. Hyaluronan binding by cell surface CD44. *J. Biol. Chem., 2000, vol. 275, no. 35, pp. 26967–26975. doi: 10.1074/jbc.M002527200*

58. Lesley J., Howes N., Perschl A., Hyman R. Hyaluronan binding function of CD44 is transiently activated on T cells during an *in vivo* immune response. *J. Exp. Med., 1994, vol. 180, no. 1, pp. 383–387. doi: 10.1084/jem.180.1.383*
59. Lian C.G., Bueno E.M., Granter S.R., Laga A.C., Saavedra A.P., Lin W.M., Susa J.S., Zhan Q., Chandraker A.K., Tullius S.G., Pomahac B., Murphy G.F. Biomarker evaluation of face transplant rejection: association of donor T cells with target cell injury. *Mod. Pathol., 2014, vol. 27, no. 6, pp. 788–799. doi: 10.1038/modpathol.2013.249*
60. Mackay L.K., Braun A., Macleod B.L., Collins N., Tebartz C., Bedoui S., Carbone F.R., Gebhardt T. Cutting edge: CD69 interference with sphingosine-1-phosphate receptor function regulates peripheral T cell retention. *J. Immunol., 2015, vol. 194, no. 5, pp. 2059–2063. doi: 10.4049/jimmunol.1402256*
61. Mackay L.K., Minnich M., Kragten N.A., Liao Y., Nota B., Seillet C., Zaid A., Man K., Preston S., Freestone D., Braun A., Wynne-Jones E., Behr F.M., Stark R., Pellicci D.G., Godfrey D.I., Belz G.T., Pellegrini M., Gebhardt T., Busslinger M., Shi W., Carbone F.R., van Lier R.A., Kallies A., van Gisbergen K.P. Hobit and Blimp1 instruct a universal transcriptional program of tissue residency in lymphocytes. *Science, 2016, vol. 352, no. 6284, pp. 459–463. doi: 10.1126/science.aad2035*
62. Mackay L.K., Rahimpour A., Ma J.Z., Collins N., Stock A.T., Hafon M.L., Vega-Ramos J., Lauzurica P., Mueller S.N., Stefanovic T., Tscharke D.C., Heath W.R., Inouye M., Carbone F.R., Gebhardt T. The developmental pathway for CD103(+) CD8+ tissue-resident memory T cells of skin. *Nat. Immunol., 2013, vol. 14, no. 12, pp. 1294–1301. doi: 10.1038/ni.2744*
63. Mackay L.K., Stock A.T., Ma J.Z., Jones C.M., Kent S.J., Mueller S.N., Heath W.R., Carbone F.R., Gebhardt T. Long-lived epithelial immunity by tissue-resident memory T (TRM) cells in the absence of persisting local antigen presentation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA, 2012, vol. 109, no. 18, pp. 7037–7042. doi: 10.1073/pnas.1202288109*
64. Malik B.T., Byrne K.T., Vella J.L., Zhang P., Shabaneh T.B., Steinberg S.M., Molodtsov A.K., Bowers J.S., Angeles C.V., Paulos C.M., Huang Y.H., Turk M.J. Resident memory T cells in the skin mediate durable immunity to melanoma. *Sci. Immunol., 2017, vol. 2, no. 10: eaam6346. doi: 10.1126/sciimmunol.aam6346*
65. Mani V., Bromley S.K., Äijö T., Mora-Buch R., Carrizosa E., Warner R.D., Hamze M., Sen D.R., Chasse A.Y., Lorant A., Griffith J.W., Rahimi R.A., McEntee C.P., Jeffrey K.L., Marangoni F., Travis M.A., Lacy-Hulbert A., Luster A.D., Mempel T.R. Migratory DCs activate TGF-β to precondition naïve CD8+ T cells for tissue-resident memory fate. *Science, 2019, vol. 366, no. 6462: eaav5728. doi: 10.1126/science.aav5728*
66. Martin M.D., Condotta S.A., Harty J.T., Badovinac V.P. Population dynamics of naive and memory CD8 T cell responses after antigen stimulations *in vivo*. *J. Immunol., 2012, vol. 188, no. 3, pp. 1255–1265. doi: 10.4049/jimmunol.1101579*
67. Masopust D., Choo D., Vezys V., Hofmann M., Pircher H. E-cadherin promotes accumulation of a unique memory CD8 T-cell population in murine salivary glands. *Proc. Natl Acad. Sci. USA, 2011, vol. 108, no. 40, pp. 16741–16746. doi: 10.1073/pnas.1107200108*
68. Masopust D., Choo D., Vezys V., Wherry E.J., Duraiswamy J., Akondy R., Wang J., Casey K.A., Barber D.L., Kawamura K.S., Fraser K.A., Webby R.J., Brinkmann V., Butcher E.C., Newell K.A., Ahmed R. Dynamic T cell migration program provides resident memory within intestinal epithelium. *J. Exp. Med., 2010, vol. 207, no. 3, pp. 553–564. doi: 10.1084/jem.20090858*
69. Masopust D., Vezys V., Wherry E.J., Barber D.L., Ahmed R. Cutting edge: gut microenvironment promotes differentiation of a unique memory CD8 T cell population. *J. Immunol., 2006, vol. 176, no. 4, pp. 2079–2083. doi: 10.4049/jimmunol.176.4.2079*
70. Meharra E.J., Schon M., Hassett D., Parker C., Havran W., Gardner H. Reduced gut intraepithelial lymphocytes in VLA1 null mice. *Cell Immunol., 2000, vol. 201, no. 1, pp. 1–5. doi: 10.1006/cimm.2000.1630*
71. Mikecz K., Brennan F.R., Kim J.H., Glant T.T. Anti-CD44 treatment abrogates tissue oedema and leukocyte infiltration in murine arthritis. *Nat. Med., 1995, vol. 1, no. 6, pp. 558–563. doi: 10.1038/nm0695-558*
72. Milner J.J., Toma C., He Z., Kurd N.S., Nguyen Q.P., McDonald B., Quezada L., Widjaja C.E., Witherden D.A., Crowl J.T., Shaw L.A., Yeo G.W., Chang J.T., Omilusik K.D., Goldrath A.W. Heterogenous populations of tissue-resident CD8+ T cells are generated in response to infection and malignancy. *Immunity, 2020, vol. 52, no. 5, pp. 808–824. doi: 10.1016/j.immuni.2020.04.007*
73. Milner J.J., Toma C., Yu B., Zhang K., Omilusik K., Phan A.T., Wang D., Getzler A.J., Nguyen T., Crotty S., Wang W., Pipkin M.E., Goldrath A.W. Runx3 programs CD8+ T cell residency in non-lymphoid tissues and tumours. *Nature, 2017, vol. 552, no. 7684, pp. 253–257. doi: 10.1038/nature24993*
74. Mora J.R., Bono M.R., Manjunath N., Weninger W., Cavanagh L.L., Rosemblatt M., Von Andrian U.H. Selective imprinting of gut-homing T cells by Peyer's patch dendritic cells. *Nature, 2003, vol. 424, no. 6944, pp. 88–93. doi: 10.1038/nature01726*
75. Mrass P., Kinjyo I., Ng L.G., Reiner S.L., Pure E., Weninger W. CD44 mediates successful interstitial navigation by killer T cells and enables efficient antitumor immunity. *Immunity, 2008, vol. 29, no. 6, pp. 971–985. doi: 10.1016/j.immuni.2008.10.015*
76. Murali-Krishna K., Lau L.L., Sambhara S., Lemonnier F., Altman J., Ahmed R. Persistence of memory CD8 T cells in MHC class I-deficient mice. *Science, 1999, vol. 286, no. 5443, pp. 1377–1381. doi: 10.1126/science.286.5443.1377*
77. Nandi A., Estess P., Siegelman M. Bimolecular complex between rolling and firm adhesion receptors required for cell arrest; CD44 association with VLA-4 in T cell extravasation. *Immunity, 2004, vol. 20, no. 4, pp. 455–465. doi: 10.1016/S1074-7613(04)00077-9*
78. Niessl J., Sekine T., Lange J., Konya V., Forkel M., Maric J., Rao A., Mazzurana L., Kokkinou E., Weigel W., Llewellyn-Lacey S., Hodcroft E.B., Karlsson A.C., Fehrm J., Sundman J., Price D.A., Mjösberg J., Friberg D., Buggert M. Identification of resident memory CD8+ T cells with functional specificity for SARS-CoV-2 in unexposed oropharyngeal lymphoid tissue. *Sci. Immunol., 2021, vol. 6, no. 64: eabk0894. doi: 10.1126/sciimmunol.abk0894*
79. Nizard M., Roussel H., Diniz M.O., Karaki S., Tran T., Voron T., Dransart E., Sandoval F., Riquet M., Rance B., Marcheteau E., Fabre E., Mandavit M., Terme M., Blanc C., Escudie J.B., Gibault L., Barthes F.L.P., Granier C., Ferreira L.C.S., Badoual C., Johannes L., Tartour E. Induction of resident memory T cells enhances the efficacy of cancer vaccine. *Nat. Commun., 2017, vol. 8: 15221. doi: 10.1038/ncomms15221*
80. Obar J.J., Lefrançois L. Memory CD8+ T cell differentiation. *Ann. N. Y. Acad. Sci., 2010, vol. 1183, no. 1, pp. 251–266. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.05126.x*
81. Ohnmacht C., Park J.H., Cording S., Wing J.B., Atarashi K., Obata Y., Gaboriau-Routhiau V., Marques R., Dulauroy S., Fedoseeva M., Busslinger M., Cerf-Bensussan N., Boneca I.G., Voehringer D., Hase K., Honda K., Sakaguchi S., Eberl G.

Mucosal immunology. The microbiota regulates type 2 immunity through RORγt T cells. *Science, 2015, vol. 349, no. 6251, pp. 989–993. doi: 10.1126/science.aac4263*
82. Osborn J.F., Hobbs S.J., Mooster J.L., Khan T.N., Kilgore A.M., Harbour J.C., Nolz J.C. Central memory CD8+ T cells become CD69+ tissue-residents during viral skin infection independent of CD62L-mediated lymph node surveillance. *PLoS Pathog., 2019, vol. 15, no. 3: e1007633. doi: 10.1371/journal.ppat.1007633*
83. Overacre-Delgoffe A.E., Hand T.W. Regulation of tissue-resident memory T cells by the Microbiota. *Mucosal Immunol., 2022, vol. 15, no. 3, pp. 408–417. doi: 10.1038/s41385-022-00491-1*
84. Parga-Vidal L., Behr F.M., Kragten N.A.M., Nota B., Wesselink T.H., Kavazović I., Covill L.E., Schuller M.B.P., Bryceson Y.T., Wensveen F.M., van Lier R.A.W., van Dam T.J.P., Stark R., van Gisbergen K.P.J.M. Hobit identifies tissue-resident memory T cell precursors that are regulated by Eomes. *Sci. Immunol., 2021, vol. 6, no. 62: eabg3533. doi: 10.1126/sciimmunol.abg3533*
85. Pham T.H., Okada T., Matloubian M., Lo C.G., Cyster J.G. S1P1 receptor signaling overrides retention mediated by G alpha i-coupled receptors to promote T cell egress. *Immunity, 2008, vol. 28, no. 1, pp. 122–133. doi: 10.1016/j.immuni.2007.11.017*
86. Pizzolla A., Nguyen T.H., Sant S., Jaffar J., Loudovaris T., Mannering S.I., Thomas P.G., Westall G.P., Kedzierska K., Wakim L.M. Influenza-specific lung-resident memory T cells are proliferative and polyfunctional and maintain diverse TCR profiles. *J. Clin. Investig., 2018, vol. 128, no. 2, pp. 721–733. doi: 10.1172/JCI96957*
87. Purwar R., Campbell J., Murphy G., Richards W.G., Clark R.A., Kupper T.S. Resident memory T cells (T(RM)) are abundant in human lung: diversity, function, and antigen specificity. *PLoS One, 2011, vol. 6, no. 1: e16245. doi: 10.1371/journal.pone.0016245*
88. Ray S.J., Franki S.N., Pierce R.H., Dimitrova S., Koteliansky V., Sprague A.G., Doherty P.C., de Fougerolles A.R., Topham D.J. The collagen binding alpha1beta1 integrin VLA-1 regulates CD8 T cell-mediated immune protection against heterologous influenza infection. *Immunity, 2004, vol. 20, no. 2, pp. 167–179. doi: 10.1016/S1074-7613(04)00021-4*
89. Reddy M., Eirikis E., Davis C., Davis H.M., Prabhakar U. Comparative analysis of lymphocyte activation marker expression and cytokine secretion profile in stimulated human peripheral blood mononuclear cell cultures: an *in vitro* model to monitor cellular immune function. *J. Immunol. Methods, 2004, vol. 293, no. 1–2, pp. 127–142. doi: 10.1016/j.jim.2004.07.006*
90. Richter M., Ray S.J., Chapman T.J., Austin S.J., Rebhahn J., Mosmann T.R., Gardner H., Kotelianski V., de Fougerolles A.R., Topham D.J. Collagen distribution and expression of collagen-binding alpha1beta1 (VLA-1) and alpha2beta1 (VLA-2) integrins on CD4 and CD8 T cells during influenza infection. *J. Immunol., 2007, vol. 178, no. 7, pp. 4506–4516. doi: 10.4049/jimmunol.178.7.4506*
91. Richter M.V., Topham D.J. The alpha1beta1 integrin and TNF receptor II protect airway CD8+ effector T cells from apoptosis during influenza infection. *J. Immunol., 2007, vol. 179, no. 8, pp. 5054–5063. doi: 10.4049/jimmunol.179.8.5054*
92. Roberts A.I., Brolin R.E., Ebert E.C. Integrin alpha1beta1 (VLA-1) mediates adhesion of activated intraepithelial lymphocytes to collagen. *Immunology, 1999, vol. 97, no. 4, pp. 679–685. doi: 10.1046/j.1365-2567.1999.00812.x*
93. Rosé J.R., Williams M.B., Rott L.S., Butcher E.C., Greenberg H.B. Expression of the mucosal homing receptor alpha4beta7 correlates with the ability of CD8+ memory T cells to clear rotavirus infection. *J. Virol., 1998, vol. 72, no. 1, pp. 726–730. doi: 10.1128/JVI.72.1.726-730.1998*
94. Roychoudhury P., Swan D.A., Duke E., Corey L., Zhu J., Davé V., Spuhler L.R., Lund J.M., Prlic M., Schiffer J.T. Tissue-resident T cell-derived cytokines eliminate herpes simplex virus-2-infected cells. *J. Clin. Invest., 2020, vol. 130, no. 6, pp. 2903–2919. doi: 10.1172/JCI132583*
95. Sathaliyawala T., Kubota M., Yudanin N., Turner D., Camp P., Thome J.J., Bickham K.L., Lerner H., Goldstein M., Sykes M., Kato T., Farber D.L. Distribution and compartmentalization of human circulating and tissue-resident memory T cell subsets. *Immunity, 2013, vol. 38, no. 1, pp. 187–197. doi: 10.1016/j.immuni.2012.09.020*
96. Schenkel J.M., Fraser K.A., Vezys V., Masopust D. Sensing and alarm function of resident memory CD8 T cells. *Nat. Immunol., 2013, vol. 14, no. 5, pp. 509–513. doi: 10.1038/ni.2568*
97. Schiffer J.T., Swan D.A., Roychoudhury P., Lund J.M., Prlic M., Zhu J., Wald A., Corey L. A Fixed Spatial Structure of CD8+ T Cells in Tissue during Chronic HSV-2 Infection. *J. Immunol., 2018, vol. 201, no. 5, pp. 1522–1535. doi: 10.4049/jimmunol.1800471*
98. Schluns K.S., Lefrançois L. Cytokine control of memory T-cell development and survival. *Nat. Rev. Immunol., 2003, vol. 3, no. 4, pp. 269–279. doi: 10.1038/nri1052*
99. Sefik E., Geva-Zatorsky N., Oh S., Konnikova L., Zemmour D., McGuire A.M., Burzyn D., Ortiz-Lopez A., Lobera M., Yang J., Ghosh S., Earl A., Snapper S.B., Jupp R., Kasper D., Mathis D., Benoist C. Mucosal immunology. Individual intestinal symbionts induce a distinct population of RORγ+ regulatory T cells. *Science, 2015, vol. 349, no. 6251, pp. 993–997. doi: 10.1126/science.aaa9420*
100. Sheridan B.S., Lefrançois L. Regional and mucosal memory T cells. *Nat. Immunol., 2011, vol. 12, no. 6, pp. 485–491. doi: 10.1038/ni.2029*
101. Sheridan B.S., Pham Q.M., Lee Y.T., Cauley L.S., Puddington L., Lefrançois L. Oral infection drives a distinct population of intestinal resident memory CD8+ T cells with enhanced protective function. *Immunity, 2014, vol. 40, no. 5, pp. 747–757. doi: 10.1016/j.immuni.2014.03.007*
102. Shin H., Iwasaki A. A vaccine strategy that protects against genital herpes by establishing local memory T cells. *Nature, 2012, vol. 491, no. 7424, pp. 463–467. doi: 10.1038/nature11522*
103. Shiow L.R., Rosen D.B., Brdicková N., Xu Y., An J., Lanier L.L., Cyster J.G., Matloubian M. CD69 acts downstream of interferon-alpha/beta to inhibit S1P1 and lymphocyte egress from lymphoid organs. *Nature, 2006, vol. 440, no. 7083, pp. 540–544. doi: 10.1038/nature04606*
104. Simms P.E., Ellis T.M. Utility of flow cytometric detection of CD69 expression as a rapid method for determining poly- and oligoclonal lymphocyte activation. *Clin. Diagn. Lab. Immunol., 1996, vol. 3, no. 3, pp. 301–304. doi: 10.1128/cdli.3.3.301-304.1996*

105. Sinclair L.V., Finlay D., Feijoo C., Cornish G.H., Gray A., Ager A., Okkenhaug K., Hagenbeek T.J., Spits H., Cantrell D.A. Phosphatidylinositol-3-OH kinase and nutrient-sensing mTOR pathways control T lymphocyte trafficking. *Nat. Immunol., 2008, vol. 9, no. 5, pp. 513–521. doi: 10.1038/ni.1603*
106. Skon C.N., Lee J.Y., Anderson K.G., Masopust D., Hogquist K.A., Jameson S.C. Transcriptional downregulation of S1pr1 is required for the establishment of resident memory CD8+ T cells. *Nat. Immunol., 2013, vol. 14, no. 12, pp. 1285–1293. doi: 10.1038/ni.2745*
107. Slutter B., Pewe L.L., Kaech S.M., Harty J.T. Lung airway-surveilling CXCR3(hi) memory CD8(+) T cells are critical for protection against influenza A virus. *Immunity, 2013, vol. 39, no. 5, pp. 939–948. doi: 10.1016/j.immuni.2013.09.013*
108. Snyder M.E., Finlayson M.O., Connors T.J., Dogra P., Senda T., Bush E., Carpenter D., Marboe C., Benvenuto L., Shah L., Robbins H., Hook J.L., Sykes M., D'Ovidio F., Bacchetta M., Sonett J.R., Lederer D.J., Arcasoy S., Sims P.A., Farber D.L. Generation and persistence of human tissue-resident memory T cells in lung transplantation. *Sci. Immunol., 2019, vol. 4, no. 33: eaav5581. doi: 10.1126/sciimmunol.aav5581*
109. Sojka D.K., Plougastel-Douglas B., Yang L., Pak-Wittel M.A., Artyomov M.N., Ivanova Y., Zhong C., Chase J.M., Rothman P.B., Yu J., Riley J.K., Zhu J., Tian Z., Yokoyama W.M. Tissue-resident natural killer (NK) cells are cell lineages distinct from thymic and conventional splenic NK cells. *Elife, 2014, vol. 3: e01659. doi: 10.7554/eLife.01659*
110. Sridhar S., Begom S., Bermingham A., Hoschler K., Adamson W., Carman W., Bean T., Barclay W., Deeks J.J., Lalvani A. Cellular immune correlates of protection against symptomatic pandemic influenza. *Nat. Med., 2013, vol. 19, no. 10, pp. 1305–1312. doi: 10.1038/nm.3350*
111. Takamura S., Kohlmeier J.E. Establishment and Maintenance of Conventional and Circulation-Driven Lung-Resident Memory CD8+ T Cells Following Respiratory Virus Infections. *Front. Immunol., 2019, vol. 10: 733. doi: 10.3389/fimmu.2019.00733*
112. Takamura S., Yagi H., Hakata Y., Motozono C., McMaster S.R., Masumoto T., Fujisawa M., Chikaishi T., Komeda J., Itoh J., Umemura M., Kyusai A., Tomura M., Nakayama T., Woodland D.L., Kohlmeier J.E., Miyazawa M. Specific niches for lung-resident memory CD8+ T cells at the site of tissue regeneration enable CD69-independent maintenance. *J. Exp. Med., 2016, vol. 213, no. 13, pp. 3057–3073. doi: 10.1084/jem.20160938*
113. Talayev V., Svetlova M., Zaichenko I., Voronina E., Babaykina O., Neumoina N., Perfilova K. CCR6+ T helper cells and regulatory T cells in the blood and gastric mucosa during Helicobacter pylori infection. *Helicobacter, 2024, vol. 29, no. 3: e13097. doi: 10.1111/hel.13097*
114. Tanchot C., Guillaume S., Delon J., Bourgeois C., Franzke A., Sarukhan A., Trautmann A., Rocha B. Modifications of CD8+ T cell function during *in vivo* memory or tolerance induction. *Immunity, 1998, vol. 8, no. 5, pp. 581–590. doi: 10.1016/s1074-7613(00)80563-4*
115. Thom J.T., Weber T.C., Walton S.M., Torti N., Oxenius A. The Salivary Gland Acts as a Sink for Tissue-Resident Memory CD8(+) T Cells, Facilitating Protection from Local Cytomegalovirus Infection. *Cell Rep., 2015, vol. 13, no. 6, pp. 1125–1136. doi: 10.1016/j.celrep.2015.09.082*
116. Thome J.J., Bickham K.L., Ohmura Y., Kubota M., Matsuoka N., Gordon C., Granot T., Griesemer A., Lerner H., Kato T., Farber D.L. Early-life compartmentalization of human T cell differentiation and regulatory function in mucosal and lymphoid tissues. *Nat. Med., 2016, vol. 22, no. 1, pp. 72–77. doi: 10.1038/nm.4008*
117. Tomov V.T., Palko O., Lau C.W., Pattekar A., Sun Y., Tacheva R., Bengsch B., Manne S., Cosma G.L., Eisenlohr L.C., Nice T.J., Virgin H.W., Wherry E.J. Differentiation and Protective Capacity of Virus-Specific CD8+ T Cells Suggest Murine Norovirus Persistence in an Immune-Privileged Enteric Niche. *Immunity, 2017, vol. 47, no. 4, pp. 723–738.e5. doi: 10.1016/j.immuni.2017.09.017*
118. Topham D.J., Reilly E.C. Tissue-Resident Memory CD8+ T Cells: From Phenotype to Function. *Front. Immunol., 2018, vol. 9: 515. doi: 10.3389/fimmu.2018.00515*
119. van der Gracht E.T., Behr F.M., Parga-Vidal L., Kragten N.A.M., van Dam T.J.P., Wesselink T.H., Sheridan B.S., Arens R., van Lier R.A.W., Stark R., van Gisbergen K.P.J.M. Tissue-resident memory CD8+ T cells shape local and systemic secondary T cell responses. *Nat. Immunol., 2020, vol. 21, no. 9, pp. 1070–1081. doi: 10.1038/s41590-020-0723-4*
120. van der Gracht E.T., Schoonderwoerd M.J., van Duikeren S., Yilmaz A.N., Behr F.M., Colston J.M., Lee L.N., Yagita H., van Gisbergen K.P., Hawinkels L.J., Koning F., Klenerman P., Arens R. Adenoviral vaccines promote protective tissue-resident memory T cell populations against cancer. *J. Immunother. Cancer, 2020, vol. 8, no. 2: e001133. doi: 10.1136/jitc-2020-001133*
121. Vezys V., Yates A., Casey K.A., Lanier G., Ahmed R., Antia R., Masopust D. Memory CD8 T-cell compartment grows in size with immunological experience. *Nature, 2009, vol. 457, no. 7226, pp. 196–199. doi: 10.1038/nature07486*
122. Villablanca E.J., Cassani B., von Andrian U.H., Mora J.R. Blocking lymphocyte localization to the gastrointestinal mucosa as a therapeutic strategy for inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology, 2011, vol. 140, no. 6, pp. 1776–1784. doi: 10.1053/j.gastro.2011.02.015*
123. Wakim L.M., Woodward-Davis A., Bevan M.J. Memory T cells persisting within the brain after local infection show functional adaptations to their tissue of residence. *Proc. Natl Acad. Sci. USA, 2010, vol. 107, no. 42, pp. 17872–17879. doi: 10.1073/pnas.1010201107*
124. Walzer T., Arpin C., Beloeil L., Marvel J. Differential *in vivo* persistence of two subsets of memory phenotype CD8 T cells defined by CD44 and CD122 expression levels. *J. Immunol., 2002, vol. 168, no. 6, pp. 2704–2711. doi: 10.4049/jimmunol.168.6.2704*
125. Wang C., Kang S.G., Lee J., Sun Z., Kim C.H. The roles of CCR6 in migration of Th17 cells and regulation of effector T-cell balance in the gut. *Mucosal Immunol., 2009, vol. 2, no. 2, pp. 173–183. doi: 10.1038/mi.2008.84*
126. Whitmire J.K., Eam B., Whitton J.L. Tentative T cells: memory cells are quick to respond, but slow to divide. *PLoS Pathog., 2008, vol. 4, no. 4: e1000041. doi: 10.1371/journal.ppat.1000041*
127. Wijeyesinghe S., Beura L.K., Pierson M.J., Stolley J.M., Adam O.A., Ruscher R., Steinert E.M., Rosato P.C., Vezys V., Masopust D. Expansible residence decentralizes immune homeostasis. *Nature, 2021, vol. 592, no. 7854, pp. 457–462. doi: 10.1038/s41586-021-03351-3*

128. Wu J., Madi A., Mieg A., Hotz-Wagenblatt A., Weisshaar N., Ma S., Mohr K., Schlimbach T., Hering M., Borgers H., Cui G. T Cell Factor 1 Suppresses CD103+ Lung Tissue-Resident Memory T Cell Development. *Cell Rep., 2020, vol. 31, no. 1: 107484. doi: 10.1016/j.celrep.2020.03.048*
129. Wu T., Hu Y., Lee Y.T., Bouchard K.R., Benechet A., Khanna K., Cauley L.S. Lung-resident memory CD8 T cells (TRM) are indispensable for optimal cross-protection against pulmonary virus infection. *J. Leukoc. Biol., 2014, vol. 95, no. 2, pp. 215–224. doi: 10.1189/jlb.0313180*
130. Xu H., Zhou R., Chen Z. Tissue-Resident Memory T Cell: Ontogenetic Cellular Mechanism and Clinical Translation. *Clin. Exp. Immunol., 2023, vol. 214, no. 3, pp. 249–259. doi: 10.1093/cei/uxad090*
131. Zaid A., Hor J.L., Christo S.N., Groom J.R., Heath W.R., Mackay L.K., Mueller S.N. Chemokine receptor-dependent control of skin tissue-resident memory T cell formation. *J. Immunol., 2017, vol. 199, no. 7, pp. 2451–2459. doi: 10.4049/jimmunol.1700571*

Авторы:
Талаев В.Ю., д.м.н., профессор, зав. лабораторией клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;
Бабайкина О.Н., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;
Светлова М.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;
Заиченко И.Е., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;
Куркова Е.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия.

Authors:
Talayev V.Yu., DSc (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Cellular Immunology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Babaykina O.N., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Svetlova M.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Zaichenko I.Ye., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Kurkova E.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation.

Поступила в редакцию 26.12.2024
Принята к печати 18.05.2025

Received 26.12.2024
Accepted 18.05.2025

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 431–445

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 431–445

РАННИЕ ФАЗЫ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ: ИММУННЫЙ ОТВЕТ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ХОЗЯИНА

Т.К. Кондратьева, Е.В. Кондратьева, А.С. Апт

ФГБНУ Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза, Москва, Россия

Резюме. Туберкулез (ТБ), прежде всего легочный, продолжает оставаться серьезной проблемой для здравоохранения, несмотря на интенсивные исследования патогенеза болезни, разработку и проверку новых лекарств и попытки создать новые вакцины против ТБ. Одной из причин столь медленного прогресса в решении задачи эффективного контроля за распространением этой инфекции и повышения эффективности ее профилактики и лечения признается недостаток фундаментальных знаний о механизмах иммунного ответа на инфекцию, генетического контроля этого ответа и ключевых дефектах, не позволяющих зараженному хозяину справится с прогрессированием болезни. В первую очередь, недостаток наших знаний касается ранних фаз инфекции, поскольку в обычной клинической практике врачи практически с ними не встречаются, а многие существующие экспериментальные модели ТБ на животных не вполне адекватно отражают события, происходящие в зараженных *M. tuberculosis* легких у человека. В этом обзоре мы кратко рассматриваем некоторые нерешенные проблемы иммунологии и генетики туберкулезной инфекции со специфическим акцентом на первый месяц развития инфекции. Описывается взаимодействие микобактерий с разными типами фагоцитов в легочной ткани и последствия захвата микобактерий альвеолярными и интерстициальными макрофагами, нейтрофилами, эозинофилами и дендритными клетками. Обсуждаются вопросы классификации туберкулезных гранулем, их функциональное разнообразие различия во взглядах на природу первичных очагов туберкулезной инфекции иммунологов и патологов. В заключительном разделе обзора особое внимание уделено последовательности включения в иммунный ответ против микобактерий реакций врожденного и адаптивного иммунитета, а также регуляции взаимодействия между нейтрофилами и Т-лимфоцитами при туберкулезе. На основании собственных данных о динамике развития иммунного ответа и экспрессии на Т-клетках $CD4^+$ маркеров активации и ингибирования ответа при экспериментальном туберкулезе у мышей, отличающихся по аллелям MHC II, обсуждаются ключевые различия между генетически чувствительными и резистентными к инфекции животными.

Ключевые слова: *туберкулез, иммунные клетки, гранулема, генетический контроль, динамика инфекции, иммунное истощение.*

Адрес для переписки:
Кондратьева Татьяна Константиновна
107564, Россия, Москва, Яузская аллея, 2,
ФГБНУ Центральный НИИ туберкулеза.
Тел.: 8 (499) 785-90-72.
E-mail: tanya.kondratieva.47@mail.ru

Contacts:
Tatiana K. Kondratieva
107564, Russian Federation, Moscow, Yauzskaya avenue, 2,
Central TB Research Institute.
Phone: +7 (499) 785-90-72.
E-mail: tanya.kondratieva.47@mail.ru

Для цитирования:
Кондратьева Т.К., Кондратьева Е.В., Апт А.С. Ранние фазы туберкулезной инфекции: иммунный ответ и генетический контроль хозяина // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 431–445.
doi: 10.15789/2220-7619-EPO-17880

Citation:
Kondratieva T.K., Kondratieva E.V., Apt A.S. Early phases of tuberculosis infection: immune response and host genetic control // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 431–445. doi: 10.15789/2220-7619-EPO-17880

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда, грант 23-14-00030 (АСА).
The study was supported by Grant No. 23-14-00030 (ACA) of the Russian Science Foundation.

© Кондратьева Т.К., Кондратьева Е.В., Апт А.С., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-EPO-17880

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

EARLY PHASES OF TUBERCULOSIS INFECTION: IMMUNE RESPONSE AND HOST GENETIC CONTROL

Kondratieva T.K., Kondratieva E.V., Apt A.S.

Central TB Research Institute, Moscow, Moscow, Russian Federation

Abstract. Tuberculosis (TB), primarily pulmonary TB, continues to pose a serious threat to public health, despite intensive studies investigating related pathogenesis, as well as development and testing of novel anti-TB drugs and vaccines. One of the reasons for such a slow progress in establishing effective TB spreading control as well as improving TB prophylaxis and treatment is recognized to be due to substantial shortage of our understanding mechanisms on immune response to and genetic control of the infection, as well as key defects interfering with ability of the host to combat progressive disease. Primarily, it is accounted for by the gaps in our knowledge on early phases of infection, because clinicians virtually never experience them in real-world practice, whilst the majority of existing animal models fail to adequately mimic the events occurring in human TB-infected lung. In this review, we briefly outline some unresolved issues related to TB immunity and genetics, specifically focusing at the first month of infection. Herein, we describe interactions between mycobacteria and diverse phagocyte types in the lung tissue as well as the consequences of mycobacterial phagocytosis by alveolar and interstitial macrophages, neutrophils, eosinophils and dendritic cells. Next, the issues concerning tuberculous granuloma classification and relevant functional diversity as well as difference in immunologist and pathologist viewpoint on nature of primary tuberculous lesion are discussed. Finally, the sequence of innate and adaptive immune reactions against mycobacteria, as well as T-cell — neutrophil interplay during TB course gains special attention. Based on personal studies assessing immune response dynamics and expression of immune activation/exhaustion markers on $CD4^+$ T-cells in MHC II allele-specific TB-infected mice we discuss key phenotypes between genetically susceptible and relatively resistant animals.

Key words: *tuberculosis, immune cells, granuloma, genetic control, infection dynamics, immune exhaustion.*

Введение

Принято считать, что туберкулезная инфекция (ТБ) у человека возникает после вдыхания аэрозоля, который образуется при кашле и чихании больного ТБ, выделяющего бактерии [73]. По-видимому, количество микобактерий (чаще всего *Mycobacterium tuberculosis*) в такой дозе-индукторе инфекции очень невелико и по имеющимся оценкам колеблется в пределах 1–5 жизнеспособных клеток [8]. Согласно общепринятой сейчас точке зрения, микобактерии, после вдыхания достигшие альвеол, захватываются преимущественно резидентными альвеолярными макрофагами (реже дендритными клетками), и именно это событие начинает сложнейший процесс хронического заболевания [12]. Несмотря на то что варианты развития самых ранних фаз инфекции играют первостепенную роль в ее последующей динамике и тяжести течения (см. ссылку [19] и текст ниже), наши знания о первом этапе ТБ у человека остаются очень неполными. Причины этого вполне очевидны. Клиницисты практически никогда не сталкиваются со случаями сверхраннего ТБ, хотя бы потому, что инфекция на этой стадии никак не проявляется симптоматически. Адаптивный иммунный ответ на микобактерии, на котором построены диагностические тесты *in vivo* (кожные пробы) и *in vitro* (тесты на интерферон-γ, IFNγ), также не развивается до обнаружимого уровня ранее 3–4 недель после заражения [94]. Вполне естественно, что в этой области гораздо больше точных знаний получено с помощью экспериментальных моделей ТБ с четким контролем дозы заражения и времени начала инфекции.

Проблеме раннего ТБ посвящено множество работ, в том числе несколько весьма обстоятельных обзоров [19, 23, 27, 89], но в них не отражены многие данные, полученные в новых экспериментальных моделях современными методами оценки профиля экспрессии генов, классической генетики и молекулярной биологии, поэтому написание еще одной обзорной работы видится нам вполне оправданным. В данном обзоре мы обсуждаем некоторые уже устоявшиеся представления и суммируем недавно полученные данные, в том числе полученные в нашей лаборатории. Как будет обосновано ниже, к ранней фазе ТБ разумно отнести и состояние status quo, в котором иммунная система встречает возбудителя, и события первого месяца после заражения, в течение которого определяются основные особенности адаптивного иммунного ответа, присоединяющегося к врожденному.

В предисловии хотелось бы сделать одну оговорку. Чаще всего, в обзорных статьях принято ссылаться на конкретные результаты и соответствующие статьи, а не на другие обзоры. Выбранная нами тема настолько «густо населена», что для ее приблизительного охвата потребовалось бы процитировать не менее тысячи источников, что не оставило бы места для обсуждения некоторых важных проблем, пока не получивших достаточного внимания. Поэтому мы вынужденно включили в список цитируемых работ довольно много обзоров дру-

гих авторов, чтобы иметь возможность затронуть некоторые менее очевидные аспекты проблемы и изложить собственную точку зрения.

Ворота инфекции

Альвеолярный эпителий

Во время дыхания весь альвеолярный эпителий легких вступает в контакт с вдыхаемыми патогенными и непатогенными микроорганизмами. Помимо механической барьерной и респираторной функций, альвеолярный эпителий, в частности входящие в его состав кубические клетки AEC2 (alveolar epithelial cells type 2), выполняет множество других. Сюда относятся распознавание микроорганизмов, секреция биологически активных молекул, например, сурфактанта, дефенсинов, цитокинов и хемокинов, и презентация антигенов Т-клеткам иммунной системы [27, 77, 87, 89]. Имея в виду эти свойства, а также то, что эпителиальные клетки занимают значительно большую площадь альвеолярной поверхности по сравнению с профессиональными фагоцитами, легко сделать вывод о потенциально важной роли клеток альвеолярного эпителия в инициации инфекционных процессов, в том числе при ТБ [10]. Этот вывод находит множество подтверждений в той части, которая касается первичного обнаружения инфекции, обмена биохимическими сигналами с соседствующими альвеолярными макрофагами, а позднее и с другими клетками иммунной системы [77], но в меньшей степени относится к самому процессу проникновения микобактерий в легочную ткань.

В сравнительно давних исследованиях неоднократно сообщалось о миграции микобактерий непосредственно через альвеолярный эпителий [10, 11, 67], но большая часть соответствующих экспериментов была выполнена на клеточных линиях, и не было проверено, насколько сделанные заключения справедливы для собственно клеток эпителия. Позднее, мигрирующие клетки *M. tuberculosis* были обнаружены внутри клеток альвеолярного эпителия, но это сопровождалось гибелью последних, поэтому был сделан вывод, что для непосредственного проникновения в ткань легкого без участия фагоцитов микобактериям необходимо механически разрушить эпителиальный барьер [84]. Кроме того, с использованием сравнительно недавно разработанной трехмерной культуры легочной ткани [22] было показано, что при отсутствии в культуре профессиональных фагоцитов микобактерии двух вирулентных видов с разной инвазивной способностью, *M. tuberculosis* и *M. abscessus*, крайне слабо проникают в ткань, размножаясь почти исключительно в культуральной среде [44]. Таким образом, согласно современной точке зрения, при ТБ клетки альвеолярного эпителия, как и эндотелиальные клетки сосудов [89], играют очень важную роль в ранней регуляции ответа хозяина на инфекцию, но их участие в первичной инвазии возбудителя, скорее всего, второстепенно.

Резидентные альвеолярные и интерстициальные макрофаги

Представления о биологии этих важнейших для инвазии микобактерий в ткань легкого клеток миелоидного ряда радикально изменились в течение последних 15 лет. Как и другие резидентные макрофаги органов и тканей, альвеолярные макрофаги (АМ) существенно отличаются от дифференцирующихся из циркулирующих моноцитов периферической крови макрофагов по онтологии в эмбриогенезе, путям развития и иммунологическим функциям [41]. В частности, в экспериментальной модели на мышах с генетически выключенным геном для ключевого аттрактанта моноцитов CCR2 было показано, что количество АМ в дыхательных путях и легких не зависит от мобилизации циркулирующих моноцитов в респираторный тракт [39]. Более того, опыты на генетически различных мышах-парабионтах (животные с сообщающимся кровотоком, которых используют для оценки степени химеризма в иммунной системе) показали, что циркулирующие моноциты редко оказываются предшественниками АМ [40]. Поскольку АМ отличаются от других макрофагов экспрессией поверхностных маркеров Siglec-F и CD11c [53], их можно определять методами цитофлуориметрии и избирательно воздействовать на них антителами.

В рамках этой статьи мы не будем вдаваться в подробности эмбриогенеза, метаболизма и иммунологической активности при воспалении или его отсутствии, отличающих АМ от привлеченных в легкое интерстициальных макрофагов (ИМ). Заинтересованный читатель может найти множество таких данных в довольно свежем обзоре [100]. Следует отметить лишь одно важнейшее в контексте обсуждаемой здесь темы отличие в метаболизме этих морфологически сходных, но онтологически различных, клеток. Тщательно выполненная экспериментальная работа лаборатории Д. Рассела [42], в которой были использованы штаммы *M. tuberculosis* с вставленными генами-репортерами, кодирующими флуоресцентные белки, показала следующее. Через 2 недели после заражения мышей внутри АМ размножение бактерий идет быстрее, а маркеры бактериального стресса выражены слабее, чем внутри ИМ. Более того, удаление АМ *in vivo* помощью специфических антител снижает количество микобактерий в легких, а удаление ИМ повышает.

Анализ профиля экспрессии генов в макрофагах двух типов показал, что у АМ метаболическая активность сдвинута в сторону окисления жирных кислот, а у ИМ — в сторону гликолиза, причем воздействие химических ингибиторов двух этих процессов меняло параметры течения инфекции в предсказанную сторону.

Позднее эта группа исследователей стала использовать разные варианты оценки профиля экспрессии генов в цельной ткани легкого (RNA-seq) и в отдельных отсортированных легочных макрофагах (scRNA-seq и multi-model scRNA-seq). В результате была получена детальная картина ранних взаимодействий микобактерий с легочными макрофагами. Удалось установить, что популяции и АМ, и ИМ гетерогенны и обе состоят из клеток с разным онтогенезом [79]. Более того, в моделях на мышах было показано, что первой инфицируется микобактериями популяция АМ, которая отличается отсутствием гидролазы CD38 (фенотип $CD38^{-}$) и плохо ограничивает рост микобактерий. Даже через 2 недели после заражения эта популяция составляет около 70% всех легочных макрофагов. По мере прогрессирования инфекции к первичному очагу приходит все больше макрофагов с фенотипом $CD38^{+}$, причем в состав этой популяции входят и резидентные легочные клетки (прошедшие активацию под действием неизвестных стимулов? — *Авторы*), и клетки, дифференцирующиеся из приходящих моноцитов. Через 4 недели после заражения макрофаги $CD38^{+}$ составляют уже около 90% популяции. Они-то и становятся основным фактором воспаления и сдерживания роста микобактерий, причем их способность инициировать воспалительный ответ обусловлена особой врожденной организацией хроматина [80]. Другими словами, эти клетки запрограммированы на воспалительный ответ на эпигенетическом уровне.

По нашему мнению, эти работы позволяют предположить, что длительная параллельная эволюция микобактерий и их теплокровных хозяев, подверженных легочным инфекциям, то есть птиц и млекопитающих, привела к реализации следующего сценария. Отбор снабдил организм хозяина системой фагоцитов (АМ), заселяющих ткани респираторного тракта, мигрируя из желточного мешка и эмбриональной печени, еще во время эмбриогенеза [100]. Эти клетки защищают хозяина от микроорганизмов, начиная с первых вдохов, тем более что АМ — очень активные фагоциты. У таких древнейших паразитов, как микобактерии [38], несмотря на их медленное размножение, эволюция отобрала, по-видимому, два признака. Во-первых, это сама способность выживать внутри фагоцитов. Во-вторых, это приспособленность к типу метаболизма именно того варианта фагоцитов, присутствие которых в легких гарантировано независимо от заражения ТБ и даст микобактериям экологическую нишу для раннего выживания и начала размножения, то есть АМ. Хозяева же приобрели способность привлекать в зону конфликта другие фагоциты, имеющие совсем другой тип метаболизма и функционирования, в частности ИМ. После фагоцитоза они предоставляют микобактериям не условия для комфортного выживания и размножения, на которые шел первичный отбор, а неблагоприятное окружение, помогающее хозяину бороться с инфекцией.

Дендритные клетки

Дендритные клетки (ДК), активные фагоциты и главные индукторы первичного ответа на антигены Т-лимфоцитов, в легких располагаются непосредственно под и среди эпителиальных клеток, постоянно осуществляя мониторинг поступающих с вдыхаемым воздухом микроорганизмов. После фагоцитоза, антигены последних распознаются внутри ДК на мембранах доставленных внутрь клеток фагосом (эндосом), в первую очередь через рецептор TLR9 [37, 47]. На поверхности дендритных клеток имеются все основные и вспомогательные молекулы, необходимые для распознавания патогенов и последующей презентации их антигенов Т-клеткам, а в их фагосомах и цитозоле имеется полный набор ферментов и шаперонов, обеспечивающих образование и транспорт антигенных пептидов, распознаваемых Т-клетками. Процесс активации ДК, наступающей в результате фагоцитоза, стимулирует миграцию ДК в дренирующие ткань лимфатические узлы. В них происходит встреча с ДК с Т-лимфоцитами и периферический подбор клонов Т-клеток, способных распознать представленный ДК антиген.

Классификация отдельных популяций ДК, все молекулярные компоненты, последовательность и физиологические последствия процессов, связанных с активностью ДК вначале и при развитии иммунного ответа, в том числе в легких, описаны во множестве обзоров (см., например, ссылки [4, 13, 46, 78]). В контексте данной статьи важно отметить, что легочные ДК одними из первых сталкиваются с микобактериями при мониторинге эпителиальной поверхности легких, и после фагоцитоза бактерий мигрируют в медиастинальные лимфатические узлы. Там и происходит встреча с проходящими через лимфоузлы Т-клетками и презентация антигенных пептидов микобактерий в контексте молекул главного комплекса тканевой совместимости (MHC) классов I и II рецепторам Т-клеток $CD4^{+}$ и $CD8^{+}$. Специфичные к антигенам микобактерий Т-клетки мигрируют обратно в легкое, где участвуют в элиминации микобактерий. Таким

образом, мигрирующие в лимфоузлы ДК оказываются самыми первыми индукторами адаптивного защитного иммунного ответа [69, 92]. С другой стороны, способность микобактерий модулировать физиологическую активность ДК в условиях воспаления и активировать преимущественно регуляторные Т-клетки, подавляющие иммунный ответ (см. обзоры [4, 13, 46, 78], цитированные выше), превращает и эту популяцию фагоцитов в обоюдоострое оружие при ТБ.

Нейтрофилы

Нейтрофилы — это самая большая популяция фагоцитов в крови человека и лабораторных животных. Пребывание нейтрофилов в тканях, в том числе в легочной ткани, непостоянно, но они первыми выходят из циркуляции и инфильтрируют ткань при первых сигналах воспаления. В клинических и экспериментальных исследованиях показано, что активный туберкулезный процесс сопровождается массивным приходом нейтрофилов в легкие [71]. Хотя в течение довольно длительного времени роль нейтрофилов при ТБ считали до конца неустановленной и противоречивой [1, 63], многочисленные экспериментальные работы и клинические наблюдения приводят к выводу, что эти клетки играют, скорее всего, патогенную, а не защитную, роль.

Наша лаборатория одной из первых показала, что массивное и длительное присутствие нейтрофилов в легочной ткани после заражения характерно для мышей генетически чувствительной к туберкулезу линии I/St, но не для более резистентных животных, и что нейтрофилы активно захватывают, но плохо убивают микобактерии [30]. Позднее мы установили, что удаление нейтрофилов *in vivo* непосредственно перед заражением с помощью высокоспецифических антител против их маркера Ly-6G уменьшает размер популяции микобактерий в легких и продлевает срок жизни чувствительных мышей [101]. В элегантных экспериментах группы исследователей из туберкулезного центра в Борстеле (Германия) было показано, что фагоцитоз микобактерий нейтрофилами приводит к некрозу нейтрофилов, и прошедшие транзит через нейтрофилы микобактерии, попадающие в макрофаги при очистке ткани от погибших нейтрофилов, существенно менее чувствительны к бактерицидному действию макрофагов [25]. Недавно мы разработали новый метод получения большого количества микобактерий после их раздельного фагоцитоза нейтрофилами и макрофагами *in vivo* в брюшной полости, дающий возможность оценить вирулентные качества таких микробов и провести анализ профиля экспрессии генов микобактериями после всего лишь двухчасового пребывания в фагоцитах разного типа [2]. Оказалось, что транзит именно через нейтрофилы приводит к повышению вирулентности микобактерий, что сокращает срок жизни зараженных ими мышей по сравнению с контролем, и очень своеобразно меняет профиль транскрипции генов [50]. По сравнению с бактериями, прошедшими через макрофаги, транзит через нейтрофилы вызывал увеличение экспрессии генов, участвующих в метаболическом переходе бактерий в латентное состояние, что тоже снижает чувствительность к реакциям иммунного ответа хозяина.

В клинических исследованиях также наблюдалась прямая корреляция между активностью, тяжестью течения ТБ и уровнем нейтрофилов [16]. Количество нейтрофилов и значения индекса «нейтрофилы : лимфоциты» выше у больных ТБ по сравнению со здоровыми лицами, находящимися в контакте с больными и имеющими положительные кожные пробы. При этом в группе больных интенсивный ответ нейтрофилов является показателем тяжести течения заболевания и специфически связан с нарушением архитектуры легочной ткани [91]. Можно упомянуть еще и о том, что нейтрофилы — это доминирующий тип клеток в материале биопсий, взятых у больных ТБ с выделением бактерий [31].

Список свидетельств патогенной роли нейтрофилов при ТБ можно было бы с легкостью продолжить, но и процитированных исследований достаточно, чтобы счесть роль нейтрофилов в ответе на туберкулез отрицательной. К этой проблеме мы вернемся ниже, при обсуждении вопроса о взаимодействии между нейтрофилами и лимфоцитами после появления адаптивного иммунного ответа на инфекцию.

Эозинофилы

Еще совсем недавно роль эозинофилов при туберкулезе вообще не попадала в поле зрения исследователей, поскольку традиционно считалось, что их миграционная и функциональная активность связана с совсем другим типом патологий, прежде всего, с ответом на гельминты [48]. Однако за последние 5–6 лет были опубликованы работы, показывающие, что роль эозинофилов в ответе на микобактерии была, по-видимому, сильно недооценена. Особенно интересно то, что в отличие от других миелоидных гранулоцитов, нейтрофилов, эта роль отчетливо связана с защитой хозяина, а не с патологией легких.

Имеются наблюдения, что у человека при туберкулезе часто наблюдается дефицит эозинофилов в периферической крови, но их число значительно в туберкулезных очагах и внутри гранулем [35]. Отталкиваясь от старых наблюдений, большая группа исследователей провела анализ роли эозинофилов при ТБ у человека, обезьян, мышей и рыб, в том числе генетическими методами [14]. Результаты показали, что эозинофилы необходимы для оптимального

контроля бактериальной популяции в легких и увеличения срока жизни после заражения. Таким образом, был найден вполне неожиданный защитный механизм против туберкулеза — привлечение эозинофилов в зараженное легкое. Авторы обращают внимание на потенциальную важность определения соотношения «эозинофилы : нейтрофилы», высокое значение которого может оказаться предиктором благоприятного течения туберкулезного процесса. В дальнейшем та же группа авторов показала, что миграция эозинофилов в пораженное туберкулезом легкое зависит не от их традиционного аттрактанта CCR3, а от экспрессии в самих эозинофилах рецептора хемотаксиса GPR183, связывающего миграцию эозинофилов с действием интерферонов типа 1 [15].

Фагоциты и генетика хозяина

Такое важное событие, как первый контакт с возбудителем опасного заболевания, всегда имел первостепенное значение для организма-хозяина и привел к развитию защитных механизмов, во многом закрепленных отбором на генетическом уровне. Фагоцитоз микобактерий, естественно, не является исключением и его эффективность и последствия находятся под контролем множества генов. Неизбежно возникающие аллельные различия в этих генах приводят к разной эффективности работы систем защиты, что на практике дает возможность понять, чем отличается эффективный ответ от неэффективного на молекулярном уровне.

Исследования по генетическому контролю инфекций, вызванных микобактериями у человека и в моделях на мышах, сконцентрированных на картировании и идентификации участвующих генов, были предметом многочисленных обзоров [3, 6, 24, 68], поэтому не будут рассматриваться здесь. Отметим лишь, что самый свежий из обзоров [68] содержит наиболее полный список всех связанных с контролем ТБ генетических локусов, которые были картированы в геноме мыши. Если же взять исследования, в которых найденные генетические различия по восприимчивости к инфекции оказались связаны именно с фагоцитами, то таких работ оказывается сравнительно немного.

В первую очередь, это, конечно, ставшие классическими исследования недавно ушедшего от нас Э. Скамене (E. Skamene) и его многочисленных учеников и последователей, по изучению гена Slc11a1 (ранее Bcg и Nramp1). Соответствующий локус был картирован на хромосоме 1 мыши [97], а последующие исследования показали, что транспортный белок, кодируемый геном Slc11a1, ответственен за выкачивание из фагосом макрофагов двухвалентных катионов металлов, в первую очередь, Fe^{2+}, таким образом уменьшая доступ находящимся в фагосоме паразитам (не только микобактериям) к этим важным метаболитам [33].

Не менее подробно исследован локус sst1 (super susceptibility to tuberculosis 1), картированный в работах группы И. Крамника на хромосоме 1 мыши [51]. В этом локусе расположено целое семейство IFN-зависимых генов Sp100, кодирующих группу ядерных белков, чья экспрессия в макрофагах, в частности, снижает экспрессию TNF через NF-κB-опосредованный механизм. В результате у носителей доминантного аллеля, детерминирующего резистентность, образуется меньше некротических очагов в легких, эффективнее контролируется размножение микобактерий и увеличивается продолжительность жизни по сравнению с мышами гомозиготными по аллелю чувствительности. Важно, что взаимодействие некоторых генов Sp100 с генами для TNF и NF-κB прослеживается и у человека и во многом определяет уровень восприимчивости к ТБ [54]. Несколько лет назад, наконец удалось исследовать активные в макрофагах гены локуса sst1 методами генетического нокаута (это была сложная задача из-за огромного количества монотонных повторов в последовательности ДНК данного локуса) и показать, что главную роль в регуляторном каскаде играет ген, кодирующий регулятор транскрипции Sp140, а не Sp110b, как считалось раньше. Как и следовало ожидать, эта регуляция не ограничивается только ТБ, но важна и для других инфекций, зависимых от баланса между IFNγ и интерферонами типа 1 [45]. Пока не исследовано в деталях, отличается ли регуляция этого каскада реакций в АМ и ИМ (И. Крамник, личное сообщение), хотя проблема представляется интересной.

Выше упоминалось, что для чувствительных к ТБ мышей I/St характерна избыточная инфильтрация легких нейтрофилами, которые выступают в роли важного элемента патогенеза. Параллельно было показано, что в число нарушений защитного ответа мышей I/St входит и бактерицидная функция легочных макрофагов [65]. Выделенные и помещенные в культуру легочные макрофаги I/St слабо подавляли рост микобактерий после заражения *in vitro* и быстро погибали сами. Очень примечательно, что этот фенотип проявлялся только у свежевыделенных легочных макрофагов, но не у макрофагов из брюшной полости или выращенных *in vitro* из разнообразных предшественников, в том числе легочных. Кроме того, взятые от незараженных мышей легочные макрофаги не активировались экзогенным IFNγ. Многие из этих фактов, установленных более 20 лет назад, оставались необъясненными. Однако при сопоставлении с изложенными выше новыми данными

о различиях между АМ и ИМ можно предположить, что отсутствие ответа на IFNγ указывает, что из легких незараженных мышей мы выделяли преимущественно АМ и они-то проявляли свойства, полностью соответствующие уровню генетической восприимчивости хозяина к ТБ. Напротив, выращенные *in vitro* или взятые из зараженных органов макрофаги были близки по свойствам ИМ, то есть потомкам моноцитов, пришедших из циркуляции. Уже в этой старой публикации был сделан вывод, что необходима большая осторожность при переносе выводов, сделанных на основании экспериментов *in vitro* с клетками разного происхождения и с помощью разных технических приемов, не говоря уже о клеточных линиях, на реальные функциональные свойства конкретной популяции фагоцитов *in vivo* [65].

Туберкулезная гранулема

Общая характеристика

Согласно классическим представлениям, пространственная организация туберкулезной гранулемы включает центральную зону, занятую макрофагами (АМ/ИМ, эпителиоидные и пенистые макрофаги), центр которой постепенно подвергается некрозу. В непосредственной близости от макрофагов располагаются другие клетки миелоидного ряда (дендритные клетки, нейтрофилы, эозинофилы, многоядерные гигантские клетки и тучные клетки), а вся центральная зона окружена лимфоцитами (Т-лимфоциты, NK-клетки, и NKT-клетки [86]). Вопреки часто встречающемуся мнению, что в состав этой периферической зоны входят и В-лимфоциты, мы показали, что последние преимущественно располагаются еще дальше от центра гранулемы, образуя характерные В-клеточные фолликулы [56, 57].

Как ни странно, но после полутора столетий изучения патогенеза ТБ, так и не выработано общее мнение о том, как именно развивается инфекция с самого начала. На фоне ставшего трюизмом утверждения: «отличительная черта развития раннего ТБ — это образование гранулем», существует мнение, прежде всего, патологов с большим стажем, что образование гранулем при ТБ человека — это позднее последствие далеко продвинутого иммунного ответа, а первичные очаги представлены вариантами казеозной пневмонии (см. обзор [43]). Среди причин несогласия часто называется несоответствие патогенеза ТБ у человека и в наиболее изученном модельном объекте — мыши [5, 7], то есть утверждение, базирующееся на игнорировании генетического разнообразия модельного организма, что, по нашему мнению, делает его совершенно несправедливым.

В задачи этого обзора не входит подробный разбор противоречивой аргументации разных точек зрения. Важно отметить, что противоречие во многом возникает из-за терминологической путаницы. Разумеется, часто употребляемый английский термин «primary granuloma» никак не соответствует определению, приведенному в начале этого раздела: первичный очаг инфекции еще не содержит иммунных Т- и В-лимфоцитов, которые приходят к очагу инфекции только после инициации иммунного ответа в лимфоузлах и миграции в легкое. Часто употребляемое выражение «некротическая гранулема» также расплывчато: если некроз центральной зоны зашел далеко, в ней не остается живых клеток, а тогда какая же это гранулема? С другой стороны, считать первичными так называемые очаги Гона с их казеозным содержимым тоже не вполне логично, поскольку они весьма велики и процесс некроза в них заходит очень далеко. Вдобавок, в англоязычной литературе крупные образования, возникающие после слияния нескольких гранулем с повторным возобновлением сферической многослойной структуры, также принято называть гранулемами, что принято далеко не всеми российскими патологами.

Как бы то ни было, подробное описание структуры туберкулезных гранулем, их разнообразия, динамики развития гипоксии, клеточного некроза и другие исследованные характеристики заинтересованный читатель может найти в недавно опубликованном огромном обзоре [64]. Здесь мы хотели бы подчеркнуть лишь некоторые важные особенности туберкулезных гранулем, часть которых хорошо изучена, а некоторые привлекли пока внимание более узкого круга исследователей. Работы последних двух десятилетий установили, насколько велико разнообразие условий пребывания микобактерий внутри гранулем и сколь функционально разнообразны сами гранулемы. Разработка новых моделей ТБ на животных, в которых индуктором инфекции служат сверхмалые дозы микобактерий, позволило гораздо точнее понять особенности раннего развития инфекции и природы первичных и вторичных очагов инфекции. Понимание того, что генетически обусловленные различия в уровне восприимчивости к инфекции влияют на образование и строение гранулем, поспособствовало использованию адекватных моделей инфекции на мышах, с их богатейшим арсеналом тонких аналитических возможностей.

Разнообразие гранулем

Несмотря на то что большинство исследователей признают роль гранулем критически важной в защите хозяина при ТБ, мы все еще далеки от полного понимания роли этих образований в патогенезе инфекции. Этому пре-

пятствуют многие обстоятельства, начиная от большого разнообразия гранулем по размеру и гистологическим характеристикам, обнаруживающимся при анализе клинических образцов [18], и кончая иным, по сравнению с человеком, характером патологии легких у мышей чаще всего используемых для моделирования ТБ линий [9, 99]. В результате в большей части работ даются сравнительные характеристики гранулем всего двух типов, чаще всего, некротических и без некроза.

Недавние успехи в области пространственной транскриптомики, протеомики и компьютерного анализа образов позволили получить множество данных о разнообразии профилей экспрессии генов и структуры микроокружения в туберкулезных гранулемах мыши [21] и человека [66]. Одно из наиболее тщательных исследований по определению пространственного положения клеток иммунной системы на срезах легких больных ТБ большой площади позволило даже предложить новую классификацию туберкулезных гранулем [90]. Определив положение в пространстве отдельных клеток иммунной системы в большом количестве очагов инфекции, авторы работы показали, что кроме гранулем с некрозом в легочной ткани находится множество агрегатов лейкоцитов, окружающих некротические очаги. Они считают, что эти скопления клеток тоже относятся к гранулемам и их можно разделить на четыре разных категории на основании взаимного расположения В-лимфоцитов и макрофагов. Думается, что предлагая новую классификацию, авторы несколько увлеклись современными техническими возможностями визуализации процессов в тканях и обычным желанием иммунологов детально классифицировать все объекты и явления в иммунной системе. Пока представляется не совсем понятным, чем эти структуры принципиально отличаются от неплохо изученных В-клеточных фолликулов, окружающих очаги туберкулезной инфекции у человека и лабораторных животных [29, 57, 93].

Тем не менее иммунологические отличия между индивидуальными очагами инфекции в каждом туберкулезном легком существуют совершенно объективно. В первую очередь, первичный очаг инфекции с первого дня возникновения и в течение не менее двух недель вынужденно обходится без участия клеток адаптивного иммунного ответа, поэтому на этой фазе инфекции он не может, строго говоря, называться гранулемой. Напротив, вторичные очаги, появляющиеся в результате диссеминации (а также очаги, появляющиеся при реактивации или повторной инфекции) возникают на фоне уже имеющегося специфического иммунитета и могут быстро принимать клеточную структуру гранулемы. Кроме того, многочисленные исследования индивидуальных туберкулезных очагов, прежде всего на морских свинках [76, 96] и, главное, на приматах [17, 34], убедительно показали, что в легком одной особи каждый очаг (и каждая гранулема) имеет свой неповторимый спектр экспрессии генов, продукции цитокинов, хемокинов и антител. Это означает, что определение интегральных показателей иммунного ответа — даже не в циркуляции, а прямо в легочной ткани, как это делается в резекционном материале у людей и в моделях ТБ на мышах — не дает представления о событиях, происходящих в каждом отдельном очаге инфекции.

Совершенствование моделей на мышах

Ультранизкая доза заражения

В последних процитированных выше работах морских свинок и макак заражали низкими дозами микобактерий, справедливо считая, что это лучше воспроизводит ситуацию с заражением людей естественным путем. Во введении мы уже упоминали об общепринятом мнении, что ТБ у генетически восприимчивого человека возникает, по-видимому, после вдыхания всего 1–5 микобактерий. Классические эксперименты по заражению морских свинок в палатах туберкулезных больных, на которых базируется эта оценка [75, 85], неоднократно проверялись с помощью других подходов с неизменным подтверждением результата (см. обзор [28]). Например, на подготовительной стадии анализа очагов ТБ у макак было установлено, что при заражении обезьян в дозе 10–20 микобактерий на особь большая часть возникающих гранулем возникает в месте локации единичных микобактерий [55]. Этот феномен перекликается с давно высказанным предположением, что микрокапли вдыхаемого естественного аэрозоля, способные физически «вместить» заметно большее количество бактерий, слишком велики и оседают в дыхательных путях гораздо выше альвеол [98].

Отсюда возникли предположения, что некоторые фенотипы инфекции, наблюдаемые у мышей, могут отличаться от клинической картины из-за того, что мышей заражают обычно дозой 50–100 КОЕ в ультрадисперсном аэрозоле, что приводит к одновременному возникновению многих первичных очагов инфекции и совершенно другой динамике ответа хозяина. В частности, у мышей стандартных инбредных линий, таких как C57BL/6 (B6), практически не удается выявить гранулемы с упорядоченной структурой, столь характерные для ТБ у человека. Естественно, были предприняты попытки заражения лабораторных мышей ультранизкими дозами *M. tuberculosis* с последующим анализом картины заболевания.

Первая такая работа позволила уточнить принципы и определить параметры возникновения инфекции в группах мышей. Обсчет результатов заражения по уравнению Пуассона показал, что при рассчитанной дозе для аэрозольной камеры 2 КОЕ/мышь зараженными оказываются менее 67% животных, что соответствует ожидаемым единичным событиям [88]. Более поздние исследования с многофакторным анализом картины заболевания в подобной модели во многом оправдали надежды на более аккуратное моделирование ТБ в сравнительно дешевой и простой модели на мышах. Так, у мышей, зараженных ультранизкой дозой микобактерий, образовывались сферические правильные гранулемы, похожие на гранулемы человека, причем у части животных инфекция в течение долгого времени ограничивалась только одним легким, не распространяясь на второе [82]. Дальнейшее сравнение профилей экспрессии генов в клетках периферической крови мышей, зараженных стандартной (50–100 КОЕ) и ультранизкой дозой, доказало, что картина заболевания и прогрессирования инфекции у животных второй группы значительно точнее соответствует клинической.

В другом исследовании, где применялась ультранизкая доза заражения мышей, удалость установить, что вакцинация BCG действительно снижает вероятность диссеминации инфекции (в данном случае — в ранее остававшимся незараженным левом легком). Более того, несколько уменьшается даже доля животных, у которых развивается первичная инфекция [81]. Другими словами, на этой модели удалось впервые получить данные о частичной эффективности вакцины BCG, оцененной не по срокам выживания и размножению микобактерий в органах, а именно по параметрам, которые применяются при исследованиях в популяциях человека. Широко распространенные модели на мышах таких результатов никогда не приносили.

Выбор генетически чувствительных линий

Подавляющее большинство исследований ТБ на мышах выполнялось и выполняется на животных инбредной линии B6, которую можно считать одной из самых генетически резистентных к инфекции [6, 51]. Неудивительно, что картина туберкулезной патологии, в том числе образования гранулем, у этих животных во многом не соответствует клиническим наблюдениям. Спектр генетической чувствительности у больных, с которыми имеют дело клиницисты, неизвестен. Часть из них может оказаться и резистентными. Например, человек заразился в 15 лет, десятилетия оставался носителем латентной инфекции, а в 50 появились симптомы заболевания — неужели мы можем считать его генетически чувствительным, если он контролировал бессимптомное носительство столько лет? Кстати, такие соображения очень сильно влияют на стратификацию больных ТБ для генетических исследований в человеческих популяциях и привели к идентификации новых локусов, контролирующих ТБ [36]. Однако достаточно высокая доля больных ТБ, а среди детей и подростков она, скорее всего, подавляющая, на самом деле высоко восприимчива к инфекции, поэтому моделировать течение ТБ преимущественно на резистентных животных, в целом, не вполне корректно.

В самом деле, исследование структуры и особенностей образования туберкулезных гранулем у мышей генетически чувствительных к ТБ линий привело к выводу о несправедливости утверждения о полном несоответствии патологии легочной ткани у больных ТБ и зараженных мышей. Так, в исследованиях группы И. Крамника было убедительно показано, что мыши высокочувствительной к ТБ линии C3HeB/FeJ образуют крупные гранулемы с некротическим центром и упорядоченным расположением иммунных клеток на периферии [52, 74]. В нашем исследовании образования гранулем у генетически чувствительных мышей линии I/St было обнаружен и некроз центральных областей крупных гранулем, и развитие гипоксии вокруг областей некроза, и правильное расположение B-клеточных фолликулов с пролиферирующими B- и T-лимфоцитами $CD4^+$ на периферии очагов [49, 56]. Таким образом, изучение возникновения и развития туберкулезных гранулем вполне возможно и правомерно проводить на лабораторных мышах, но следует тщательно выбирать линии животных и изучаемый фенотип самого заболевания.

Заключение. Пересечение врожденного и адаптивного иммунитета: генетические и иммунологические аспекты проблемы

Основные клеточные популяции иммунной системы, механизмы распознавания антигенов микобактерий, объясняющие способы взаимодействия между клетками врожденного и адаптивного иммунного ответа, участвующие в этих процессах регуляторные и эффекторные молекулы очень подробно изучены и описаны в прекрасных обзорах [18, 32]. Оценки того, на какой срок после заражения начинается адаптивный иммунный ответ (что, собственно, и означает окончание ранней фазы ТБ), слегка отличаются для человека, других приматов и лабораторных мышей, но по всем данным это происходит на третьей-четвертой неделе после первого проникновения *M. tuberculosis* в легочную ткань [20,

83]. Эти оценки совпадают и со сроками еще одного важного события — диссеминации микобактерий в селезенку и ранее не зараженное легкое, что было установлено нами в специальной модели заражения мышей непосредственно в правое легкое [70].

Огромное количество полученных данных не касается, однако, одного важного аспекта проблемы: как именно состояние иммунной системы до заражения влияет на последующие события. Понятно, что в клинических исследованиях нет возможности исследовать одних и тех же индивидов до и после заражения ТБ (хотя тщательный ретроспективный анализ прошлых иммунологических исследований, проведенных хотя бы у небольшой доли лиц еще до обращения по поводу пульмонологических проблем, был бы очень любопытен). Но и в экспериментальных работах на инбредных мышах, где возможность таких исследований ничем не ограничена, она практически не используется. Почему-то экспериментаторы почти всегда сначала заражают мышей, потом исследуют болезнь в динамике, но не оценивают состояние иммунной системы у животных той же линии до заражения, то есть следуют парадигме клинического исследования. С точки зрения генетика это — крупный недостаток, потому что такой дизайн исследования приводит к подмене понятий.

Сравнивая еще до заражения состояние иммунной системы у животных двух линий с разным течением инфекции, экспериментатор получает ответ на вопрос именно о природе (в иммунологическом аспекте) высокой и низкой генетической восприимчивости. Такие же исследования, но проведенные после заражения и без учета незараженной контрольной группы, отвечают на вопрос об иммунологических причинах тяжелого или легкого течения заболевания. Эти два признака не только не тождественны, но их анализ дает разный ответ на вопрос о порядке включения в ответ врожденного и адаптивного звеньев иммунитета.

Для идентификации генов, вовлеченных в контроль ТБ, мы вывели большую панель конгенных рекомбинантных линий мышей, отличающихся только небольшими участками комплекса H2, перенесенными за счет рекомбинации от чувствительной к ТБ линии I/St на генетическую основу резистентной линии B6 [62]. Среди линий этой панели, оказались такие, которые отличались от исходной линии B6 только аллелями генов класса II, кодирующих молекулу H2-A, в контексте которой происходит презентация антигенных пептидов Т-клеткам $CD4^+$. Этих тонких различий оказалось достаточно, чтобы новые выведенные линии оказались гораздо чувствительнее к ТБ, чем исходная B6 [59, 62]. Количество Т-клеток CD4 в лимфоидных органах у них было снижено, а клетки имели сильно суженный репертуар Т-рецепторов, причем эти особенности проявлялись еще до заражения туберкулезом [60].

Дальнейший анализ показал, что у мышей конгенной чувствительной линии B6.I-9.3 по сравнению с исходной линией B6 на фоне уменьшенной популяции Т-клеток $CD4^+$ увеличена популяция нейтрофилов, производящих воспалительный фактор S100A8/9, и увеличена концентрация S100A8/9 в сыворотке, а объясняется это тем, что среди Т-клеток CD4 увеличена популяция Th17, но снижена популяция Th1. Все эти фенотипы проявляются еще до заражения. Проведенный генетический анализ напрямую связал фенотипы большей и меньшей восприимчивости к ТБ с расщеплением по аллелям единственного гена H2Ab, по которым различаются две линии мышей [58]. Продукт этого гена напрямую регулирует селекцию Т-клеток CD4 в тимусе и их поддержание на периферии, а это — типичная цепочка событий адаптивного иммунного ответа. Значит, зависимый от селекции Т-клеток $CD4^+$ иммунный ответ регулирует размер популяции и воспалительную активность нейтрофилов, которые, конечно, считаются чуть ли не самым типичным компонентом врожденного иммунитета. Но нейтрофилов в легком до заражения ТБ очень мало, этот тип ответа вторичен по отношению к началу заболевания, а генетическая предрасположенность в данном случае первично зависит от адаптивного звена иммунитета. Как же в этом случае выглядит наш, казалось бы абсолютно логичный, взгляд на порядок иммунных реакций? В данном случае первым действует фактор адаптивного, а затем уже врожденного иммунитета

Мы склоняемся к следующей интерпретации. Эволюционно врожденный иммунитет, несомненно, древнее адаптивного, но уже не менее 550 млн лет они сопутствуют друг другу [95]. Располагая встроенным в геном и в общую физиологию взаимодействия «паразит–хозяин» механизмом селекции и определения размеров популяций Т-клеток, иммунная система сразу включает весь имеющийся арсенал средств, а в его состав входит и способность Т-лимфоцитов регулировать размер популяции нейтрофилов [72]. Принятая классификация типов иммунного ответа — это отражение нашего взгляда на сложную структуру, а в реальной эволюционной биологии в ход пускаются одновременно все сохраненные отбором механизмы.

Совсем недавно были опубликованы результаты чрезвычайно интересного исследования индивидов, у которых, несмотря на проживание в тесном контакте с больными ТБ и носительством ВИЧ-инфекции, не развивались клинические проявления ТБ. Часть этих людей были

носителями латентной инфекции (положительный IGRA-тест), а часть не только не заболевали, но и не давали иммунного ответа на микобактерии [26]. Вторая группа явно относится к когорте лиц с врожденной резистентностью к ТБ (их называют «резисторами» и у них нет признаков ни адаптивного ответа, ни заболевания, хотя общий фон — контакт с больными ТБ в сочетании с ВИЧ — явно неблагоприятный). Две группы сравнили по составу клеток БАЛ методами scRNA-seq и анализа клеточных кластеров. Авторы установили, что в обеих группах присутствует особый подтип цитотоксических Т-лимфоцитов, которые продуцируют перфорин, гранзим B и несут типичные рецепторы NK-клеток, причем у резисторов количество этих клеток в БАЛ достоверно больше. Примечательно, что и уровень экспрессии гена, кодирующего активирующую эти цитотоксические клетки молекулу MICA, оказался выше именно у резисторов. Напротив, у носителей латентной инфекции был повышен по сравнению с резисторами уровень IFNγ. По интерпретации авторов, полученные результаты свидетельствуют о существовании у людей механизма врожденной резистентности к ТБ, также основанной на активности лимфоцитов, но совсем иных по сравнению с Т-клетками $CD4^+$, регулирующими размер популяции нейтрофилов в наших опытах на мышах. В данном случае это цитотоксические Т-клетки с отчетливыми характеристиками врожденного иммунитета.

Наконец, полученные совсем недавно нашей лабораторией данные о динамике иммунного ответа после заражения ТБ мышей упомянутых выше линий B6 и B6.I-9.3 с разной восприимчивостью и течением туберкулезной инфекции позволили установить, чем отличается эффективный ответ на инфекцию от неэффективного в первый месяц после заражения и к чему это приводит на поздних сроках. В этой работе [61] мы установили три такие особенности. Во-первых, в течение 3-х недель после заражения у резистентных и чувствительных конгенных по MHC II мышей количество микобактерий в легких оставалось одинаковым. Несмотря на это, у резистентных животных в этот период в легкие приходило достоверно больше специфичных к микобактериям Т-клеток CD4, продуцирующих IFNγ. Во-вторых, в следующие несколько месяцев резистентные мыши удерживали количество клеток $IFN\gamma^+$ и общую пропорцию активированных клеток $CD4^+$, на более низком уровне, чем чувствительные. Другими словами, был обеспечен приемлемо низкий уровень иммунологического гомеостаза. Мы считаем этот аспект важным, поскольку «перевозбужденная» иммунная система слишком близка к развитию реакций, похожих на деструктивные для тканей аутоиммунные. В-третьих, у чувствительных мышей больший процент Т-клеток $CD4^+$ нес на поверхности маркеры и клеточной активации, и иммунологического ингибирования (checkpoint markers), то есть имел фенотип, который считают ассоциированным с иммунологическим истощением на поздних стадиях инфекции. Совокупность всех полученных в данной тест-системе данных дает возможность заключить, что зависящий от аллелей генов MHC II и возникающий еще до заражения ТБ иммунный гомеостаз Т-клеток CD4, фиксируется на разных уровнях у мышей разных линий. Если этот уровень не оптимален, то последствия затрагивают и ранние, и поздние фазы иммунного ответа на микобактерии.

Благодарности

Авторы благодарны всем сотрудниками лаборатории иммуногенетики ФГБНУ «ЦНИИТ» за предоставленные материалы и обсуждение текста.

Список литературы/References

1. Линге И.А., Апт А.С. Нейтрофилы: неоднозначная роль в патогенезе туберкулеза // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 809–819. [Linge I.A., Apt A.S. A controversial role of neutrophils in tuberculosis infection pathogenesis. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 809–819. (In Russ.)*] *doi: 10.15789/2220-7619-ACR-1670*
2. Майоров К.Б., Григоров А.С., Кондратьева Е.В., Ажикина Е.Л., Апт А.С. Получение Mycobacterium tuberculosis после фагоцитоза нейтрофилами in vivo для генетического и функционального анализа // Вестник ЦНИИТ. 2020. Т. 2, № 2. С. 30–35. [Majorov K.B., Grigorov A.S., Kondratieva E.V., Azhikina T.L., Apt A.S. Extraction of Mycobacterium tuberculosis after in vivo phagocytosis by neutrophils for further genetic and functional analyses. *Vestnik TsNIIT = CRTI Bulletin 2020, vol. 2, no. 2, pp. 30–35. (In Russ.)*] *doi: 10.7868/S2587667820020041*
3. Abu Toamih Atamni H., Nashef A., Iraqi F.A. The collaborative cross mouse model for dissecting genetic susceptibility to infectious diseases. *Mamm. Genome, 2018, vol. 29, no. 7–8, pp. 471–487. doi: 10.1007/s00335-018-9768-1*
4. Alvarez D., Vollmann E.H., von Andrian U.H. Mechanisms and consequences of dendritic cell migration. *Immunity, 2008, vol. 29, no. 3, pp. 325–342. doi: 10.1016/j.immuni.2008.08.006*
5. Apt A.S. Are mouse models of human mycobacterial diseases relevant? Genetics says: 'yes!'. *Immunology, 2011, vol. 134, no. 2, pp. 109–115. doi: 10.1111/j.1365-2567.2011.03472.x*
6. Apt A.S., Logunova N.N., Kondratieva T.K. Host genetics in susceptibility to and severity of mycobacterial diseases. *Tuberculosis (Edinb.), 2017, vol. 106, no. 1, pp. 1–8. doi: 10.1016/j.tube.2017.05.004*

7. Apt A., Kramnik I. Man and mouse TB: contradictions and solutions. *Tuberculosis (Edinb.), 2009, vol. 89, no. 3, pp. 195–198. doi: 10.1016/j.tube.2009.02.002*
8. Balasubramanian V., Wiegeshaus E.H., Taylor B.T., Smith D.W. Pathogenesis of tuberculosis: pathway to apical localization. *Tuber. Lung Dis., 1994, vol. 75, no. 3, pp. 168–178. doi: 10.1016/0962-8479(94)90002-7*
9. Basaraba R.J., Hunter R.L. Pathology of tuberculosis: How the pathology of human tuberculosis informs and directs animal models. *Microbiol. Spectr., 2017, vol. 5: 5. doi: 10.1128/microbiolspec.TBTB2-0029-2016*
10. Bermudez L.E., Goodman J. Mycobacterium tuberculosis invades and replicates within type II alveolar cells. *Infect. Immun., 1996, vol. 64, no. 4, pp. 1400–1406. doi: 10.1128/iai.64.4.1400-1406.1996*
11. Bermudez L.E., Sangari F.J., Kolonoski P., Petrofsky M., Goodman J. The efficiency of the translocation of Mycobacterium tuberculosis across a bilayer of epithelial and endothelial cells as a model of the alveolar wall is a consequence of transport withinmononuclear phagocytes and invasion of alveolar epithelial cells. *Infect. Immun., 2002, vol. 70, no. 1, pp. 140–146. doi: 10.1128/IAI.70.1.140-146.2002*
12. Bhattacharya J., Westphalen K. Macrophage-epithelial interactions in pulmonary alveoli. *Semin. Immunopathol., 2016, vol. 38, no. 4, pp. 461–469. doi: 10.1007/s00281-016-0569-x*
13. Blum J.S., Wearsch P.A., Cresswell P. Pathways of antigen processing. *Annu. Rev. Immunol., 2013, vol. 31, pp. 443–473. doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-095910*
14. Bohrer A.C., Castro E., Hu Z., Queiroz A.T. L., Tocheny C.E., Assmann M., Sakai S., Nelson C., Baker P.J., Ma H., Wang L., Zilu W., du Bruyn E., Riou C., Kauffman K.D.; Tuberculosis Imaging Program; Moore I.N., Del Nonno F., Petrone L., Goletti D., Martineau A.R., Lowe D.M., Cronan M.R., Wilkinson R.J., Barry C.E., Via L.E., Barber D.L., Klion A.D., Andrade B.B., Song Y., Wong K.W., Mayer-Barber K.D. Eosinophils are part of the granulocyte response in tuberculosis and promote host resistance in mice. *J. Exp. Med., 2021, vol. 218: e20210469. doi: 10.1084/jem.20210469*
15. Bohrer A.C., Castro E., Tocheny C.E., Assmann M., Schwarz B., Bohrnsen E. Rapid Gpr183-mediated recruitment of eosinophils to the lung after mycobacterium tuberculosis infection. *Cell. Rep., 2022, vol. 40: 111144. doi: 10.1016/j.celrep.2022.111144*
16. Borkute R.R., Woelke S., Pei G., Dorhoi A. Neutrophils in tuberculosis: cell biology, cellular networking and multitasking in host defense. *Int. J. Mol. Sci., 2021, vol. 22, no. 9: 4801. doi: 10.3390/ijms22094801*
17. Bromley J.D., Ganchua S.K.C., Nyquist S.K., Maiello P., Chao M., Borish H.J., Rodgers M., Tomko J., Kracinovsky K., Mugahid D., Nguyen S., Wang Q.D., Rosenberg J.M., Klein E.C., Gideon H.P., Floyd-O'Sullivan R., Berger B., Scanga C.b A., Lin P.b L., Fortune S.M., Shalek A.K., Flynn J.L. CD4+ T cells re-wire granuloma cellularity and regulatory networks to promote immunomodulation following Mtb reinfection. *Immunity, 2024, vol. 57, no. 10, pp. 2380–2398.e6. doi: 10.1016/j.immuni.2024.08.002*
18. Cadena A.M., Fortune S.M., Flynn J.L. Heterogeneity in tuberculosis. *Nat. Rev. Immunol., 2017, vol. 17, no. 11, pp. 691–702. doi: 10.1038/nri.2017.69*
19. Cadena A.M., Flynn J.L., Fortune S.M. The importance of first impressions: early events in Mycobacterium tuberculosis infection influence outcome. *mBio, 2016, vol. 7, no. 2: e00342-16. doi: 10.1128/mBio.00342-16*
20. Capuano S.V. 3rd, Croix D.A., Pawar S., Zinovik A., Myers A., Lin P.L., Bissel S., Fuhrman C., Klein E., Flynn J.L. Experimental Mycobacterium tuberculosis infection of cynomolgus macaques closely resembles the various manifestations of human M. tuberculosis infection. *Infect. Immun., 2003, vol. 71, no. 10, pp. 5831–5844. doi: 10.1128/IAI.71.10.5831-5844.2003*
21. Carow B., Hauling T., Qian X., Kramnik I., Nilsson M., Rottenberg M.E. Spatial and temporal localization of immune transcripts defines hallmarks and diversity in the tuberculosis granuloma. *Nat. Commun., 2019, vol. 10, no. 1: 1823. doi: 10.1038/s41467-019-09816-4*
22. Cidem A., Bradbury P., Traini D., Ong H.X. Modifying and integrating in vitro and ex vivo respiratory models for inhalation drug screening. *Front. Bioeng. Biotechnol., 2020, vol. 8: 581995. doi: 10.3389/fbioe.2020.581995*
23. Corleisa B., Dorhoi A. Early dynamics of innate immunity during pulmonary tuberculosis. *Immunol. Lett., 2020, vol. 221, pp. 56–60. doi: 10.1016/j.imlet.2020.02.010*
24. Correa-Macedo W., Cambri G., Schurr E. The interplay of human and Mycobacterium tuberculosis genomic variability. *Front. Genet., 2019, vol. 10: 865. doi: 10.3389/fgene.2019.00865*
25. Dallenga T., Repnik U., Corleis B., Eich J., Reimer R., Griffiths G.W., Schaible U.E. Tuberculosis-induced necrosis of infected neutrophils promotes bacterial growth following phagocytosis by macrophages. *Cell Host Microbe, 2017, vol. 22, no. 4, pp. 519–530 e3. doi: 10.1016/j.chom.2017.09.003*
26. Dallmann-Sauer M., Fava V.M., Malherbe S.T., MacDonald C.E., Orlova M., Kroon E.E., Cobat A., Boisson-Dupuis S., Hoal E.G., Abel L., Möller M., Casanova J.L., Walzl G., Du Plessis N., Schurr E. Mycobacterium tuberculosis resisters despite HIV exhibit activated T cells and macrophages in their pulmonary alveoli. *J. Clin. Invest., 2025: e188016. doi: 10.1172/JCI188016*
27. De Waal A.M., Hiemstra P.S., Ottenhoff T.H. M., Joosten A., van der Does A M. Lung epithelial cells interact with immune cells and bacteria to shape the microenvironment in tuberculosis. *Thorax, 2022, vol. 77, no. 4, pp. 408–416. doi: 10.1136/thoraxjnl-2021-217997*
28. Donald P.R., Diacon A.H., Lange C., Demers A.M., von Groote-Bidlingmaier F., Nardell E. Droplets, dust and guinea pigs: an historical review of tuberculosis transmission research, 1878–1940. *Int. J. Tuberc. Lung Dis., 2018, vol. 22 no. 9, pp. 972–982. doi: 10.5588/ijtld.18.0173*
29. Dyatlov A.V., Apt A.S., Linge I.A. B lymphocytes in anti-mycobacterial immune responses: Pathogenesis or protection? *Tuberculosis (Edinb.), 2019, vol. 114, no. 1, pp. 1–8. doi: 10.1016/j.tube.2018.10.011*
30. Eruslanov E. B, Lyadova I. V, Kondratieva T.K., Majorov K.B., Scheglov I.V., Orlova M.O., Apt A.S. Neutrophil responses to Mycobacterium tuberculosis infection in genetically susceptible and resistant mice. *Infect. Immun., 2005, vol. 73, no. 3, pp. 1744–1753. doi: 10.1128/IAI.73.3.1744-1753.2005*
31. Eum S.Y., Kong J.H., Hong M.S., Lee Y.J., Kim J.H., Hwang S.H., Cho S.N., Via L.E., Barry C.F. 3rd. Neutrophils are the predominant infected phagocytic cells in the airways of patients with active pulmonary TB. *Chest, 2010, vol. 137, no. 1, pp. 122–128. doi: 10.1378/chest.09-0903*

32. Flynn J.L., Chan J. Immune cell interactions in tuberculosis. *Cell, 2022, vol. 185, no. 25, pp. 4682–4702. doi: 10.1016/j.cell.2022.10.025*
33. Forbes J.R., Gros P. Iron, manganese, and cobalt transport by Nramp1 (Slc11a1) and Nramp2 (Slc11a2) expressed at the plasma membrane. *Blood, 2003, vol. 102, no. 5, pp. 1884–1892. doi: 10.1182/blood-2003-02-0425*
34. Gideon H.P., Hughes T.K., Tzouanas C.N., Wadsworth M.H., Tu A.A., Gierahn T.M., Peters J.M., Hopkins F.F., Wei J.-R., Kummerlowe C. Multimodal profiling of lung granulomas in macaques reveals cellular correlates of tuberculosis control. *Immunity, 2022, vol. 55, no. 5, pp. 827–846.e10. doi: 10.1016/j.immuni.2022.04.004*
35. Gill A.M. Eosinophilia in tuberculosis. *BMJ, 1940, vol. 17, pp. 220–221. doi: 10.1136/bmj.2.4154.220*
36. Grant A.V., Sabri A., Abid A., Abderrahmani Rhorfi I., Benkirane M. , Souhi H., Naji Amrani H., Alaoui-Tahiri K., Gharbaoui Y., Lazrak F., Sentissi I., Manessouri M., Belkheiri S., Zaid S., Bouraqadi A., El Amraoui N., Hakam M., Belkadi A., Orlova M., Boland A., Deswarte C., Amar L., Bustamante J., Boisson-Dupuis S., Casanova J.L., Schurr E., El Baghdadi J., Abel L. A genome-wide association study of pulmonary tuberculosis in Morocco. *Hum. Genet., 2016, vol. 135. no. 3, pp. 299–307. doi: 10.1007/s00439-016-1633-2*
37. Guilliams M., Lambrecht B.N., Hammad H. Division of labor between lung dendritic cells and macrophages in the defense against pulmonary infections. *Mucosal. Immunol., 2013, vol. 6, no. 3, pp. 464–473. doi: 10.1038/mi.2013.14*
38. Gutierrez M.C., Brisse S., Brosch R., Fabre M., Oma s B., Marmiesse M., Supply P., Vincent V. Ancient origin and gene mosaicism of the pro genitor of mycobacterium tuberculosis. *PLoS Pathog., 2005, vol. 1, no. 1: e5. doi: 10.1371/journal.ppat.0010005*
39. Hashimoto D., Chow A., Noizat C., Teo P., Beasley M.B., Leboeuf M., Becker C.D., See P., Price J., Lucas D., Greter M., Mortha A., Boyer S.W., Forsberg E.C., Tanaka M., van Rooijen N., García-Sastre A., Stanley E.R., Ginhoux F., Frenette P.S, Merad M. Tissue-resident macrophages self-maintain locally throughout adult life with minimal contribution from circulating monocytes. *Immunity, 2013, vol. 38, no. 4, pp. 792–804. doi: 10.1016/j.immuni.2013.04.004*
40. Hoeffel G., Chen J., Lavin Y., Low D., Almeida F.F., See P., Beaudin A.E., Lum J., Low I., Forsberg E.C., Poidinger M., Zolezzi F., Larbi A., Ng L.G., Chan J.K., Greter M., Becher B., Samokhvalov I.M., Merad M., Ginhoux F. C-Myb(+) erythro-myeloid progenitor-derived fetal monocytes give rise to adult tissue-resident macrophages. *Immunity, 2015, vol. 42, no. 4, pp. 665–678. doi: 10.1016/j.immuni.2015.03.011*
41. Hoeffel G., Ginhoux F. Fetal monocytes and the origins of tissue-resident macrophages. *Cell. Immunol., 2018, vol. 330, pp. 5–15. doi: 10.1016/j.cellimm.2018.01.001*
42. Huang L., Nazarova E.V., Tan S., Liu Y., Russell D.G. Growth of Mycobacterium tuberculosis in vivo segregates with host macrophage metabolism and ontogeny. *J. Exp. Med., 2018, vol. 215, no. 4, pp. 1135–1152. doi: 10.1084/jem.20172020*
43. Hunter R.L. The pathogenesis of tuberculosis — The Koch phenomenon reinstated. *Pathogens, 2020, vol. 9, no. 10: 813. doi: 10.3390/pathogens9100813*
44. Iakobachvili N., Leon-Icaza S.A., Knoops K., Sachs N., Mazères S., Simeone R., Peixoto A., Bernard C., Murris-Espin M., Mazières J., Cam K., Chalut C., Guilhot C., López-Iglesias C., Ravelli R.B., Neyrolles J., Meunier E., Lugo-Villarino G., Clevers H., Cougoule C., Peters P.J. Mycobacteria–host interactions in human bronchiolar airway organoids. *Mol. Microbiol., 2022, vol. 117, no. 3, pp. 682–692. doi: 10.1111/mmi.14824*
45. Ji D.X., Witt K.C., Kotov D.I., Margolis S.R., Louie A., Chevée V., Chen K.J., Gaidt M.M., Dhaliwal H.S., Lee A.Y., Nishimura S.L., Zamboni D.S., Kramnik I., Portnoy D.A., Darwin K.H., Vance R.E. Role of the transcriptional regulator SP140 in resistance to bacterial infections via repression of type I interferons. *Elife, 2021, vol. 10: e67290. doi: 10.7554/eLife.67290*
46. Kawasaki T., Ikegawa M., Kawai T. Antigen presentation in the lung. *Front. Immunol., 2022, vol. 13: 860915. doi: 10.3389/fimmu.2022.860915*
47. Khan N., Vidyarthi A., Pahari S., Agrewala J.N. Distinct strategies employed by dendritic cells and macrophages in restricting mycobacterium tuberculosis infection: different philosophies but same desire. *Int. Rev. Immunol., 2016, vol. 35, no. 5, pp. 386–398. doi: 10.3109/08830185.2015.1015718*
48. Klion A.D., Ackerman S.J., Bochner B.S. Contributions of eosinophils to human health and disease. *Annu. Rev. Pathol., 2020, vol. 15, pp. 179–209. doi: 10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032756*
49. Kondratieva E., Logunova N., Majorov K., Averbakh M., Apt A. Host genetics in granuloma formation: human-like lung pathology in mice with reciprocal genetic susceptibility to M. tuberculosis and M. avium. *PLoS One, 2010, vol. 5: e10515. doi: 10.1371/journal.pone.0010515*
50. Kondratieva E., Majorov K., Grigorov A., Skvortsova Y., Kondratieva T., Rubakova E., Linge I., Azhikina T., Apt A. An in vivo model of separate M. tuberculosis phagocytosis by neutrophils and macrophages: gene expression profiles in the parasite and disease development in the mouse host. *Int. J. Mol. Sci., 2022, vol. 23, no. 6: 2961. doi: 10.3390/ijms23062961*
51. Kramnik I. Genetic dissection of host resistance to Mycobacterium tuberculosis: the sst1 locus and the Iprl gene. *Curr. Top. Microbiol. Immunol., 2008, vol. 321, pp. 123–148. doi: 10.1007/978-3-540-75203-5_6*
52. Kramnik I., Beamer G. Mouse models of human TB pathology: roles in the analysis of necrosis and the development of host-directed therapies. *Semi. Immunopathol., 2016, vol. 38, no. 2, pp. 221–237. doi: 10.1007/s00281-015-0538-9*
53. Lavin Y., Mortha A., Rahman A., Merad M. Regulation of macrophage development and function in peripheral tissues. *Nat. Rev. Immunol., 2015, vol. 15, no. 12, pp. 731–744. doi: 10.1038/nri3920*
54. Leu J.S., Chen M.L., Chang S.Y., Yu S.L., Lin C.W., Wang H., Chen W.C., Chang C.H. , Wang J.Y., Lee L.N., Yu C.J., Kramnik I., Yan B.S. SP110b controls host immunity and susceptibility to tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2017, vol. 195, no. 3, pp. 369–382. doi: 10.1164/rccm.201601-0103OC*
55. Lin P.L., Ford C.B., Coleman M.T., Myers A.J., Gawande R., Ioerger T., Sacchettini J., Fortune S.M., Flynn J.L. Sterilization of granulomas is common in active and latent tuberculosis despite within-host variability in bacterial killing. *Nat. Med., 2014, vol. 20, no. 1, pp. 75–79. doi: 10.1038/nm.3412*
56. Linge I., Dyatlov A., Kondratieva E., Avdienko V., Apt A., Kondratieva T. B-lymphocytes forming follicle-like structures in the lung tissue of tuberculosis-infected mice: dynamics, phenotypes and functional activity. *Tuberculosis (Edinb.), 2017, vol. 102, pp. 16–23. doi: 10.1016/j.tube.2016.11.005*

57. Linge I., Kondratieva T., Apt A. B-cell follicles in tuberculous lung: active defenders or modest bystanders? *Immunology, 2023, vol. 169, no. 4, pp. 515–518. doi: 10.1111/imm.13657*
58. Logunova N.N., Kapina M.A., Dyatlov A.V., Kondratieva T.K., Rubakova E.V., Majorov K.B., Kondratieva E.V., Linge I.A., Apt A.S. Polygenic TB control and the sequence of innate/adaptive immune responses to infection: MHC-II alleles determine the size of the S100A8/9-producing neutrophil population. *Immunology, 2024, vol. 173, no. 2, pp. 381–393. doi: 10.1111/imm.13836*
59. Logunova N.N., Kapina M.A., Kondratieva E.V., Apt A.S. The H2-A Class II molecule α/β-chain cis-mismatch severely affects cell surface expression, selection of conventional CD4+ T cells and protection against TB infection. *Front. Immunol., 2023, vol. 14: 1183614. doi: 10.3389/fimmu.2023.1183614. doi: 10.3389/fimmu.2023.1183614*
60. Logunova N.N., Kriukova V.V., Shelyakin P.V., Egorov E.S., Pereverzeva A., Bozhanova N.G., Shugay M., Shcherbinin D.S., Pogorelyy M.V., Merzlyak E.M., Zubov V.N., Meiler J., Chudakov D.M., Apt A.S., Britanova O.V. MHC-II alleles shape the CDR3 repertoires of conventional and regulatory naïve CD4+ T cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA, 2020, vol. 117, no. 24, pp. 13659–13669. doi: 10.1073/pnas.2003170117*
61. Logunova N., Kapina M., Kriukova V., Britanova O., Majorov K., Linge I., Apt A. Susceptibility to and severity of tuberculosis infection in mice depends upon MHC-II-determined level of activation-inhibition balance in CD4 T-cells. *Immunology, 2025. (In press)*
62. Logunova N., Korotetskaya M., Polshakov V., Apt A. The QTL within the H2 complex involved in the control of tuberculosis infection in mice is the classical class II H2-Ab1 gene. *PLoS Genet., 2015, vol. 11: e1005672. doi: 10.1371/journal.pgen.1005672*
63. Lowe D.M., Redford P.S., Wilkinson R J., O'Garra A., Martineau A.R. Neutrophils in tuberculosis: friend or foe? *Trends Immunol., 2012, vol. 33. no. 1, pp. 14–25. doi: 10.1016/j.it.2011.10.003*
64. Lyu J., Narum D.E., Baldwin S.L., Larsen S.E., Bai X., Griffith D.E., Dartois V., Naidoo T., Steyn A.J. C., Coler R.N., Chan E.D. Understanding the development of tuberculous granulomas: insights into host protection and pathogenesis, a review in humans and animals. *Front. Immunol., 2024, vol. 15: 1427559. doi: 10.3389/fimmu.2024.1427559*
65. Majorov K.B., Lyadova I.V., Kondratieva T.K., Eruslanov E.B., Rubakova E.I., Orlova M.O., Mischenko V.V., Apt A.S. Different innate ability of I/St and A/Sn mice to combat virulent Mycobacterium tuberculosis: phenotypes expressed in lung and extrapulmonary macrophages. *Infect. Immun., 2003, vol. 71, no. 2, pp. 697–707. doi: 10.1128/IAI.71.2.697-707.2003*
66. McCaffrey E.F., Donato M., Keren L., Chen Z., Delmastro A., Fitzpatrick M.B., Gupta S., Greenwald N.F., Baranski A. , Graf W., Kumar R., Bosse M., Fullaway C.C., Ramdial P.K., Forgó E., Jojic V., Van Valen D., Mehra S., Khader S.A., Bendall S.C., van de Rijn M., Kalman D., Kaushal D., Hunter R.L., Banaei N., Steyn A.J., Khatri P., Angelo M. The immunoregulatory landscape of human tuberculosis granulomas. *Nat. Immunol., 2022, vol. 23, no. 2, pp. 318–329. doi: 10.1038/s41590-021-01121-x*
67. McDonough K.A., Kress Y. Cytotoxicity for lung epithelial cells is a virulence-associated phenotype of Mycobacterium tuberculosis. *Infect. Immun., 1995, vol. 63, no. 12, pp. 4802–4811. doi: 10.1128/iai.63.12.4802-4811.1995*
68. Meade R.K., Smith C.M. Immunological roads diverged: mapping tuberculosis outcomes in mice. *Trends Microbiol., 2025, vol. 33, no. 1, pp. 15–33. doi: 10.1016/j.tim.2024.06.007*
69. Mihret A. The role of dendritic cells in mycobacterium tuberculosis infection. *Virulence 2012, vol. 3, no. 7, pp. 654–659. doi: 10.4161/viru.22586*
70. Mischenko V.V., Kapina M.A., Eruslanov E.B., Kondratieva E.V., Lyadova I.V., Young D.B., Apt A.S. Mycobacterial dissemination and cellular responses after 1-lobe restricted tuberculosis infection of genetically susceptible and resistant mice. *J. Infect. Dis., 2004, vol. 190, no. 12, pp. 2137–2145. doi: 10.1086/425909*
71. Muefong C.N., Sutherland J.S. Neutrophils in tuberculosis-associated inflammation and lung pathology. *Front. Immunol., 2020, vol. 11: 962. doi: 10.3389/fimmu.2020.00962*
72. Nandi B., Behar S.M. Regulation of neutrophils by interferon γ limits lung inflammation during tuberculosis infection. *J. Exp. Med., 2011, vol. 208, no. 11, pp. 2251–2262. doi: 10.1084/jem.20110919*
73. Nardell E.A. Transmission and institutional infection control of tuberculosis. Cold Spring Harb. *Perspect. Med., 2015, vol. 6, no. 2: a018192. doi: 10.1101/cshperspect.a018192*
74. Niazi M.K., Dhulekar N., Schmidt D., Major S., Cooper R., Abeijon C., Gatti D.M., Kramnik I., Yener B., Gurcan M., Beamer G. Lung necrosis and neutrophils reflect common pathways of susceptibility to Mycobacterium tuberculosis in genetically diverse, immune-competent mice. *Dis. Model. Mech., 2015, vol. 8, no. 9, pp. 1141–1153. doi: 10.1242/dmm.020867*
75. O'Grady F., Riley R.L. Experimental airborne tuberculosis. *Adv. Tuberc. Rev., 1963, vol. 12, pp. 150–190.*
76. Padilla-Carlin D.J., McMurray D.N., Hickey A.J. The guinea pig as a model of infectious diseases. *Comp. Med., 2008, vol. 58, no. 4, pp. 324–340.*
77. Pai S., Muruganandah V., Kupz A. What lies beneath the airway mucosal barrier? Throwing the spotlight on antigen-presenting cell function in the lower respiratory tract. *Clin. Transl. Immunology, 2020, vol. 9, no. 7: e1158. doi: 10.1002/cti2.1158*
78. Peters M., Peters K., Bufens A. Regulation of lung immunity by dendritic cells: Implications for asthma, chronic obstructive pulmonary disease and infectious disease. *Innate Immun., 2019, vol. 25, no. 6, pp. 326–336. doi: 10.1177/1753425918821732*
79. Pisu D. Huang L., Narang V., Theriault M., Lê-Bury G., Lee B., Lakudzala A.E., Mzinza D.T., Mhango D.V., Mitini-Nkhoma S.C., Jambo K.C., Singhal A., Mwandumba H.C., Russell D.G. Single cell analysis of M. tuberculosis phenotype and macrophage lineages in the infected lung. *J. Exp. Med., 2021, vol. 218, no. 9: e20210615. doi: 10.1084/jem.20210615*
80. Pisu D., Johnston L., Mattila J.T., Russell D.G. The frequency of CD38+ alveolar macrophages correlates with early control of M. tuberculosis in the murine lung. *Nature Communications 2024, vol. 15, no. 1: 8522. doi: 10.1038/s41467-024-52846-w*
81. Plumlee C.R., Barrett H.W., Shao D.E., Lien K.A., Cross L.M. , Cohen S.B., Edlefsen P.T., Urdahl K.B. Assessing vaccine-mediated protection in an ultra-low dose Mycobacterium tuberculosis murine model. *PLoS Pathog., 2023, vol. 19, no. 11: e1011825. doi: 10.1371/journal.ppat.1011825*
82. Plumlee C.R., Duffy F.J., Gern B.H., Delahaye J.L., Cohen S.B., Stoltzfus C.R., Rustad T.R., Hansen S.G., Axthelm M.K., Picker L.J., Aitchison J.D., Sherman D.R., Ganusov V.V., Gerner M.Y., Zak D.E., Urdahl K.B. Ultra-low dose aerosol infection of mice with Mycobacterium tuberculosis more closely models human tuberculosis. *Cell Host Microbe, 2021, vol. 29, no. 1, pp. 68–82.e5. doi: 10.1016/j.chom.2020.10.003*

83. Reiley W.W., Calayag M.D., Wittmer S.T., Huntington J.L., Pearl J.E., Fountain J.J., Martino C.A., Roberts A.D., Cooper A.M., Winslow G.M., Woodland D.L. ESAT-6-specific CD4 T cell responses to aerosol Mycobacterium tuberculosis infection are initiated in the mediastinal lymph nodes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA, 2008, vol. 105, no. 31, pp. 10961–10966. doi: 10.1073/pnas.0801496105*
84. Reuschl A.-K., Edwards M.R., Parker R., Connell D.W., Hoang L., Halliday A., Jarvis H., Siddiqui N., Wright C., Bremang S., Newton S.M., Beverley P., Shattock R.J., Kon O.M., Lalvani A. Innate activation of human primary epithelial cells broadens the host response to Mycobacterium tuberculosis in the airways. *PLoS Pathog., 2017, vol. 13: e1006577–26. doi: 10.1371/journal.ppat.1006577*
85. Riley R.L., Mills C.C., Nyka W., Weinstock N., Storey P.B., Sultan L.U., Riley M.C., Wells W.F. Aerial dissemination of pulmonary tuberculosis. A two year study of contagion in a tuberculosis ward. *Am. J. Hyg., 1959, vol. 70, pp. 185–196.*
86. Russell D.G., Simwela N.V., Mattila J.T., Flynn J., Mwandumba H.C. , Pisu D. How macrophage heterogeneity affects tuberculosis disease and therapy. *Nat. Rev. Immunol., 2025. doi: 10.1038/s41577-024-01124-3*
87. Ryndak M.B., Chandra D., Laal S. Understanding dissemination of Mycobacterium tuberculosis from the lungs during primary infection. *J. Med. Microbiol., 2016, vol. 65, no. 5, pp. 362–369. doi: 10.1099/jmm.0.000238*
88. Saini D., Hopkins G.W., Seay S.A., Chen C.J., Perley C.C., Click E.M., Frothingham R. Ultra-low dose of Mycobacterium tuberculosis aerosol creates partial infection in mice. *Tuberculosis (Edinb.), 2012, vol. 92, no. 2, pp. 160–165. doi: 10.1016/j.tube.2011.11.007*
89. Sankar P., Mishra B.B. Early innate cell interactions with Mycobacterium tuberculosis in protection and pathology of tuberculosis. *Front. Immunol., 2023, vol. 14: 1260859. doi: 10.3389/fimmu.2023.1260859*
90. Sawyer A.J., Patrick E., Edwards J., Wilmott J.S., Fielder T., Yang Q., Barber D.L., Ernst J.D., Britton W.J., Palendira U., Chen X., Feng C.G. Spatial mapping reveals granuloma diversity and histopathological superstructure in human tuberculosis. *J. Exp. Med., 2023, vol. 220, no. 6: e20221392. doi: 10.1084/jem.20221392*
91. Sutherland J.S., Jeffries D.J., Donkor S., Walther B., Hill P.C., Adetifa I.M., Adegbola R.A., Ota M.O. High Granulocyte/Lymphocyte ratio and paucity of NKT cells defines tb disease in a tb-endemic setting. *Tuberculosis (Edinb.), 2009, vol. 89, no. 6, pp. 398–404. doi: 10.1016/j.tube.2009.07.004*
92. Tian T., Woodworth J., Skold M., Behar S.M. In vivo depletion of Cd11c+ cells delays the Cd4+ t-cell response to Mycobacterium tuberculosis and exacerbates the outcome of infection. *J. Immunol., 2005, vol. 175, no. 5, pp. 3268–3272. doi: 10.4049/jimmunol.175.5.3268*
93. Ulrichs T., Kosmiadi G.A., Trusov V., Jörg S., Pradl L.,Titukhina M., Mishenko V., Gushina N., Kaufmann S.H. E. Human tuberculous granulomas induce peripheral lymphoid follicle-like structures to orchestrate local host defense in the lung. *J. Pathol., 2004, vol. 204, no. 2, pp. 217–228. doi: 10.1002/path.1628*
94. Urdahl K.B. Understanding and overcoming the barriers to T cell-mediated immunity against tuberculosis. *Semin. Immunol., 2014, vol. 26, no. 6, pp. 578–587. doi: 10.1016/j.smim.2014.10.003*
95. Verissimo L., Castro F.C., Muñoz-Mérida A., Almeida T., Gaigher A., Neves F., Flajnik M.F., Ohta Y. An ancestral Major Histocompatibility Complex organization in cartilaginous fish: reconstructing MHC origin and evolution. *Mol. Biol. Evol., 2023, vol. 40, no. 12: msad262. doi: 10.1093/molbev/msa*
96. Via L.E., Lin P.L., Ray S.M., Carrillo J., Allen S.S., Eum S.Y. , Taylor K., Klein E., Manjunatha U., Gonzales J., Lee E.G., Park S.K., Raleigh J.A., Cho S.N., McMurray D.N. , Flynn J. L ., Barry C.E. 3rd. Tuberculous granulomas are hypoxic in guinea pigs, rabbits, and nonhuman primates. *Infect. Immun., 2008, vol. 76, no. 6, pp. 2333–2340. doi: 10.1128/IAI.01515-07*
97. Vidal S., Malo D., Vogan K., Skamene E., Gros P. Natural resistance to infection with intracellular parasites: isolation of a candidate for Bcg. *Cell, 1993, vol. 73, no. 3, pp. 469–485. doi: 10.1016/0092-8674(93)90135-d*
98. Wells W.F., Ratcliffe H.L., Grumb C. On the mechanics of droplet nuclei infection: quantitative experimental air-borne tuberculosis in rabbits. *Am. J. Hyg., 1948, vol. 47, no. 1, pp. 11–28. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a119179*
99. Williams A., Orme I.M. Animal models of tuberculosis: an overview. *Microbiol. Spectr., 2016, vol. 4: 4. doi: 10.1128/microbiolspec.TBTB2-0004-2015*
100. Woo Y.D., Jeong D., Chung D.H. Development and functions of alveolar macrophages. *Mol. Cells, 2021, vol. 44, no. 5, pp. 292–330. doi: 10.14348/molcells.2021.0058*
101. Yeremeev V., Linge I., Kondratieva T., Apt A. Neutrophils exacerbate tuberculosis infection in genetically susceptible mice. *Tuberculosis (Edinb.), 2015, vol. 95, no. 4, pp. 447–451. doi: 10.1016/j.tube.2015.03.007*

Авторы:

Кондратьева Т.К., д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногенетики отдела иммунологии ФГБНУ Центральный НИИ туберкулеза, Москва, Россия;
Кондратьева Е.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики отдела иммунологии ФГБНУ Центральный НИИ туберкулеза, Москва, Россия;
Апт А.С., д.б.н., профессор, зав. лабораторией иммуногенетики отдела иммунологии ФГБНУ Центральный НИИ туберкулеза, Москва, Россия.

Authors:

Kondratieva T.K., DSc (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Immunogenetics, Immunology Department, Central TB Research Institute, Moscow, Russian Federation;
Kondratieva E.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Immunogenetics, Immunology Department, Central TB Research Institute, Moscow, Russian Federation;
Apt A.S., DSc (Biology), Professor, Head of the Laboratory of Immunogenetics, Immunology Department, Central TB Research Institute, Moscow, Russian Federation.

Поступила в редакцию 03.03.2025
Принята к печати 25.03.2025

Received 03.03.2025
Accepted 25.03.2025

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 446–464

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 446–464

ВЛИЯНИЕ ВИРУСОВ И РЕТРОТРАНСПОЗОНОВ НА ГЕНЕТИЧЕСКУЮ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ И СТАРЕНИЕ ОРГАНИЗМА

Е.В. Лысакова, М.Ю. Бурак, М.Б. Навроцкий, С.А. Рыбцов

АНОО ВО Научно-технологический университет «Сириус», Федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия

Резюме. Профилактическая медицина имеет многообещающий потенциал для отдаления и даже предотвращения развития опасных патологий, связанных с возрастом. Разработка новых методов вакцинации, новых профилактических препаратов, сердечно-сосудистых имплантов и методов ранней диагностики увеличила продолжительность жизни как в России, так и во всем мире. Повышенный риск развития ряда возраст-ассоциированных заболеваний может быть связан с нарастающей с возрастом генетической нестабильностью и, как результат, накоплением сенесцентных клеток во всех тканях организма. Такие клетки теряют функциональную активность, замещая нормальные клетки, и характеризуются секрецией провоспалительных цитокинов, создавая хронический воспалительный фон, характерный для старения. Возрастание генетической нестабильности связано с увеличением активности эндогенных вирусов и ретротранспозонов, а также с инфицированием рядом вирусов и бактерий, в результате чего происходит повреждение генетического аппарата клетки, нарушение транскрипции, трансляции и репарации. В обзоре обсуждаются новые подходы к профилактике, связанные с контролем генетической нестабильности и вирусных инфекций, повышающих риск возраст-ассоциированных патологий. Обсуждаются причины генетической нестабильности, механизмы контроля и сопутствующие патологии, включая развитие пролиферативных, нейродегенеративных заболеваний, старение клеток и их вклад в хроническое воспаление. В качестве перспективных профилактических средств подавления возраст-зависимой генетической нестабильности предлагаются противовирусные препараты и препараты, подавляющие активность эндогенных обратных транскриптаз. Хотя такие препараты уже используются в клинике для контроля вируса иммунодефицита человека, в настоящее время не существует препаратов, которые возможно принимать на постоянной основе без серьезных побочных эффектов. В связи с этим особенно важным является разработка препаратов нового поколения, которые могли бы использоваться как профилактические средства и отвечали бы требованиям эффективности и безопасности, обладая минимальными побочными эффектами. Как перспективное направление в профилактике возраст-ассоциированных патологий обсуждается разработка эффективных и безопасных субстанций, которые способны удалять сенесцентные клетки (сенолитики) либо блокировать секрецию провоспалительных факторов (сеноморфиков), поскольку эти провоспалительные факторы повышают риск развития пролиферативных, нейродегенеративных, аутоиммунных заболеваний. Другим возможным методом профилактики генетической

Адрес для переписки:
Рыбцов Станислав Александрович
354340, Россия, Краснодарский край, Федеральная территория «Сириус», Олимпийский пр., 1,
АНОО ВО Научно-технологический университет «Сириус».
Тел.: 8 928 231-31-88.
E-mail: rybtsov.sa@talantiuspeh.ru

Contacts:
Stanislav A. Rybtsov
354340, Russian Federation, Krasnodar Region,
Sirius Federal Territory, Olimpiiskii pr., 1, Sirius University of Science and Technology.
Phone: +7 928 231-31-88.
E-mail: rybtsov.sa@talantiuspeh.ru

Для цитирования:
Лысакова Е.В., Бурак М.Ю., Навроцкий М.Б., Рыбцов С.А. Влияние вирусов и ретротранспозонов на генетическую нестабильность и старение организма // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 446–464. doi: 10.15789/2220-7619-IOV-17834

Citation:
Lysakova E.V., Burak M.Yu., Navrotsky M.B., Rybtsov S.A. Impact of viruses and retrotransposons on genetic instability and aging // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 446–464. doi: 10.15789/2220-7619-IOV-17834

Результаты получены при финансовой поддержке исследования, реализуемого в рамках государственной программы федеральной территории «Сириус» «Научно-технологическое развитие федеральной территории «Сириус» (Соглашение № 18-03 от 10.09.2024).
The results were obtained with the financial support of the research implemented within the framework of the state program of the federal territory "Sirius" "Scientific and technological development of the federal territory "Sirius" (Agreement No. 18-03 dated 10.09.2024).

© Лысакова Е.В. и соавт., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-IOV-17834

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

нестабильности и накопления сенесцентных клеток является поиск высокоспецифичных мишеней и разработка методов иммунизации, позволяющих иммунной системе самостоятельно удалить клетки с повышенной генетической нестабильностью. Применяемые в совокупности, предлагаемые подходы способны продлить активный возраст и снизить нагрузку на систему здравоохранения.

Ключевые слова: *генетическая нестабильность, возрастные патологии, ретроэлементы, ретровирусы, онковирусы, ингибитор обратной транскриптазы, сенесцентность, вакцинация, профилактическая медицина.*

IMPACT OF VIRUSES AND RETROTRANSPOSONS ON GENETIC INSTABILITY AND AGING

Lysakova E.V., Burak M.Yu., Navrotsky M.B., Rybtsov S.A.

Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Krasnodar Region, Russian Federation

Abstract. Preventive medicine holds significant promise for delaying and even preventing dangerous age-related pathologies. Advances in vaccine development, new preventive medications, cardiovascular implants and early diagnostic tools has increased life expectancy both in Russia and worldwide. Age-dependent genetic instability results in increased risk of developing a number of age-associated diseases. One consequence of this instability is the accumulation of senescent cells across tissues. Senescent cells lose functional activity, replacing normal cells, and are characterized by the secretion of proinflammatory cytokines, creating a chronic inflammatory background, which is the main characteristic of aging. Genetic instability is associated with higher activity of endogenous retroviruses, retrotransposons. Additionally, exogenic viruses and bacteria are able to damage cell genetic apparatus and induce disrupted transcription, translation and repair. The review discusses new approaches aimed at reducing the risk of age-related diseases by controlling genetic instability and viral infections, as well as mechanisms regulating genetic stability. Among the repercussions of disrupting such mechanisms are the development of proliferative, neurodegenerative diseases, cellular senescence and their contribution to chronic inflammation. Antiviral medications and compounds that suppress the activity of endogenous reverse transcriptases are proposed as promising preventive agents for suppressing age-related genetic instability. Although such substances are already used in the clinic to control human immunodeficiency virus, there are currently no medications suitable for long-term use without significant side effects. In this regard, it is primarily important to develop new generation medications that could be used as preventive agents and would meet efficacy and safety requirements, with minimal side effects. The review also explores other promising approaches such as senolytics (agents that selectively eliminate senescent cells) and senomorphics (substances that suppress proinflammatory in prevention of age-associated pathologies. Another perspective method for preventing genetic instability and accumulation of senescent cells is a search for highly specific targets and the development of immunization approaches that allow immune system to remove damaged and senescent cells with increased genetic instability. The proposed approaches can prolong health span and reduce the burden on healthcare system.

Key words: *genetic instability, age-associated pathologies, retroelements, retroviruses, oncoviruses, reverse transcriptase inhibitor, senescence, vaccination, preventive medicine.*

Введение

Во всем мире и, в частности, в России, увеличивается доля населения, занимающегося активной трудовой деятельностью в пожилом возрасте. В связи повышением пенсионного возраста выросло число нетрудоспособных людей предпенсионного и пенсионного возраста, страдающих заболеваниями, ассоциированными с возрастом. Это увеличивает нагрузку на систему здравоохранения [2, 43].

В то же время трудоспособное население предпенсионного возраста обладает колоссальным рабочим опытом и является ценным человеческим ресурсом для обучения молодежи и обеспечения экономического роста России. По данным Федеральной службы государственной статистики (Росстат, 2024, https://www.fedstat.ru/indicator/62034, проверено 03.12.2024), количество пенсионеров в 2024 г. составляло 41 млн, из них работающих пенсионеров около 8 млн человек.

Работающие пенсионеры являются важным ресурсом для экономики страны в условиях нехватки квалифицированных трудовых ресурсов в России. Вместе с тем трудоспособные неработающие пенсионеры обеспечивают дополнительный доход домохозяйствам, занимаясь воспитанием детей и посильным домашним трудом, что вносит свой позитивный вклад в экономику. Таким образом, сохранение здоровья лиц пожилого возраста чрезвычайно актуально, особенно в связи с дороговизной обучения новых профессиональных кадров. Продление трудоспособного возраста населения, сохранения здоровья и активного долголетия является приоритетной задачей для экономического развития России и современной системы здравоохранения.

Старение организма ассоциировано с такими заболеваниями как ожирение, депрессия, потеря слуха, катаракта, остеоартрит, остеопороз, ревматоидный артрит, хроническая обструктивная болезнь легких, нейродегенератив-

ные заболевания, деменция, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, хроническая ишемия головного мозга, фиброз и цирроз печени, диабет, онкологические заболевания [2, 43].

Существенный вклад в старение организма вносит также старение иммунной системы, в результате чего снижается эффективность противодействия организма инфекциям и увеличивается риск развития хронических инфекционных заболеваний и осложнений от инфекций, а также способность распознавать и удалять поврежденные и стареющие клетки [17, 21, 118].

На клеточном уровне старение организма подразумевает увеличение доли сенесцентных, то есть потерявших функциональную активность и имеющих воспалительный секреторный фенотип, клеток. Одной из причин возникновения сенесцентных клеток является повышенная генетическая нестабильность, которая обусловлена накоплением мутаций вследствие дефектов репарации, трансляции, снижения контроля активности эндогенных ревертаз (обратных траскриптаз, ОТ) — ключевого фермента, обеспечивающего транспозицию эндогенных ретротранспозонов и ретровирусов. Кроме того, негативный вклад в функцию генетического аппарата клетки вносят экзогенные хронические вирусные инфекции, вызывающие клеточный стресс и повреждение ДНК.

Достижения в профилактике возраст-зависимых заболеваний

В современных медицинских исследованиях обсуждается переход от непосредственного лечения заболевания и его последствий к профилактической модели здравоохранения как совокупности мер по снижению факторов риска, ранней диагностике и предотвращению осложнений. Понимание механизмов возрастных патологий может стать ключевым компонентом при разработке средств профилактики и методов предотвращения заболеваний.

Большим успехом превентивной медицины XX века стала разработка прививок, противовоспалительных средств и антибиотиков, а также препаратов, контролирующих артериальное давление и уровень сахара в крови. Это привело к увеличению продолжительности и качества жизни в развитых странах [135].

В начале XXI века большой прогресс в здравоохранении был достигнут благодаря разработке новых средств профилактики ожирения, пробиотиков, противовирусных препаратов, развитию диетологии, методов стентирования и протезирования и более эффективных методов иммунизации. Кроме того, в связи с развитием технологий генетического секвенирования, в настоящий момент наметились тенденции к созданию высокопроизводительных и мультиплексных диагностических методов. Как результат, были открыты сигнальные пути, связанные со старением, что выявило ряд механизмов клеточного старения, возраст-зависимого воспаления (inflammaging) и причин генетической нестабильности [3, 75, 125].

Генетическая нестабильность, то есть склонность генома претерпевать изменения последовательности ДНК в результате мутаций, считается главным признаком старения генетического аппарата клетки и организма в целом. Именно с увеличением количества мутаций и нарастанием генетической нестабильности связано увеличение риска возрастных заболеваний (в том числе опухолевых), анемий, пролиферативных заболеваний иммунной системы, клонального кроветворения и воспалительных нарушений [87, 96, 124, 130].

Экзогенные инфекционные факторы генетической нестабильности

К биогенным (экзогенным) факторам, влияющим на генетическую нестабильность и клеточное старение, относятся хронические торпидные инфекции, которые ослабляют иммунитет и ускоряют старение организма, а также повышенная активность эндогенных ретровирусов и ретротранспозонов [66, 70, 85, 88, 122].

Особую роль играют экзогенные ретровирусы — это РНК-содержащие вирусы, поражающие клетки млекопитающих, используя механизм обратной транскрипции. Ретровирусы кодируют собственную обратную транскриптазу, позволяющую им синтезировать ДНК на основе РНК-матрицы и встраиваться в геном. Известно несколько подсемейств ретровирусов, объединенных в три основные группы: онкоретровирусы, в том числе, Т-лимфотропный вирус человека (HTLV), провоцирующий развитие лейкемии [5, 87]; лентивирусы, в частности, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, блокирующие адаптивный иммунный ответ и вызывающие иммунодефицит [45]; спумавирусы (пенистые вирусы). Хотя в случае спумавирусов не обнаружена связь с каким-либо заболеванием человека или животных, наблюдается их бессимптомное носительство, сопровождающееся изменениями цитоплазмы пораженных клеток, напоминающими образование пены. Все эти вирусы успешно встраиваются в геном млекопитающих и являются возможной причиной мутаций и снижения стабильности генома [16].

Кроме экзогенных ретровирусов, способных поражать организм человека и, встраиваясь в геном, вызывать генетическую нестабильность, существует ряд эндогенных обратных транскриптаз, кодируемых в последовательностях эндогенных ретровирусов и ретротранспозонов.

Эндогенные инфекционные факторы генетической нестабильности

Ретротранспозоны являются интегральной (эндогенной) частью генома человека и, как показали исследования, увеличивают свою активность с возрастом, вызывая локальные повышения генетической нестабильности в определенных клеточных популяциях [41]. В экспериментах на клеточных культурах эктопическая экспрессия ретроэлементов может вызывать гибель клетки путем некроптоза [53].

Выделяют 2 типа ретротранспозонов: длинные (LINEs, long interspersed nuclear elements/длинные вкрапленные ядерные элементы) и короткие (SINEs, short interspersed nuclear elements/короткие вкрапленные ядерные элементы), не содержащие длинных концевых повторов (LTR — long terminal repeats). LINEs содержат гены, кодирующие обратную транскриптазу (ОТ), РНК-связывающий белок, нуклеазу и Н-домен рибонуклеазы, в то время как SINEs не содержат гены, кодирующие ОТ, но также способны к самовоспроизведению в клетках эукариот, используя другие эндогенные ревертазы [46].

Геном человека содержит около 21% LINEs и около 13% SINEs, составляющих, таким образом, существенную его часть и, в случае увеличения степени их самокопирования, с возрастом способные негативно влиять на стабильность генома [46].

Хотя большинство копий LINE-1 элементов в геноме повреждено и не способно самовоспроизводиться, в геноме человека содержится до 100 полнофункциональных копий, в которые входят так называемые ORF0, ORF1 и ORF2 (открытые рамки считывания, open reading frames) — последовательности, кодирующие разные функциональные факторы LINE1-элементов, отвечающие за самокопирование. Причем ORF1 экспрессируются в 1000–10 000 раз более активно, чем ORF2 [107].

ORF1p — белок массой 40 kDa, обладающий РНК-связывающей и шаперонной активностью; ORF2p — белок массой 150 kDa, имеющий активность эндонуклеазы и обратной транскриптазы. При сборке белки ORF1p переплетаются по всей длине и ассоциируются по N-концевой спирали, образуя гомотример. Центральные мотивы узнавания РНК и С-концевые домены вместе образуют глубокие промежуточные щели, которые, вероятно, взаимодействуют с одноцепочечной РНК LINE-1. ORF1p и ORF2p связываются с РНК LINE-1, образуя рибонуклеопротеиновую частицу (RNP) [63].

Затем RPN перемещается в ядро, перенося туда РНК. В ядре РНК LINE-1 подвергается обратной транскрипции и вставляется в ядерную ДНК. ORF0 экспрессируется с промотора, находящегося в антисмысловой ориентации в 5'-нетранслируемой последовательности LINE-1, и, по-видимому, влияет на процесс ретротранспозиции, но ее точная функция неизвестна [9]. Белки LINE-1 также поддерживают ретротранспозицию некоторых неавтономных элементов, включая Alu и SVA и увеличивая таким образом генетическую нестабильность [36].

Активация ретротранспозонов нарушает целостность нуклеиновых кислот, что включает DDR сигнальный путь, приводящий к синтезу интерферона и формированию воспалительного фенотипа у клеток, запуская антивирусный иммунный ответ, что в некоторых случаях может вызывать аутоиммунные расстройства, так как ретротранспозоны являются частью генома всех клеток организма. С повышенной активностью ретротранспозонов связывают патогенез при ревматоидном артрите, системной красной волчанке и синдроме Шегрена [64, 83]. Например, повышенная активность LINE-1 (детектированного anti-ORF1p антителами) обнаружена у пациентов с системной красной волчанкой. При этом комбинация антиретровирусных нуклеозидных препаратов эмтрицитабина и тенофовир алафенамида фумарата снижала воспалительную реакцию нейтрофилов и симптомы заболевания [129].

Показано влияние активности транспозонов на важные гены, вовлеченные в патогенез воспалительных заболеваний. Так, транспозиция в 3'-нетранслируемый регион TNF, повышающая транскрипцию этого гена, была обнаружена у мышей с полиартритом и патологией клапанов сердца [65].

Эндогенные ретровирусы человека, HERV (Human endogenous retroviruses), являются значительной группой эндогенных вирусов. Встроенные в геном в наиболее поздний период развития млекопитающих, HERV составляют 8% генома человека. Семейство HERV типа K (HERV-K), HML-2 (HK2) содержит провирусы, активность которых является фактором риска развития социально значимых возраст-ассоциированных заболеваний [71]. Значительное количество копий HERV-K имеет открытые рамки считывания и активно транскрибируется при канцерогенезе [105]. Так, найдена ассоциация экспрессии HERV-K транскриптов с инвазивной карциномой протоков молочной железы [55] и с пролиферацией и инвазивностью меланомы через регуляцию белка K-Rec [120]. Увеличение количества антител против оболочки HERV-K ассоциировано с прогрессированием рака простаты [102]. В последнее время появляется понимание, что повышенная активность HERV-K ассоциирована с накоплением сенесцентных клеток и с системным воспалительным старением [144].

Подгруппа HML-2 из HERV является самой эволюционно молодой из эндогенных ретро-

вирусов в геноме человека и активно транскрибируется. Аномальная экспрессия HML-2 во взрослых тканях обнаружена в различных типах раков [23, 38, 59] и ассоциирована с нейродегенеративными заболеваниями [30, 68]. Антигены оболочки этого вируса были предложены как перспективная цель для разработки лекарственных препаратов против широкой панели воспалительных и онкологических заболеваний [84].

Обнаружено, что часть HERV содержат обратные транскриптазы. Сравнительная оценка воздействия на HERV блокаторов ретровирусной репликации позволила отобрать эффективные ингибиторы [22].

Все эти данные показывают, что наиболее эволюционно молодые ретровирусы и ретроэлементы в случае выхода из-под генетического контроля вызывают наибольшую генетическую нестабильность.

Несмотря на ряд негативных эффектов ретротранспозонов и ретровирусов на организм при патогенезе ряда заболеваний, в ходе эволюции некоторые виды активности ретротранспозонов были адаптированы под нужды организма. Так, в ранних эмбрионах было обнаружено увеличение функциональной активности ОТ. В то время как эмбриональные клетки обладают высоким пролиферативным потенциалом, блокировка у мышиных эмбрионов микроинъекциями анти-ОТ-антител снижала пролиферацию и приводила к задержкам развития [116]. Кроме того, в связи с эволюционными приспособлениями млекопитающих, обнаружена функция эндогенных ревертаз в противовирусном иммунитете эмбриональных стволовых клеток. Так, при фармакологическом подавлении активности эндогенных ревертаз, увеличивалась репликация экзогенных вирусов в эмбриональных стволовых клетках. Оказалось, что ревертазы эндогенных транспозонов способны активироваться в ответ на стимуляцию IFNγ и синтезировать на матрице экзогенной вирусной РНК последовательности ДНК, формируя дуплекс ДНК/вирусная РНК, таким образом создавая условия для деградации РНК вируса с помощью РНКазы H1. Такой механизм ингибирует вирусную репликацию в эмбриональных стволовых клетках. При этом противовирусная активность эндогенных ревертаз не зависит от РНК-интерференции и внутренней экспрессии интерферон-стимулированных генов [138]. У человека значительное количество копий HERV-K имеет открытые рамки считывания и также активно транскрибируются в раннем эмбриогенезе [42], во время нейрональной дифференцировки в эмбрионе [133]. Более того, сверхэкспрессия вспомогательного белка Rec из HERV-K увеличивает на поверхности клеток уровень экспрессии IFITM1, что способствует подавлению вирусной инфекции [60, 119]. IFITM1 является одним из характерных генов сигнального пути интерферона. Другие гены этого сигнального пути — IFIT1, IFI6, MX1, OAS2 — также экспрессируются на пресенесцентных клетках и во время истощающей воспалительной пролиферации [86].

Также показано, что активность ретротранспозонов в гематопоэтических стволовых клетках (ГСК) во время беременности резко увеличивается, что вызывает усиление дифференцировки ГСК в сторону эритроидных предшественников и увеличение количества эритроцитов в циркуляции крови. Блокировка активности транспозонов ингибиторами обратных транскриптаз снижает эритропоэз у беременных мышей и при систематической потере крови. Такая активация транспозон-зависимого эритропоэза происходит через сигнальный каскад cGAS-STING, который связан с повреждением ДНК и синтезом интерферона [28, 91, 95].

Некоторые из генов транспозонов катализируют V(D)J-рекомбинацию [143], а также участвуют в слиянии трофобластов при развитии плаценты [34]. Белки транспозонов вовлечены в перенос мРНК от клетки к клетке. Это необходимо для обеспечения синаптической пластичности при формировании памяти [89].

Таким образом, отдельные регуляторные элементы и гены транспозонов могут участвовать в нормальном жизненном процессе, однако в нормальных условиях во взрослом организме их активность подавляется. Их активация во взрослом организме связана со многими заболеваниями, связанными с возрастом.

Генетический контроль эндогенной активности ОТ в клетке

Описано многочисленное семейство генов, сдерживающих генетическую нестабильность. С возрастом экспрессия многих из них снижается в ответ на внутриклеточные повреждения. Такие гены составляют до 35% генома человека, и большинство из них отвечают за контроль активности транспозонов. В норме экспрессия ретротранспозонов, кодирующих эндогенные ОТ, в дифференцированных клетках репрессирована и подавляется модификациями гистонов, метилированием регуляторных районов LINE-ДНК, экспрессией piRNA, siRNA и метилированием РНК N6-метиладенозина (m6A), что предотвращает пагубное воздействие этих элементов на геном хозяина, сдерживая активность ОТ, соответственно, подавляя перемещение мобильных элементов и нестабильность генома [24].

Наиболее обширный класс генов, контролирующих транспозабельную активность, состав-

ляют белки-регуляторы транскрипции семейства ZFP (Zinc-finger proteins — белки с цинковыми пальцами). ZFP содержат KRAB-домен (Krüppel-associated box, KZFP), отвечающий за белок-белковые взаимодействия. ZFP — обширный класс транскрипционных факторов, эволюционировавших совместно с транспозонами и эндогенными ретровирусами для контроля их активности [134]. ZFP преимущественно связываются с двуцепочечной РНК транспозонов и привлекают TRIM28, который взаимодействует, например, с метилтрансферазой H3K9 SETDB1. В результате таких событий происходит триметилирование гистонов, что подавляет открытие хроматина и репрессирует транскрипцию транспозонов. SETDB1, взаимодействуя с TRIM28, играет решающую роль в подавлении ERV типа I и типа II у мышей. Нокаут в гене *Trim28* показал важность этого гена для сдерживания экспрессии ERV и нормальной транскрипции в эмбриональных стволовых клетках [109].

Целая серия белков, связанных с регуляцией хроматина, сдерживает экспрессию транспозонов и эндогенных ретровирусов. Мутации в генах *Kat5, Ncor2, Prmt5, Rnf2, Rrp8, Setdb1* и *Uhrf1*, которые взаимодействуют в контекст-зависимой манере с ZFP, вызывали широкомасштабные изменения доступности хроматина и экспрессии мобильных элементов [47].

Существуют и другие негативные регуляторы ревертазной активности, например, сиртуины. Сиртуины (sirtuins, SIRT) большое семейство НАД-зависимых деацетилаз гистонов. Повышение экспрессии SIRT-1,-2,-3,-4,-6 ассоциированы с увеличением продолжительности жизни, что показано на нескольких моделях животных. Эти белки замедляют клеточное старение через регуляцию аутофагии. SIRT-1,-2,-6,-7 также сдерживают старение стволовых клеток через регуляцию их метаболизма и аутофагии [131]. SIRT6 участвует во многих процессах, включая репарацию ДНК, регуляцию активности теломеразы, аутофагию, метаболизм и эпигенетическое подавление экспрессии ОТ ретротранспозонов LINE-1. Сверхэкспрессия SIRT6 увеличила продолжительность жизни самцов мышей. Авторы предположили, что такое увеличение связано с эффективным подавлением элементов LINE-1 и со снижением воспаления [12, 58]. В настоящее время перспективным направлением является разработка препаратов, увеличивающих активность негативных эпигенетических ингибиторов ревертазной активности SIRT6 и SIRT7, которая может быть полезной для превентивной медицины и для продления здорового долголетия. Вместе с тем влияние сиртуинов на долголетие остается дискуссионным вопросом требует дальнейшего изучения [13].

Значительный вклад в нестабильность генома при старении также вносит нестабильность рибосомальной ДНК (рДНК). Например, было показано, что с возрастом в повторах рДНК наблюдается повышенный мутагенез, что приводит впоследствии к агрегации белков и считается критическим фактором старения клеток. Как оказалось, стабильность повторов рДНК зависит от работы белка ATXN2 (ортолог в дрожжах *Pbp1*). ATXN2 поддерживает генетическую стабильность клеток и увеличивает продолжительность жизни при эктопической экспрессии, подавляя формирование гибридов РНК–ДНК и таким образом стабилизируя повторы рДНК. Мутация в гене приводит к нарушению стабильности повторов рДНК, однако полностью блокирует транспозицию мобильных элементов [88].

Нокаут незаменимого для циркадных ритмов гена BMAL1 (также известного как ARNTL, сокр. от англ. Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1) ускоряет старение и, одновременно с этим, способствует активации транспозабельной активности в клетках человека и приматов. Таким образом, кроме участия в регуляции циркадных ритмов, BMAL1 участвует в стабилизации гетерохроматина и предотвращении активации LINE1, способных стимулировать сенесцентность в клетках приматов и человека [72].

В настоящее время существует несколько принципиальных подходов, которые в перспективе могут стать ключевыми в борьбе с нарастающей с возрастом генетической нестабильностью в клетках организма.

Ингибиторы обратных траскриптаз

Одним из подходов, позволяющих снизить вероятность перемещения ретротранспозонов по геному, является создание препаратов — ингибиторов ревертаз. Такие препараты в настоящее время используются для лечения вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Обоснование применения ингибиторов ОТ против ретровирусов состоит в том, что активность ретротранспозонов и ретровирусов полностью зависит от эндогенной ОТ-активности, которая позволяет генетическому материалу вируса встраиваться в геном эукариот.

Препараты, блокирующие ревертазы, подразделяются на несколько основных типов: нуклеозидные (например, зидовудин или ламивудин), нуклеотидные (например, фосфазид) и ненуклеозидные (например, делавердин). Первые две группы имеют ряд нежелательных побочных эффектов, так как являются структурными аналогами естественных субстратов эндогенных ревертаз (например, ядерной или митохондриальной теломераз). Именно поэтому для них

характерна относительно высокая токсичность в отношении клеточных организмов. Группа ненуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы взаимодействует с аллостерическим участком связывания фермента, а потому обладает гораздо большей избирательностью действия и меньшей токсичностью. Более того, для некоторых экспериментальных препаратов этой группы была показана способность эффективно угнетать ревертазы внутриклеточного происхождения, оказывая влияние на процессы пролиферации и дифференциации клеток [10, 112, 113].

Все перечисленные блокаторы обратных транскриптаз клеточного происхождения в той или иной мере блокируют активность ретротранспозонов, что снижет повреждение ДНК и возраст-зависимое, «стерильное» воспаление. Так, предложены нуклеозидные препараты, которые могут быть перенацелены для борьбы с возраст-зависимыми изменениями [14]. Снижение системного воспаления снижает риски развития диабета 2-го типа и нейродегенеративных заболеваний, связанных с воспалением [6]. Как показали исследования, ВИЧ-инфекция значительно ускоряет старение организма, тогда как антиретровирусная терапия ингибиторами обратных транскриптаз ВИЧ-инфицированных снижает биологический возраст, детектируемый по эпигенетическим маркерам [114]. Ингибитор обратной транскриптазы 3TC защищает от когнитивных нарушений, потенциально вызванных возраст-ассоциированным повышением активности мобильных элементов, улучшает когнитивную функцию и уменьшает нейровоспаление у старых мышей дикого типа, сохраняет здоровье нейронов при старении животных [132]. Кроме того, ингибирование активности эндогенной обратной транскриптазы задерживает рост опухолей, поскольку в некоторых случаях при трансформации клеток в опухолевые наблюдается увеличение активности ОТ [115]. Так, трансформированные клеточные линии, обработанные ненуклеозидным ингибитором ОТ-активности, Невирапином, значительно снижали скорость роста клеток и склонялись к дифференцировке [74].

Современная высокоактивная антиретровирусная терапия основана на применении «лекарственных коктейлей», включающих нуклеотидные, нуклеозидные и ненуклеозидные ингибиторы вирусной обратной транскриптазы. Такого рода комплексное воздействие позволяет контролировать репликацию вируса, его внедрение в геном и, главное, сводит к минимуму образование лекарственно-устойчивых мутантных штаммов вируса. Одним из наиболее известных представителей класса нуклеозидных блокаторов обратной транскриптазы ВИЧ-1 является азидотимидин. Несмотря на то что это довольно старый и токсичный препарат, он до сих пор используется как часть комплексной антиретровирусной терапии ВИЧ-инфекции и СПИДа [18].

Как указано выше, более привлекательной с точки зрения применения в клинике является группа ненуклеозидных блокаторов обратной транскриптазы. Для применения в зарубежной и отечественной клинической практике было одобрено несколько препаратов: Невирапин, Ифавиренц, Делавирдин (в РФ не применяется), Этравирин и Рилпивирин [1, 56], Доравирин, Элсульфавирин и Айнуовирин.

Хотя, благодаря своей эффективности, препараты этой группы нашли широкое применение в клинике, такие препараты имеют ряд побочных эффектов, включая подавление активности теломеразы, митохондриальной ДНК-полимеразы, и обладают другими системными побочными эффектами [6].

Так, Невирапин в ходе метаболических превращений образует хининиминовые интермедиаты, с чем связана его гепатотоксичность [76, 117]. В еще большей степени гепатотоксические свойства проявляются у Делавирдина, в связи с чем этот препарат уже покидает клиники [62].

С учетом того, что ненуклеозидные ингибиторы репликации ВИЧ являются курсовыми препаратами, которые применяются в комплексе с другими противовирусными средствами, гепатотоксичность является ахиллесовой пятой каждого из них. Кроме того, более новый препарат Ифавиренц обладает психотропными свойствами [8] за счет аффинности к ГАМК [51] и серотонин-реактивным структурам ЦНС [26] (в развивающихся странах Ифавиренц используют для курения в качестве одурманивающего средства [27]), а в ходе биотрансформации Ифавиренц образует метаболиты с выраженными нефротоксическими свойствами [81]. Таким образом, препарат, обладающий нейро- и нефротоксичностью для курсового и тем более для профилактического применения, непригоден и нуждается в безопасной замене.

Новое поколение препаратов группы DAPY (2,4-дианилинопиримидины), Этравирин (TMC125) и Рилпивирин, были введены в клиническую практику. Однако оба эти вещества, в особенности Этравирин, проявили серьезный побочный эффект — кардиотоксичность — в постмаркетинговых исследованиях [90, 136].

В 2018 г. на рынок был выведен еще один блокатор обратной транскриптазы ВИЧ-1 — Доравирин [29]. Пока не накоплен должный объем данных о постмаркетинговых исследованиях этого медикамента, в связи с чем сложно делать однозначные выводы о его эффективности, равно как и выраженности побочных эффектов. Тем не менее химическая структура Доравирина, по-

строенная по принципу Этравирина и Рилпивирина [31], из ароматических и гетероциклических ядер, связанных между собой одноатомными sp^3-гибридными мостиками, может также вызывать кардиотоксические эффекты, как и в случае упомянутых выше производных ряда DAPY. Продолжением эксплуатации данного хемотипа (хотя и с биоизостерической заменой гетероядерных фрагментов в составе молекулы бензольными циклами) стала разработка фирмы Hoffman La Roche [US20100063154], выведенная на Российский рынок отечественной компанией Viriom — препарат Элсульфавирин [4]. Это пролекарственный препарат, который декларируется как средство первого выбора при лечении СПИДа и ВИЧ-инфекции в России.

Особняком среди перечисленных препаратов стоит совместная разработка исследователей Китая и Кореи — препарат Айнуовирин [15, 92]. Именно этот новый препарат, судя по его химической структуре [80, 82] и данным первичных исследований [126], имеет шанс стать наименее токсичным и наиболее активным среди выведенных на рынок ненуклеозидных блокаторов ревертазы ВИЧ-1.

Ввиду совокупности фармакодинамических и фармакокинетических параметров, современные ингибиторы обратных транскриптаз, используемые при лечении ВИЧ, пока не могут быть в полной мере использованы как профилактические средства для предотвращения генетической нестабильности или перехода клеток в сенесцентное состояние и требуют дальнейшего совершенствования. Остается актуальным поиск новых субстанций, в том числе и природного происхождения, для снижения побочных эффектов.

Исследование ингибиторов ретровирусной активности природного происхождения, возможно, выявит новые вещества, блокирующие вирусную и ретротранспозонную активность. Например, Ресвератрол нетоксичен и обладает подтвержденной антивирусной активностью против широкого спектра вирусов, включая вирусы простого герпеса, папилломавирусы, вирус острого респираторного синдрома и вирус гриппа. Более того, показана высокая активность Ресвератрола в подавлении генетической нестабильности после радиационного повреждения через активацию AMPK/SIRT7/HMGB1 сигнального пути [54]. Недавние данные указывают на то, что Ресвератрол или его более биодоступный аналог Птеростильбен в комбинации с нуклеотидными ингибиторами ОТ активности полностью блокируют репликацию вируса иммунодефицита человека в $CD4^+$ Т-клетках [20].

В настоящее время ведется разработка серии малых молекул, способных ингибировать эндонуклеазную ферментативную активность белка ORF2 мобильного элемента LINE-1. Эти ингибиторы снижали ретротранспозицию LINE-1, повреждение ДНК, воспаление и риск образования сенесцентных клеток [33].

Таким образом, ингибирование активности обратной транскриптазы, а также эндонуклеазной активности белка ORF2, подавляет транспозицию в геном и может рассматриваться для дальнейшей фармакологической разработки как новый подход для создания профилактических средств, подавляющих генетическую нестабильность и возраст-зависимое воспаление [33].

Механизмы образования сенесцентных клеток как результат генетической нестабильности и инфекционной активности

Генетическая нестабильность — повреждение хромосомного аппарата — активирует ответ на повреждение ДНК — DNA damage response — DDR сигнальный путь. DDR сигнальный путь, в свою очередь, активирует клеточный стресс и переход клеток в состояние сенесцентности, что вызывает хроническое воспаление и, как следствие, истощение и старение иммунной системы. В результате наблюдается снижение эффективности противодействия организма инфекциям и способности распознавать и удалять поврежденные, апоптотические и сенесцентные клетки.

Сенесцентная клетка перестает делиться (экспрессируя маркеры остановки клеточного цикла p16, p21, p27) и приобретает специфический секреторный фенотип, SASP (senescence-associated secretory phenotype/ассоциированный с сенесцентностью секреторный фенотип). SASP характеризуется секрецией серии провоспалительных цитокинов (TNF, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-11, CCL2), металлопротеиназ и молекул, называемых сигналами опасности DAMPs (damage-associated molecular patterns) и, в случае сенесцентности, вызванной эндогенными патогенами, PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) [77].

Сенесцентные клетки увеличивают общий воспалительный фон всего организма и провоцируют воспалительное старение. Системное воспаление нарушает регуляцию всех органов и тканей организма и становится триггером таких патологий, как диабет, сердечно-сосудистые, нейродегенеративные заболевания и заболевания иммунной системы. Повышенный уровень пролиферации клеток окружающих тканей под воздействием воспалительных факторов стимулирует мутагенез и ускоряет их онкотрансформацию [98].

В то же время образование сенесцентных нефункциональных клеток является компенсаторным механизмом, предотвращающим вирусное или злокачественное преобразование клеток. Реакция на повреждение ДНК задействует механизм тонкой регуляции клеточного деления, отключая естественную пролиферацию, дифференцировку и включая клеточные механизмы сенесцентности, запрещая таким образом вирусам и мобильным элементам, пользуясь результатами мутагенеза, контролировать клеточное деление и дифференцировку.

В молодом возрасте сенесцентные клетки эффективно распознаются и удаляются клетками иммунитета. В пожилом возрасте, при увеличении повреждения ДНК и нарушении транскрипции, увеличивается количество сенесцентных клеток, замещающих собой функциональные клетки. В условиях повышающейся с возрастом генетической нестабильности, мутации в ключевых генах DDR сигнального пути, который является важным составляющей защиты клеток от повреждений, способны привести к малигнизации клеточных популяций. Серия таких генов, в которых возникают мутации, является мишенями для современных стратегий борьбы с опухолевыми клетками хорошо известна: BRCA1/2, ATM, ATR, CHK1 и CHK2, DNA-PK и WEE1 [97].

Другим механизмом, способствующим появлению сенесцентных клеток, является инфицирование вирусами и другими инфекционными агентами. В случае ослабления иммунной системы, вирусы, которые находились с ней в конкурентном балансе, способны формировать очаги воспаления или вызывать стресс и сенесцентность клеток, в том числе клеток иммунной системы [52]. В то время как в молодом возрасте иммунная система распознает клетки с активными ретротранспозонами как зараженные вирусами, вызывая иммунную реакцию по удалению клеток с повышенной транспозабельной активностью, возрастное повышение активности транспозонов способно вызывать сенесцентность клеток и является неблагоприятным фактором для развития заболеваний, ассоциированных с возрастом [41].

Исследование в Пакистане показало ассоциацию между большой нагрузкой цитомегаловируса (CMV) в крови и смещением соотношения CD4/CD8, что авторы связывают с более ранним старением и большим количеством сенесцентных клеток иммунной системы. Хроническое течение и периодические рецидивы CMV-инфекции у человека приводят к постоянной активации Т-клеток, что считается драйвером иммунного старения у людей. Как отмечают авторы, ускоренное CMV-зависимое старение иммунной системы отмечается после полового созревания и значительно ускоряется при инволюции тимуса [122], то есть в период сокращения притока наивных клеток из тимуса. Примечательно, что такое же резкое снижение $CD4^+$ Т-клеток при неизменном количестве $CD8^+$ Т-клеток наблюдали при болезни Альцгеймера [66], что может также свидетельствовать об ускоренном старении $CD4^+$ лимфоцитов и их роли в патогенезе заболевания.

Роль ВИЧ в иммунном старении также широко известна. Такое иммунное старение ассоциировано с накоплением клеток TEMRA — terminal effector memory T cells — индуцированное ВИЧ-инфекцией [44]. Иммунное старение с накоплением TEMRA и сенесцентных клеток наблюдалось даже у детей, инфицированных ВИЧ, что сопровождалось снижением экспрессии CD28, CD31 (фенотип недавних эмигрантов из тимуса) и увеличением экспрессии CD57 — маркера клеток памяти и старения Т-лимфоцитов [39, 110].

Повышение количества сенесцентных Т-клеток в циркуляции крови обнаружено при кожном лейшманиозе. Авторы характеризуют их как истощенные клетки памяти с фенотипом $CD57^+$ $KLRG\text{-}1^+$ и $\gamma H2AX^+$, отличающиеся низкой экспрессией hTERT и короткими теломерами. Эта популяция Т-клеток продуцировала высокие уровни воспалительных цитокинов и составляла существенную частью из популяции TEMRA — $CD45RA^+CD27^-$ [25].

Кроме того, показана ассоциация увеличения количества TEMRA и сенесцентных клеток в циркуляции крови с нейродегенеративными заболеваниями и ускоренным старением. Такая же ассоциация показана при хронической инфекции вирусом Эпштейна–Барр [48, 49, 106].

Обнаружено также, что вариации в составе вирусного генома в кишечнике связаны с воспалением и старением [104] и могут быть причиной развития ряда заболеваний [60]. Большинство вирусов в кишечнике — это бактериофаги, которые, возможно, помогают организму контролировать численность условно-патогенных бактерий и поддерживать здоровый микробиом для контроля воспаления.

В целом увеличение сенесцентных клеток иммунной системы в циркулирующей крови снижает эффективность борьбы с инфекциями. Связь хронических инфекций с увеличением количества сенесцентных клеток и с ускорением старения организма показана в серии современных работ и отражена в обзорах по этой теме [69, 103, 128].

Вирусы, встраивающиеся в геном клеток или подвергающие значительное количества клеток токсическому или пролиферативного стрессу, дестабилизирующему геном, являются исключительно важным негативным фактором развития сенесцентного состояния клеток иммун-

ной системы и всего организма, который в конечном счете приводит к ускорению процессов старения.

Сенолитики и сеноморфики как способ борьбы с последствиями генетической нестабильности

Возрастание генетической нестабильности с возрастом увеличивает количество сенесцентных клеток с воспалительным фенотипом, в том числе сенесцентных клеток иммунной системы [85]. В связи с этим многие научные группы и индустриальные компании сосредоточены на синтезе сенолитиков — соединений, удаляющих сенесцентные клетки из организма [121], а также сеноморфиков — веществ, блокирующих секрецию сенесцентными клетками факторов SASP для предотвращения воспалительного повреждения организма [3, 94].

Сенесцентные клетки могут быть элиминированы воздействием на различные факторы метаболических путей, специфичных для сенесцентных клеток, например препятствующие их переходу к апоптозу (senescent cell antiapoptotic pathways, SCAP) [19]. Так, например, применение комбинации дазатиниба и кверцетина снижает количество сенесцентных клеток и секрецию факторов SASP. Первый блокирует антиапоптотические белки семейства BCL-2, а второй, выступая одновременно как антиоксидант и ингибитор JAK–STAT сигнального пути, подавляет воспаление [67]. Применение сенолитиков, воздействующих на альтернативные сигнальные пути сенесцентных клеток, является перспективным подходом при борьбе с клетками с повышенной генетической нестабильностью, хронически секретирующими воспалительные факторы, вызывающие заболевания, ассоциированные с возрастным воспалением.

Исследуемые препараты демонстрируют сенолитическую активность *in vitro* и на моделях животных *in vivo*, их эффективность в организме человека все еще нуждается в дальнейших исследованиях и клинических испытаниях. В настоящее время проводят клинические испытания ряда сенолитиков [19], а также ищут новые подходы для идентификации кандидатных субстанций [121], поскольку применение некоторых сенолитиков крайне ограничено из-за их токсических эффектов. Некоторые статьи указывают на неубедительность доказательств эффективности комбинации дазатиниба и кверцетина в отношении снижения циркулирующих факторов SASP [57]. В связи с этим необходима разработка избирательных подходов элиминации сенесцентных и апоптотических клеток, а также блокировки факторов SASP [67].

Разработка сеноморфиков является менее популярным направлением в разработке препаратов. Действие сеноморфиков основано на блокировке метаболических путей, приводящих к экспрессии воспалительных цитокинов (SASP). Таким образом, сеноморфики нацелены на блокировку таких метаболических путей, как NF-κB, mTOR, IL-1α, p38 MAPK и другие. Было выяснено, что препарат метформин, первоначально используемый для лечения диабета 2 типа, снижает смертность и развитие возраст-ассоциированных заболеваний у пациентов, а также увеличивает продолжительность жизни и улучшает состояние здоровья модельных животных. На модельных организмах показано, что метформин подавляет клеточное старение и экспрессию SASP, потенциально являясь геропротектором. Однако механизм действия этого препарата до сих пор остается неясным [141]. Другие перспективные либо применяемые в клинике препараты с потенциальными сенотерапевтическими эффектами были протестированы на предмет сеноморфной активности на модельных организмах и клеточных культурах и в настоящее время не достигли фазы клинических испытаний [73, 139, 141].

Таким образом, в настоящее время не существует фармацевтических препаратов, которые бы в полной мере отвечали комплексу требований средств профилактики старения и возраст-ассоциированных заболеваний. Общетоксические побочные эффекты субстанций-ингибиторов обратной транскриптазы, и, в особенности, токсическое действие на почки, поджелудочную железу, клетки нервной системы, а также неспецифическое воздействие современных сенолитиков и сеноморфиков на постмитотические и терминально дифференцированные клетки, ограничивают их применение. Зачастую к названным негативным свойствам описанных групп веществ добавляется их выраженная способность вызывать лекарственную болезнь печени как при однократном, так и при системном применении [19, 141].

Вакцинация и таргетирование против сенесцентных клеток, вирусов, эндогенных RTV/TE, ассоциированных с генетической нестабильностью

Следующим из рассматриваемых подходов борьбы с нарастающей генетической нестабильностью, нефункциональными клетками и воспалительными заболеваниями как результом вирусного инфицирования, является вакцинация. Активация врожденного и адаптивного иммунного ответа против сенесцентных клеток и клеток с повышенной генетичес-

кой нестабильностью представляется важной и актуальной задачей для профилактики заболеваний, ассоциированных с возрастом. Вирусспецифичные Т-клетки и антитела, распознающие вирусные эпитопы, способны сдерживать рост популяции поврежденных и сенесцентных клеток, реагируя на внутриклеточные и поверхностные неоантигены, а также на стресс-молекулы [78].

Важными клетками, поддерживающими генетическую стабильность в организме через контроль пролиферации и накопление клеток с повреждением ДНК в организме, являются Т-клетки и естественные киллеры. Эти иммунные клетки распознают стрессированные клетки и клетки с неоантигенами. Снижение с возрастом эффективности Т-клеточного ответа снижает защитную реакцию против экзогенных ретровирусных инфекций, а также реакцию на неоантигены, связанные с возраст-зависимой активностью ретровирусов и ретротранспозонов [28, 41, 78].

Новые разработки CAR-T терапевтических продуктов позволили продвинутся в области контроля сенесцентных клеток и возрастных патологий. Так, успешно испытаны CAR-T вакцины, направленные на маркеры сенесцентных клеток NKG2D, CD26 (DPP4), uPAR. Применение CAR-T вакцин позволило снизить популяцию сенесцентных клеток у мышей и предотвратить воспалительные патологии [7, 61, 123]. Также удачным было удаление сенесцентных клеток, экспрессирующих лиганды MICA и ULBP2 к рецепторам активированных естественных киллеров, что опосредует их направленную цитотоксичность [111]. Кроме того, иммунизация против CD153 позволила снизить популяцию сенесцентных $CD8^+$ Т-клеток у мышей [140]. Ингибиторы контрольных точек, которые экспрессируются на сенесцентных клетках, также рассматриваются рядом авторов как потенциальные мишени для активации гуморального ответа против сенесцентных клеток (PD-L1, CTLA4) [93].

Гуморальный ответ также является важным фактором сдерживания накопления стареющих популяций иммунных клеток. Показано, что направленное удаление отдельных клеточных популяций стволовых клеток крови, пролиферирующих в результате мутаций или хронической стимуляции, с помощью специфичных антител способно замедлить воспалительное старение и склонность стареющей иммунной системы производить преимущественно миелоидные клетки [108].

В то же время иммунизация против вирусов, способных повреждать геном, позволяет настроить иммунную систему на распознавание клеток с повышенной генетической нестабильностью. Так, цитомегаловирус (CMV) вовлечен в пролиферативный стресс. Эктопическая экспрессия вирусных генов IE72 и IE86 в клетках человека индуцирует репликативный стресс и увеличивает геномную нестабильность [79]. Кроме того, как показали недавние исследования, CMV, интерферируя с DDR каскадом, вызывает состояние сенесцентности как в гематопоэтических, так и в эпителиальных клетках. Так, в зараженных первичных клетках эпителия почечных канальцев наблюдали снижение экспрессии ламинина B1 и KI67 и повышенную секрецию IL-6 и IL-8. Все эти изменения являются общепризнанными признаками сенесцентости клеток. Секреция IL-6 этими клетками приводила к репликативному стрессу в соседних неинфицированных клетках, что также вызывало у них сенесцентное состояние [101]. CMV ассоциируют не только с ускоренным старением, но и с рядом опасных онкологических заболеваний, включая глиобластомы и лимфомы. Более того, у женщин, инфицированных CMV, значительно повышен риск дефектов развития плода. Компания Moderna (США) разрабатывает первую РНК-вакцину (mRNA-1647) против CMV. В настоящее время вакцина проходит этап клинических испытаний [50].

Помимо этого, около 90% взрослого населения мира являются носителями вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ), заражаясь им в раннем возрасте. Синтезируя белок EBNA1, который прямо связывается 11 хромосомой и вызывает двухцепочечные разрывы ДНК, вирус инициирует повреждение генома [35]. Ряд злокачественных новообразований, в том числе рак носоглотки, желудка, легких, печени, пищевода, молочной железы, шейки матки и др., ассоциированы с присутствием этого вируса в клетках [137]. Также считается, что ВЭБ является первоначальным триггером рассеянного склероза. При этом авторы отмечают, что лишь у небольшой части зараженных вирусом людей развивается рассеянный склероз (1 из 500 позитивных на вирус в течении 10 лет). Однако у ВЭБ-негативных пациентов рассеянный склероз развивается с частотой 1 из 10 000, что говорит о вкладе вирусного повреждения в развитие болезни. Таким образом, массовая вакцинация против ВЭБ может значительно снизить распространенность рассеянного склероза в человеческой популяции [106] и снизить риск развития ряда онкологических заболеваний. Разработка вакцины против ВЭБ является важной задачей по предотвращению и снижению распространенности вышеназванных онкологических заболеваний, мононуклеоза, рассеянного склероза. По-видимому, вакцинация также может снизить риск возникновения генетической нестабильности клеток. В настоящее время компания

WestGene (Китай) разрабатывает вакцину WGc-043 против этого вируса. Результаты первой фазы клинических испытаний доказали безопасность и высокую иммуногенность вакцины [37]. Биотехнологическая компания Moderna также объявила о начале испытаний новой мРНК вакцины (mRNA-1189) против ВЭБ. В настоящее время в рамках проведения клинических испытаний вакцину испытывают на предмет безопасности и иммуногенности [142].

Вирус папилломы человека (ВПЧ) тоже вызывает генетическую нестабильность. Некоторые его штаммы являются высокоонкогенными. В серии исследований сообщалось о влиянии экспрессии онкогенов ВПЧ E6 и E7 на практически все основные механизмы репарации ДНК в клетках. Это является фактором, вызывающим повышенную генетическую нестабильность [99]. При этом профилактическая прививка снижает риск развития рака половых органов и рака мочевого пузыря [127].

Показатели внутрибольничной смертности от сердечной недостаточности были почти в три раза ниже у пациентов, которым была сделана профилактическая прививка от гриппа и от пневмонии. Согласно результатам последних клинических испытаний, объявленных Европейским обществом кардиологов, такая зависимость наблюдалась даже при острых вирусных инфекциях, для которых не показано прямое повреждение ДНК [11].

Эти исследования подтверждают, что регулярная вакцинация даже традиционными вакцинами спасает жизни людей в предпенсионном и пенсионном возрасте от самого вируса и, в еще большей степени, от осложнений от инфекционных заболеваний, включая токсическое повреждение клеток и их генома.

В то же время в связи с развитием в последнее десятилетие РНК-вакцин и массовой вакцинации ими, все больше вопросов возникает о роли эндогенных ОТ во внедрении РНК-вакцин в геном, провоцирующем нестабильность последнего. Особенно это проблематично в пожилом возрасте, когда активность ОТ возрастает. В литературе недостаточно данных, подтверждающих или опровергающих способность мРНК к внедрению в геном через эндогенные ОТ ретроэлементов. Это обосновывает необходимость соответствующих исследований по возможным механизмам внедрения РНК-вакцин, мутагенезу ДНК и нестабильности генома, равно как и высокопроизводительному скринингу ингибиторов эндогенных ОТ для снижения риска возникновения нестабильности генома при вакцинации. Данные исследования являются приоритетной задачей для обеспечения безопасности РНК-вакцин, в особенности для лиц пожилого возраста [32].

На этапе разработки находятся вакцины против ряда вирусов, вызывающих ускоренное старение и возраст-ассоциированные заболевания. Синтез и валидация веществ, предотвращающих генетическую нестабильность, клеточный стресс, переход клеток к сенесцентному состоянию — а значит и предотвращающих возрастные изменения — потенциально предотвратит патологии, связанные с возрастом, и продлит активное долголетие.

Заключение

Превентивная медицина при кажущемся значительном увеличении затрат позволяет предотвратить серьезные патологии на ранних стадиях, таким образом снижая нагрузку на систему здравоохранения. Особенно это касается возможности продлить активный возраст, сохраняя при этом резерв человеческих трудовых ресурсов при глобальном старении населения планеты и, в том числе, России.

Старение представляет собой многофакторный комплексный процесс, биомолекулярные механизмы которого пока недостаточно изучены и не сводятся только к нарастанию генетической нестабильности и образованию в организме сенесцентных клеток. Однако геномная нестабильность является осевым фактором возникновения и развития патологий, ассоциированных с возрастом. Основой постижения механизмов старения является вскрытие первоначальных, базовых причин старения и возрастных патологий. Исследования последних лет показали, что одной из важных базовых причин старения организма является прогрессирующая с возрастом генетическая нестабильность. Причинами такой нестабильности является возрастное ослабление генетического и эпигенетического контроля, в том числе над активностью эндогенных обратных транскриптаз, а также возрастное ослабление иммунного надзора, связанное с инволюцией тимуса, снижением продукции костным мозгом гемопоэтических предшественников и накоплением сенесцентных и истощенных популяций иммунной системы. Все эти факторы ослабляют эффективность иммунного надзора, снижая очистку организма от инфицированных вирусами клеток, апоптотических, истощенных и сенесцентных клеток. В результате таких событий активируются воспалительные сигнальные пути, повышается канцерогенез, риски нейродегенеративных заболеваний, сердечно-сосудистых патологий и диабета.

Перспективным направлением фармакологии является разработка и внедрение препаратов, блокирующих или предотвращающих воздействие биогенных факторов на генетический аппарат. Это позволит осуществлять про-

филактику возраст-ассоциированных заболеваний. Такие препараты как ингибиторы ОТ и эндонуклеазной активности ретровирусов, ретротранспозонов, блокаторы другой вирусной активности, а также препараты, элиминирующие сенесцентные клетки — сенолитики — и блокирующие негативное воздействие SASP — сеноморфики — должны составлять основу возрастной профилактики патологий. Применение антиретровирусных препаратов способно замедлять наступление патологий, ассоциированных с возрастом, предотвращая преждевременное старение, связанное с активацией ретротранспозонов и ретровирусов в отдельных клеточных популяциях [100, 141].

Другим важным направлением снижения генетической нестабильности в отдельных клеточных популяциях является иммунизация с целью удаления поврежденных, генетически нестабильных и сенесцентных клеток. Иммунизация может проводиться против аминокислотных последовательностей оболочек ретровирусов и против функциональных эпитопов критических ферментов ретровирусов/ретротранспозонов, а также эпитопов сенесцентных клеток. Иммунизация против наиболее эволюционно молодых ретровирусов потенциально наиболее безопасна для организма, поскольку, в отличие от эволюционно древних транспозонов, они не были включены в процессы эмбрионального развития и V(D)J рекомбинацию [68].

Кроме того, представляется перспективной разработка препаратов, направленных на усиление репарации ДНК [40, 54].

Таким образом, данные, представленные в обзоре, демонстрируют необходимость дальнейшего изучения причин генетической нестабильности, связанных с эндогенными, экзогенными факторами и механизмами сенесцентности. Помимо этого, для обеспечения активного и здорового долголетия населения необходимо развивать фармакологические и иммунологические подходы для контроля клеточных патологий, связанных с генетической нестабильностью и сенесцентностью.

Список литературы/References

1. Власова О.А., Антонова И.А., Магомедова Х.М., Усолкина М.А., Кирсанов К.И., Белицкий Г.А., Якубовская М.Г. Потенциальные возможности использования в онкологии ингибиторов обратной транскриптазы вирусов // Успехи молекулярной онкологии. 2024. Т. 11. С. 8–28. [Vlasova O.A., Antonova I.A., Magomedova H.M., Usolkina M.A., Kirsanov K.I., Belitsky G.A., Yakubovskaya M.G. Potential to use of viral reverse transcriptase inhibitors in oncology. *Uspekhi molekulyarnoi onkologii = Advances in Molecular Oncology, 2024, vol. 11, pp. 8–28. (In Russ.)*] *doi: 10.17650/2313-805x-2024-11-2-8-28*
2. Ганковская Л.В., Артемьева О.В., Греченко В.В., Насаева Е.Д., Хасанова Е.М. Возраст-ассоциированные заболевания: роль инфламмасомного комплекса // Иммунология. 2023. Т. 44, № 5. С. 640–652. [Gankovskaya L.V., Artemyeva O.V., Grechenko V.V., Nasaeva E.D., Khasanova E.M. Age-associated diseases: the role of the inflammasome complex. *Immunologiya = Immunologiya, 2023, vol. 44, no. 5, pp. 640–652. (In Russ.)*] *doi: 10.33029/1816-2134-2023-44-5-640-652*
3. Масютина А.М., Пащенков М.В., Пинегин Б.В. Клеточное старение: механизмы и клиническое значение // Иммунология. 2024. Т. 45, № 2. С. 221–234. [Masyutina A.M., Pashenkov M.V. Cellular senescence: mechanisms and clinical implications. *Immunologiya = Immunologiya, 2024, vol. 45, no. 2, pp. 221–234. (In Russ.)*] *doi: 10.33029/1816-2134-2024-45-2-221-234*
4. Al-Salama Z.T. Elsulfavirine: First Global Approval. *Drugs, 2017, vol. 77, no. 16, pp. 1811–1816. doi: 10.1007/s40265-017-0820-3*
5. Ahmadi Ghezeldasht S., Blackbourn D.J., Mosavat A., Rezaee S.A. Pathogenicity and virulence of human T lymphotropic virus type-1 (HTLV-1) in oncogenesis: adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL). *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., 2023, vol. 60, no. 3, pp. 189–211. doi: 10.1080/10408363.2022.2157791*
6. Ambati J., Magagnoli J., Leung H., Wang S.B., Andrews C.A., Fu D., Pandey A., Sahu S., Narendran S., Hirahara S., Fukuda S., Sun J., Pandya L., Ambati M., Pereira F., Varshney A., Cummings T., Hardin J.W., Edun B., Bennett C.L., Ambati K., Fowler B.J., Kerur N., Röver C., Leitinger N., Werner B.C., Stein J.D., Sutton S.S., Gelfand B.D. Repurposing anti-inflammasome NRTIs for improving insulin sensitivity and reducing type 2 diabetes development. *Nat Commun., 2020, vol. 11, no. 1: 4737. doi: 10.1038/s41467-020-18528-z*
7. Amor C., Feucht J., Leibold J., Ho Y.J., Zhu C., Alonso-Curbelo D., Mansilla-Soto J., Boyer J.A., Li X., Giavridis T., Kulick A., Houlihan S., Peerschke E., Friedman S.L., Ponomarev V., Piersigilli A., Sadelain M., Lowe S.W. Senolytic CAR T cells reverse senescence-associated pathologies. *Nature, 2020, vol. 583, no. 7814, pp. 127–132. doi: 10.1038/s41586-024-07197-3*
8. Apostolova N., Funes H.A., Blas-Garcia A., Galindo M.J., Alvarez A., Esplugues J.V. Efavirenz and the CNS: what we already know and questions that need to be answered. *J. Antimicrob. Chemother., 2015, vol. 70, no. 10, pp. 2693–2708. doi: 10.1093/jac/dkv183*
9. Baldwin E.T., van Eeuwen T., Hoyos D., Zalevsky A., Tchesnokov E.P., Sánchez R., Miller B.D., Di Stefano L.H., Ruiz F.X., Hancock M., Işik E., Mendez-Dorantes C., Walpole T., Nichols C., Wan P., Riento K., Halls-Kass R., Augustin M., Lammens A., Jestel A., Upla P., Xibinaku K., Congreve S., Hennink M., Rogala K.B., Schneider A.M., Fairman J.E., Christensen S.M., Desrosiers B., Bisacchi G.S., Saunders O.L., Hafeez N., Miao W., Kapeller R., Zaller D.M., Sali A., Weichenrieder O., Burns K.H., Götte M., Rout M.P., Arnold E., Greenbaum B.D., Romero D.L., LaCava J., Taylor M.S. Structures, functions and adaptations of the human LINE-1 ORF2 protein. *Nature, 2024, vol. 626, no. 7997, pp. 194–206. doi: 10.1038/s41586-023-06947-z*
10. Bartolini S., Mai A., Artico M., Paesano N., Rotili D., Spadafora C., Sbardella G. 6-[1-(2,6-Difluorophenyl)ethyl]pyrimidinones Antagonize Cell Proliferation and Induce Cell Differentiation by Inhibiting (a Nontelomeric) Endogenous Reverse Transcriptase. *J. Med. Chem., 2005, vol. 48, no. 22, pp. 6776–6778. doi: 10.1021/jm0507330*
11. Bhatt A.S., DeVore A.D., Hernandez A.F., Mentz R.J. Can vaccinations improve heart failure outcomes?: contemporary data and future directions. *JACC Heart Fail., 2017, vol. 5, no. 3, pp. 194–203. doi: 10.1016/j.jchf.2016.12.007*

12. Bi S., Liu Z., Wu Z., Wang Z., Liu X., Wang S., Ren J., Yao Y., Zhang W., Song M., Liu G.H., Qu J. SIRT7 antagonizes human stem cell aging as a heterochromatin stabilizer. *Protein Cell, 2020, vol. 11, no. 7, pp. 483–504. doi: 10.1007/s13238-020-00728-4*
13. Brenner C. Sirtuins are not conserved longevity genes. *Life Metab., 2022, vol. 1, no. 2, pp. 122–133. doi: 10.1093/lifemeta/loac025*
14. Brochard T., McIntyre R.L., Houtkooper R.H., Seluanov A., Gorbunova V., Janssens G.E. Repurposing nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) to slow aging. *Ageing Res. Rev., 2023, vol. 92: 102132. doi: 10.1016/j.arr.2023.102132*
15. Buckheit R.W. Jr., Watson K., Fliakas-Boltz V., Russell J., Loftus T.L., Osterling M.C., Turpin J.A., Pallansch L.A., White E.L., Lee J.W., Lee S.H., Oh J.W., Kwon H.S., Chung S.G., Cho E.H. SJ-3366, a unique and highly potent nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) that also inhibits HIV-2. *Antimicrob. Agents Chemother., 2001, vol. 45, no. 2, pp. 393–400. doi: 10.1128/AAC.45.2.393-400.2001*
16. Budzik K.M., Nace R.A., Ikeda Y., Russell S.J. Evaluation of the stability and intratumoral delivery of foreign transgenes encoded by an oncolytic Foamy Virus vector. *Cancer Gene Ther., 2022, vol. 29, no. 8–9, pp. 1240–1251. doi: 10.1038/s41417-022-00431-y*
17. Calcinotto A., Kohli J., Zagato E., Pellegrini L., Demaria M., Alimonti A. Cellular senescence: aging, cancer, and injury. *Physiol. Rev., 2019, vol. 99, no. 2, pp. 1047–1078. doi: 10.1152/physrev.00020.2018*
18. Cambou M.C., Landovitz R.J. Novel antiretroviral agents. *Curr. HIV/AIDS Rep., 2020, vol. 17, no. 2, pp. 118–124. doi: 10.1007/s11904-020-00486-2*
19. Chaib S., Tchkonia T., Kirkland J.L. Cellular senescence and senolytics: the path to the clinic. *Nat. Med., 2022, vol. 28, no. 8, pp. 1556–1568. doi: 10.1038/s41591-022-01923-y*
20. Chan C.N., Trinité B., Levy D.N. Potent inhibition of HIV-1 replication in resting CD4 T cells by resveratrol and pterostilbene. *Antimicrob. Agents Chemother., 2017, vol. 61, no. 9: e00408-17. doi: 10.1128/AAC.00408-17*
21. Childs B.G., Durik M., Baker D.J., van Deursen J.M. Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy. *Nat. Med., 2015, vol. 21, no. 12, pp. 1424–1435. doi: 10.1038/nm.4000*
22. Contreras-Galindo R., Dube D., Fujinaga K., Kaplan M.H., Markovitz D.M. Susceptibility of human endogenous retrovirus type K to reverse transcriptase inhibitors. *J. Virol., 2017, vol. 91, no. 23: e01309-17. doi: 10.1128/JVI.01309-17*
23. Costa B., Vale N. Exploring HERV-K (HML-2) influence in cancer and prospects for therapeutic interventions. *Int. J. Mol. Sci., 2023, vol. 24, no. 19: 14631. doi: 10.3390/ijms241914631*
24. Costello K.R., Leung A., Trac C., Lee M., Basam M., Pospisilik J.A., Schones D.E. Sequence features of retrotransposons allow for epigenetic variability. *Elife, 2021, vol. 10: e71104. doi: 10.7554/eLife.71104*
25. Covre L.P., Martins R.F., Devine O.P., Chambers E.S., Vukmanovic-Stejic M., Silva J.A., Dietze R., Rodrigues R.R., de Matos Guedes H.L., Falqueto A., Akbar A.N., Gomes D.C.O. Circulating senescent T cells are linked to systemic inflammation and lesion size during human cutaneous leishmaniasis. *Front. Immunol., 2019, vol. 9: 3001. doi: 10.3389/fimmu.2018.03001*
26. Dalwadi D.A., Kim S., Amdani S.M., Chen Z., Huang R.Q., Schetz J.A. Molecular mechanisms of serotonergic action of the HIV-1 antiretroviral efavirenz. *Pharmacol. Res., 2016, vol. 110, pp. 10–24. doi: 10.1016/j.phrs.2016.04.028*
27. Dalwadi D.A., Ozuna L., Harvey B.H., Viljoen M., Schetz J.A. Adverse neuropsychiatric events and recreational use of efavirenz and other HIV-1 antiretroviral drugs. *Pharmacol. Rev., 2018, vol. 70, no. 3, pp. 684–711. doi: 10.1124/pr.117.013706*
28. De Cecco M., Ito T., Petrashen A.P., Elias A.E., Skvir N.J., Criscione S.W., Caligiana A., Brocculi G., Adney E.M., Boeke J.D., Le O., Beauséjour C., Ambati J., Ambati K., Simon M., Seluanov A., Gorbunova V., Slagboom P.E., Helfand S.L., Neretti N., Sedivy J.M. L1 drives IFN in senescent cells and promotes age-associated inflammation. *Nature, 2019, vol. 566, no. 7742, pp. 73–78. doi: 10.1038/s41586-018-0784-9*
29. Deeks E.D. Doravirine: first global approval. *Drugs, 2018, vol. 78. no. 15, pp. 1643–1650. doi: 10.1007/s40265-018-0993-4*
30. Dembny P., Newman A.G., Singh M. Human endogenous retrovirus HERV-K(HML-2) RNA causes neurodegeneration through Toll-like receptors. *JCI Insight, 2020, vol. 5, no. 7: e131093. doi: 10.1101/721241*
31. Ding L., Zhuang C., Chen F. Druggability modification strategies of the diarylpyrimidine-type non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Med. Res. Rev., 2021, vol. 41, no. 3, pp. 1255–1290. doi: 10.1002/med.21760*
32. Domazet-Lošo T. mRNA vaccines: why is the biology of retroposition ignored? *Genes (Basel), 2022, vol. 13, no. 5: 719. doi: 10.3390/genes13050719*
33. D'Ordine A.M., Jogl G., Sedivy J.M. Identification and characterization of small molecule inhibitors of the LINE-1 retrotransposon endonuclease. *Nat. Commun., 2024, vol. 15, no. 1: 3883. doi: 10.1038/s41467-024-48066-x*
34. Dupressoir A., Lavialle C., Heidmann T. From ancestral infectious retroviruses to bona fide cellular genes: role of the captured syncytins in placentation. *Placenta, 2012, vol. 33, no. 9, pp. 663–671. doi: 10.1016/j.placenta.2012.05.005*
35. Frappier L. Epstein–Barr virus is an agent of genomic instability. *Nature, 2023, vol. 616, no. 7957, pp. 441–442. doi: 10.1038/d41586-023-00936-y*
36. Freeman B., White T., Kaul T., Stow E.C., Baddoo M., Ungerleider N., Morales M., Yang H., Deharo D., Deininger P., Belancio V.P. Analysis of epigenetic features characteristic of L1 loci expressed in human cells. *Nucleic Acids. Res., 2022, vol. 50, no. 4, pp. 1888–1907. doi: 10.1093/nar/gkac013*
37. Gaggar A., Coeshott C., Apelian D., Rodell T., Armstrong B.R., Shen G., Subramanian G.M., McHutchison J.G. Safety, tolerability and immunogenicity of GS-4774, a hepatitis B virus-specific therapeutic vaccine, in healthy subjects: a randomized study. *Vaccine, 2014, vol. 32. no. 39, pp. 4925–4931. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.07.027*
38. Galindo R., Kaplan M.H., Leissner P., Verjat T., Ferlenghi I., Bagnoli F., Giusti F., Dosik M.H., Hayes D.F., Gitlin S.D., Markovitz D.M. Human endogenous retrovirus K (HML-2) elements in the plasma of people with lymphoma and breast cancer. *J. Virol., 2008, vol. 82, no. 19, pp. 9329–9336. doi: 10.1128/JVI.00646-08*
39. Gianesin K., Noguera-Julian A., Zanchetta M., Del Bianco P., Petrara M.R., Freguja R., Rampon O., Fortuny C., Camós M., Mozzo E., Giaquinto C., De Rossi A. Premature aging and immune senescence in HIV-infected children. *AIDS, 2016, vol. 30, no. 9, pp. 1363–1373. doi: 10.1097/QAD.0000000000001093*
40. Gioia U., Francia S., Cabrini M., Brambillasca S., Michelini F., Jones-Weinert C.W., d'Adda di Fagagna F. Pharmacological boost of DNA damage response and repair by enhanced biogenesis of DNA damage response RNAs. *Sci. Rep., 2019, vol. 9, no. 1: 6460. doi: 10.1038/s41598-019-42892-6*

41. Gorbunova V., Seluanov A., Mita P., McKerrow W., Fenyö D., Boeke J.D., Linker S.B., Gage F.H., Kreiling J.A., Petrashen A.P., Woodham T.A., Taylor J.R., Helfand S.L., Sedivy J.M. The role of retrotransposable elements in ageing and age-associated diseases. *Nature, 2021, vol. 596, no. 7870, pp. 43–53. doi: 10.1038/s41586-021-03542-y*
42. Grow E.J., Flynn R.A., Chavez S.L., Bayless N.L., Wossidlo M., Wesche D.J., Martin L., Ware C.B., Blish C.A., Chang H.Y., Pera R.A., Wysocka J. Intrinsic retroviral reactivation in human preimplantation embryos and pluripotent cells. *Nature, 2015, vol. 522, no. 7555, pp. 221–225. doi: 10.1038/nature14308*
43. Guo J., Huang X., Dou L., Yan M., Shen T., Tang W., Li J. Aging and aging-related diseases: from molecular mechanisms to interventions and treatments. *Signal Transduct. Target Ther., 2022, vol. 7, no. 1: 391. doi: 10.1038/s41392-022-01251-0*
44. Guo L., Liu X., Su X. The role of TEMRA cell-mediated immune senescence in the development and treatment of HIV disease. *Front. Immunol., 2023, vol. 14: 1284293. doi: 10.3389/fimmu.2023.1284293*
45. Gutiérrez-Sevilla J.E., Cárdenas-Bedoya J., Escoto-Delgadillo M., Zúñiga-González G.M., Pérez-Ríos A.M., Gómez-Meda B.C., González-Enríquez G.V., Figarola-Centurión I., Chavarría-Avila E., Torres-Mendoza B.M. Genomic instability in people living with HIV. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen., 2021, vol. 865: 503336. doi: 10.1016/j.mrgentox.2021.503336*
46. Hancks D.C., Kazazian H.H. Jr. Roles for retrotransposon insertions in human disease. *Mob. DNA, 2016, vol. 7, no. 1: 9. doi: 10.1186/s13100-016-0065-9*
47. He J., Fu X., Zhang M., He F., Li W., Abdul M.M., Zhou J., Sun L., Chang C., Li Y., Liu H., Wu K., Babarinde I.A., Zhuang Q., Loh Y.H., Chen J., Esteban M.A., Hutchins A.P. Transposable elements are regulated by context-specific patterns of chromatin marks in mouse embryonic stem cells. *Nat. Commun., 2019, vol. 10, no. 1: 34. doi: 10.1038/s41467-018-08006-y*
48. Heneka M.T. An immune-cell signature marks the brain in Alzheimer's disease. *Nature, 2020, vol. 577, no. 7790, pp. 322–323. doi: 10.1038/d41586-019-03892-8*
49. Hofstee M.I., Cevirgel A., de Zeeuw-Brouwer M.L., de Rond L., van der Klis F., Buisman A.M. Cytomegalovirus and Epstein–Barr virus co-infected young and middle-aged adults can have an aging-related T-cell phenotype. *Sci. Rep., 2023, vol. 13, no. 1, pp. 10912 doi: 10.1038/s41598-023-37502-5*
50. Hu X., Karthigeyan K.P., Herbek S., Valencia S.M., Jenks J.A., Webster H., Miller I.G., Connors M., Pollara J., Andy C., Gerber L.M., Walter E.B., Edwards K.M., Bernstein D.I., Hou J., Koch M., Panther L., Carfi A., Wu K., Permar S.R. Human cytomegalovirus mRNA-1647 vaccine candidate elicits potent and broad neutralization and higher antibody-dependent cellular cytotoxicity responses than the gB/MF59 vaccine. *J. Infect. Dis., 2024, vol. 230, no. 2, pp. 455–466. doi: 10.1093/infdis/jiad593*
51. Huang R., Chen Z., Dolan S., Schetz J.A, Dillon G.H. The dual modulatory effects of efavirenz on GABAA receptors are mediated via two distinct sites. *Neuropharmacology, 2017, vol. 121, pp. 167–178. doi: 10.1016/j.neuropharm.2017.04.038*
52. Hurme M. Viruses and immunosenescence — more players in the game. *Immun. Ageing, 2019, vol. 16, no. 1: 13. doi: 10.1186/s12979-019-0152-0*
53. Jin L., He J., Feng H., Li S., Liu H., Dong H., Hu M., Huang J., Wu H., Chen J., Qi L., Wu K. Transposable elements activation triggers necroptosis in mouse embryonic stem cells. *Cell. Death. Dis., 2023, vol. 14, no. 3: 184. doi: 10.1038/s41419-023-05705-3*
54. Jin Y., Liu X., Liang X., Liu J., Liu J., Han Z., Lu Q., Wang K., Meng B., Zhang C., Xu M., Guan J., Ma L., Zhou L. Resveratrol rescues cutaneous radiation-induced DNA damage via a novel AMPK/SIRT7/HMGB1 regulatory axis. *Cell. Death. Dis., 2023, vol. 13, no. 10: 847. doi: 10.1038/s41419-022-05281-y*
55. Johanning G.L., Malouf G.G., Zheng X., Esteva F.J., Weinstein J.N., Wang-Johanning F., Su X. Expression of human endogenous retrovirus-K is strongly associated with the basal-like breast cancer phenotype. *Sci. Rep., 2017, vol. 7, no. 1: 41960. doi: 10.1038/srep41960*
56. Johnson L.B., Saravolatz L.D. Etravirine, a next-generation nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitor. *Clin. Infect. Dis., 2009, vol. 48, no. 8, pp. 1123–1128. doi: 10.1086/597469*
57. Justice J.N., Nambiar A.M., Tchkonia T., LeBrasseur N.K., Pascual R., Hashmi S.K., Prata L., Masternak M.M., Kritchevsky S.B., Musi N., Kirkland J.L. Senolytics in idiopathic pulmonary fibrosis: Results from a first-in-human, open-label, pilot study. *EBioMedicine, 2019, vol. 40, pp. 554–563. doi: 10.1016/j.ebiom.2018.12.052*
58. Kanfi Y., Naiman S., Amir G., Peshti V., Zinman G., Nahum L., Bar-Joseph Z., Cohen H.Y. The sirtuin SIRT6 regulates lifespan in male mice. *Nature, 2012, vol. 483, no. 7388, pp. 218–221. doi: 10.1038/nature10815*
59. Kang Q., Guo X., Li T., Yang C., Han J., Jia L., Liu Y., Wang X., Zhang B., Li J., Wen H.L., Li H., Li L. Identification of differentially expressed HERV-K(HML-2) loci in colorectal cancer. *Front. Microbiol., 2023, vol. 14: 1192900. doi: 10.3389/fmicb.2023*
60. Kho Z.Y., Lal S.K. The human gut microbiome — a potential controller of wellness and disease. *Front. Microbiol., 2018, vol. 9: 1835. doi: 10.3389/fmicb.2018.01835*
61. Kim K.M., Noh J.H., Bodogai M., Martindale J.L., Yang X., Indig F.E., Basu S.K., Ohnuma K., Morimoto C., Johnson P.F., Biragyn A., Abdelmohsen K., Gorospe M. Identification of senescent cell surface targetable protein DPP4. *Genes Dev., 2017, vol. 31, no. 15, pp. 1529–1534. doi: 10.1101/gad.302570.117*
62. Kontorinis N., Dieterich D.T. Toxicity of non-nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors. *Semin. Liver Dis., 2003, vol. 23, no. 2, pp. 173–182. doi: 10.1055/s-2003-39948*
63. Kulpa D.A., Moran J.V. Cis-preferential LINE-1 reverse transcriptase activity in ribonucleoprotein particles. *Nat. Struct. Mol. Biol., 2006, vol. 13, no. 7, pp. 655–660. doi: 10.1038/nsmb1107*
64. Kuriyama Y., Shimizu A., Kanai S., Oikawa D., Motegi S.I., Tokunaga F., Ishikawa O. Coordination of retrotransposons and type I interferon with distinct interferon pathways in dermatomyositis, systemic lupus erythematosus and autoimmune blistering disease. *Sci. Rep., 2021, vol. 11, no. 1: 23146. doi: 10.1038/s41598-021-02522-6*
65. Lacey D., Hickey P., Arhatari B.D., O'Reilly L.A., Rohrbeck L., Kiriazis H., Du X.J., Bouillet P. Spontaneous retrotransposon insertion into TNF 3'UTR causes heart valve disease and chronic polyarthritis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA, 2015, vol. 112, no. 31, pp. 9698–9703. doi: 10.1073/pnas.1508399112*
66. Larbi A., Pawelec G., Witkowski J.M., Schipper H.M., Derhovanessian E., Goldeck D., Fulop T. Dramatic shifts in circulating CD4 but not CD8 T cell subsets in mild Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis., 2009, vol. 17, no. 1. pp. 91–103. doi: 10.3233/JAD-2009-1015*

67. Lelarge V., Capelle R., Oger F., Mathieu T., Le Calvé B. Senolytics: from pharmacological inhibitors to immunotherapies, a promising future for patients' treatment. *NPJ Aging, 2024, vol. 10, no. 1: 12. doi: 10.1038/s41514-024-00138-4*
68. Li W., Pandya D., Pasternack N., Garcia-Montojo M., Henderson L., Kozak C.A., Nath A. Retroviral Elements in pathophysiology and as therapeutic targets for amyotrophic lateral sclerosis. *Neurotherapeutics, 2022, vol. 19, no. 4, pp. 1085–1101. doi: 10.1007/s13311-022-01233-8*
69. Li X., Li C., Zhang W., Wang Y., Qian P., Huang H. Inflammation and aging: signaling pathways and intervention therapies. *Signal. Transduct. Target. Ther., 2023, vol. 8, no. 1: 239. doi: 10.1038/s41392-023-01502-8*
70. Li X., Yu H., Li D., Liu N. LINE-1 transposable element renaissance in aging and age-related diseases. *Ageing Res. Rev., 2024, vol. 100: 102440. doi: 10.1016/j.arr.2024.102440*
71. Li Y., Chen Y., Zhang N., Fan D. Human endogenous retrovirus K (HERV-K) env in neuronal extracellular vesicles: a new biomarker of motor neuron disease. *Amyotroph. Lateral Scler. Frontotemporal Degener., 2022, vol. 23, no. 1–2, pp. 100–107. doi: 10.1080/21678421.2021.1936061*
72. Liang C., Ke Q., Liu Z., Ren J., Zhang W., Hu J., Wang Z., Chen H., Xia K., Lai X., Wang Q., Yang K., Li W., Wu Z., Wang C., Yan H., Jiang X., Ji Z., Ma M., Long X., Wang S., Wang H., Sun H., Belmonte J.C.I., Qu J., Xiang A.P., Liu G.H. BMAL1 moonlighting as a gatekeeper for LINE1 repression and cellular senescence in primates. *Nucleic Acids Res., 2022, vol. 50, no. 6, pp. 3323–3347. doi: 10.1093/nar/gkac146*
73. Liu H., Xu Q., Wufuer H., Li Z., Sun R., Jiang Z., Dou X., Fu Q., Campisi J., Sun Y. Rutin is a potent senomorphic agent to target senescent cells and can improve chemotherapeutic efficacy. *Aging Cell, 2024, vol. 23, no. 1: e13921 doi: 10.1111/acel.14183*
74. Liu X., Liu Z., Wu Z., Ren J., Fan Y., Sun L., Cao G., Niu Y., Zhang B., Ji Q., Jiang X., Wang C., Wang Q., Ji Z., Li L., Esteban C.R., Yan K., Li W., Cai Y., Wang S., Zheng A., Zhang Y.E., Tan S., Cai Y., Song M., Lu F., Tang F., Ji W., Zhou Q., Belmonte J.C.I., Zhang W., Qu J., Liu G.H. Resurrection of endogenous retroviruses during aging reinforces senescence. *Cell, 2023, vol. 186, no. 2, pp. 287–304.e26. doi: 10.1016/j.cell.2022.12.017*
75. López-Gil L., Pascual-Ahuir A., Proft M. Genomic instability and epigenetic changes during aging. *Int. J. Mol. Sci., 2023, vol. 24, no. 18: 14279. doi: 10.3390/ijms241814279*
76. Martínez E., Blanco J.L., Arnaiz J.A., Pérez-Cuevas J.B., Mocroft A., Cruceta A., Marcos M.A., Milinkovic A., García-Viejo M.A., Mallolas J., Carné X., Phillips A., Gatell J.M. Hepatotoxicity in HIV-1-infected patients receiving nevirapine-containing antiretroviral therapy. *AIDS, 2001, vol. 15, no. 10, pp. 1261–1268. doi: 10.1097/00002030-200107060-00007*
77. Martyshkina Y.S., Tereshchenko V.P., Bogdanova D.A., Rybtsov S.A. Reliable hallmarks and biomarkers of senescent lymphocytes. *Int. J. Mol. Sci., 2023, vol. 24, no. 21: 15653. doi: 10.3390/ijms242115653*
78. Matveeva K., Vasilieva M., Minskaia E., Rybtsov S. Shevyrev, D. T-cell immunity against senescence: potential role and perspectives. *Front. Immunol., 2024, vol. 15: 1360109. doi: 10.3389/fimmu.2024.1360109*
79. Merchut-Maya J.M., Bartek J. Jr., Bartkova J., Galanos P., Pantalone M.R., Lee M., Cui H.L., Shilling P.J., Brøchner C.B., Broholm H., Maya-Mendoza A., Söderberg-Naucler C., Bartek J. Human cytomegalovirus hijacks host stress response fueling replication stress and genome instability. *Cell. Death Differ., 2022, vol. 29, no. 8, pp. 1639–1653. doi: 10.1038/s41418-022-00953-w*
80. Mislak A.C., Frey K.M., Bollini M., Jorgensen W.L., Anderson K.S. A Mechanistic and Structural Investigation of Modified Derivatives of the Diaryltriazine Class of NNRTIs Targeting HIV-1 Reverse Transcriptase. *Biochim. Biophys. Acta, 2014, vol. 1840, no. 7, pp. 2203–2211. doi: 10.1016/j.bbagen.2014.04.0010*
81. Mutlib A.E., Gerson R.J., Meunier P.C., Haley P.J., Chen H., Gan L.S., Davies M.H., Gemzik B., Christ D.D., Krahn D.F., Markwalder J.A., Seitz S.P., Robertson R.T., Miwa G.T. The species-dependent metabolism of efavirenz produces a nephrotoxic glutathione conjugate in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol., 2000, vol. 169, no. 1, pp. 102–113. doi: 10.1006/taap.2000.9055*
82. Mitchell M.L., Son J.C., Guo H., Im Y.A., Cho E.J., Wang J., Hayes J., Wang M., Paul A., Lansdon E.B., Chen J.M., Graupe D., Rhodes G., He G.X., Geleziunas R., Xu L., Kim C.U. N1-Alkyl pyrimidinediones as non-nucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase. *Bioorg. Med. Chem. Lett., 2010, vol. 20, no. 5, pp. 1589–1592. doi: 10.1016/j.bmcl.2010.01.085*
83. Neidhart M., Rethage J., Kuchen S., Künzler P., Crowl R.M., Billingham M.E., Gay R.E., Gay S. Retrotransposable L1 elements expressed in rheumatoid arthritis synovial tissue: association with genomic DNA hypomethylation and influence on gene expression. *Arthritis Rheum., 2000, vol. 43, no. 12, pp. 2634–2647. doi: 10.1002/1529-0131(200012)43:12<2634::AID-ANR3>3.0.CO;2-1*
84. Ng K.W., Boumelha J., Enfield K.S.S., Almagro J., Cha H., Pich O., Karasaki T., Moore D.A., Salgado R., Sivakumar M., Young G., Molina-Arcas M., de Carné Trécesson S., Anastasiou P., Fendler A., Au L., Shepherd S.T.C., Martínez-Ruiz C., Puttick C., Black J.R.M., Watkins T.B.K., Kim H., Shim S., Faulkner N., Attig J., Veeriah S., Magno N., Ward S., Frankell A.M., Al Bakir M., Lim E.L., Hill M.S., Wilson G.A., Cook D.E., Birkbak N.J., Behrens A., Yousaf N., Popat S., Hackshaw A.; TRACERx Consortium; CAPTURE Consortium; Hiley C.T., Litchfield K., McGranahan N., Jamal-Hanjani M., Larkin J., Lee S.H., Turajlic S., Swanton C., Downward J., Kassiotis G. Antibodies against endogenous retroviruses promote lung cancer immunotherapy. *Nature, 2023, vol. 616, no. 7957, pp. 563–573. doi: 10.1038/s41586-023-05771-9*
85. Niedernhofer L.J., Gurkar A.U., Wang Y., Vijg J., Hoeijmakers J.H.J., Robbins P.D. Nuclear Genomic Instability and Aging. *Annu. Rev. Biochem., 2018, vol. 87, no. 1, pp. 295–322. doi: 10.1146/annurev-biochem-062917-012239*
86. Odama M., Maegawa E., Suzuki K., Fujii Y., Maeda R., Murakami S., Ito T. Effects of betulinic acid on the proliferation, cellular senescence, and type 1 interferon-related signaling pathways in human dermal fibroblasts. *J. Agric. Food. Chem., 2023, vol. 71, no. 18, pp. 6935–6943. doi: 10.1021/acs.jafc.2c08563*
87. O'Donnell J.S., Hunt S.K., Chappell K.J. Integrated molecular and immunological features of human T-lymphotropic virus type 1 infection and disease progression to adult T-cell leukaemia or lymphoma. *Lancet Haematol., 2023, vol. 10, no. 7, pp. e539–e548. doi: 10.1016/S2352-3026(23)00087-X*
88. Ostrowski L.A., Hall A.C., Szafranski K.J., Oshidari R., Abraham K.J., Chan J.N.Y., Krustev C., Zhang K., Wang A., Liu Y., Guo R., Mekhail K. Conserved Pbp1/Ataxin-2 regulates retrotransposon activity and connects polyglutamine expansion-driven protein aggregation to lifespan-controlling rDNA repeats. *Commun. Biol., 2018, vol. 1, no. 1: 187. doi: 10.1038/s42003-018-0187-3*

89. Pastuzyn E.D., Day C.E., Kearns R.B., Kyrke-Smith M., Taibi A.V., McCormick J., Yoder N., Belnap D.M., Erlendsson S., Morado D.R., Briggs J.A.G., Feschotte C., Shepherd J.D. The neuronal gene arc encodes a repurposed retrotransposon gag protein that mediates intercellular RNA transfer. *Cell, 2018, vol. 172, no. 1–2, pp. 275–288. doi: 10.1016/j.cell.2017.12.024*
90. Pau A.K., George J.M. Antiretroviral therapy: current drugs. *Infect. Dis. Clin. North Am., 2014, vol. 28, no. 3, pp. 371–402. doi: 10.1016/j.idc.2014.06.001*
91. Pawelec G. Hallmarks of human "immunosenescence": adaptation or dysregulation? *Immun. Ageing, 2012, vol. 9, no. 1: 15. doi: 10.1186/1742-4933-9-15*
92. Peng Y., Zong Y., Wang D., Chen J., Chen Z.S., Peng F., Liu Z. Current drugs for HIV-1: from challenges to potential in HIV/AIDS. *Front. Pharmacol., 2023, vol. 14: 1294966. doi: 10.3389/fphar.2023.1294966*
93. Pessoa J., Nóbrega-Pereira S., de Jesus B.B. Senescent cell-derived vaccines: a new concept towards an immune response against cancer and aging? *Aging (Albany NY), 2024, vol. 16, no. 12, pp. 10657–10665. doi: 10.18632/aging.205975*
94. Petr M.A., Tulika T., Carmona-Marin L.M., Scheibye-Knudsen M. Protecting the aging genome. *Trends. Cell. Biol., 2020, vol. 30, no. 2, pp. 117–132. doi: 1016/j.tcb.2019.12.00110*
95. Phan J., Chen B., Zhao Z., Allies G., Iannaccone A., Paul A., Cansiz F., Spina A., Leven A.S., Gellhaus A., Schadendorf D., Kimmig R., Mettlen M., Tasdogan A., Morrison S.J. Retrotransposons are co-opted to activate hematopoietic stem cells and erythropoiesis. *Science, 2024, vol. 386, no. 6722: eado6836. doi: 10.1126/science.ado6836*
96. Pich O., Reyes-Salazar I., Gonzalez-Perez A., Lopez-Bigas N. Discovering the drivers of clonal hematopoiesis. *Nat. Commun., 2022, vol. 13, no. 1: 4267. doi: 10.1038/s41467-022-31878-0*
97. Pilié P.G., Tang C., Mills G.B., Yap T.A. State-of-the-art strategies for targeting the DNA damage response in cancer. *Nat. Rev. Clin. Oncol., 2019, vol. 16, no. 2, pp. 81–104. doi: 10.1038/s41571-018-0114-z*
98. Pradhan R.K., Ramakrishna W. Transposons: Unexpected players in cancer. *Gene, 2022, vol. 808: 145975. doi: 10.1016/j.gene.2021.145975*
99. Prati B., Marangoni B., Boccardo E. Human papillomavirus and genome instability: from productive infection to cancer. *Clinics (Sao Paulo), 2018, vol. 73: e539s. doi: 10.6061/clinics/2018/e539s*
100. Pukhalskaia T.V., Yurakova T.R., Bogdanova D.A., Demidov O.N. Tumor-associated senescent macrophages, their markers, and their role in tumor microenvironment. *Biochemistry (Mosc.), 2024, vol. 89, no. 5, pp. 839–852. doi: 10.1134/S0006297924050055*
101. Raviola S., Griffante G., Iannucci A., Chandel S., Lo Cigno I., Lacarbonara D., Caneparo V., Pasquero S., Favero F., Corà D., Trisolini E., Boldorini R., Cantaluppi V., Landolfo S., Gariglio M., De Andrea M. Human cytomegalovirus infection triggers a paracrine senescence loop in renal epithelial cells. *Commun. Biol., 2024, vol. 7, no. 1: 292. doi: 10.1038/s42003-024-05957-5*
102. Reis B.S., Jungbluth A.A., Frosina D., Holz M., Ritter E., Nakayama E., Ishida T., Obata Y., Carver B., Scher H., Scardino P.T., Slovin S., Subudhi S.K., Reuter V.E., Savage C., Allison J.P., Melamed J., Jäger E., Ritter G., Old L.J., Gnjatic S. Prostate cancer progression correlates with increased humoral immune response to a human endogenous retrovirus GAG protein. *Clin. Cancer Res., 2013, vol. 19, no. 22, pp. 6112–6125. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3580*
103. Reyes A., Ortiz G., Duarte L.F., Fernández C., Hernández-Armengol R., Palacios P.A., Prado Y., Andrade C.A., Rodriguez-Guilarte L., Kalergis A.M., Simon F., Carreño L.J., Riedel C.A., Cáceres M., González P.A. Contribution of viral and bacterial infections to senescence and immunosenescence. *Front. Cell. Infect. Microbiol., 2023, vol. 13: 1229098. doi: 10.3389/fcimb.2023.1229098*
104. Riaz Rajoka M.S., Zhao H., Li N., Lu Y., Lian Z., Shao D., Jin M., Li Q., Zhao L., Shi J. Origination, change, and modulation of geriatric disease-related gut microbiota during life. *Appl Microbiol. Biotechnol., 2018, vol. 102, no. 19, pp. 8275–8289. doi: 10.1007/s00253-018-9264-2*
105. Rivas S.R., Valdez M.J.M., Govindarajan V., Seetharam D., Doucet-O'Hare T.T., Heiss J.D., Shah A.H. The role of HERV-K in cancer stemness. *Viruses, 2022, vol. 14, no. 9: 2019. doi: 10.3390/v14092019*
106. Robinson W.H, Steinman L. Epstein–Barr virus and multiple sclerosis. *Science, 2022, vol. 375, no. 6578, pp. 264–265. doi: 10.1126/science.abm7930*
107. Rodić N., Sharma R., Sharma R., Zampella J., Dai L., Taylor M.S., Hruban R.H., Iacobuzio-Donahue C.A., Maitra A., Torbenson M.S., Goggins M., Shih IeM., Duffield A.S., Montgomery E.A., Gabrielson E., Netto G.J., Lotan T.L., De Marzo A.M., Westra W., Binder Z.A., Orr B.A., Gallia G.L., Eberhart C.G., Boeke J.D., Harris C.R., Burns K.H. Long interspersed element-1 protein expression is a hallmark of many human cancers. *Am. J. Pathol., 2014, vol. 184, no. 5, pp. 1280–1286. doi: 10.1016/j.ajpath.2014.01.007*
108. Ross J.B., Myers L.M., Noh J.J., Collins M.M., Carmody A.B., Messer R.J., Dhuey E., Hasenkrug K.J., Weissman I.L. Depleting myeloid-biased haematopoietic stem cells rejuvenates aged immunity. *Nature, 2024, vol. 628, no. 8006, pp. 162–170. doi: 10.1038/s41586-024-07238-x*
109. Rowe H.M., Kapopoulou A., Corsinotti A., Fasching L., Macfarlan T.S., Tarabay Y., Viville S., Jakobsson J., Pfaff S.L., Trono D. TRIM28 repression of retrotransposon-based enhancers is necessary to preserve transcriptional dynamics in embryonic stem cells. *Genome Res., 2013, vol. 23, no. 3, pp. 452–461. doi: 10.1101/gr.147678.112*
110. Rybtsova N., Berezina T.N., Rybtsov S. Molecular markers of blood cell populations can help estimate aging of the immune system. *Int. J. Mol. Sci., 2023, vol. 24, no. 6: 5708. doi: 10.3390/ijms24065708*
111. Sagiv A., Burton D.G., Moshayev Z., Vadai E., Wensveen F., Ben-Dor S., Golani O., Polic B., Krizhanovsky V. NKG2D ligands mediate immunosurveillance of senescent cells. *Aging (Albany NY), 2016, vol. 8, no. 2, pp. 328–344. doi: 10.18632/aging.100897*
112. Sbardella G., Bartolini S., Castellano S., Artico M., Paesano N., Rotili D., Spadafora C., Mai A. 6-alkylthio-4-[1-(2,6-difluorophenyl)alkyl]-1H-[1,3,5]triazin-2-ones (ADATs): novel regulators of cell differentiation and proliferation. *ChemMedChem., 2006, vol. 1, no. 10, pp. 1073–1080. doi: 10.1002/cmdc.200600139*
113. Sbardella G., Mai A., Bartolini S., Castellano S., Cirilli R., Rotili D., Milite C., Santoriello M., Orlando S., Sciamanna I., Serafino A., Lavia P., Spadafora C. Modulation of cell differentiation, proliferation, and tumor growth by dihydrobenzyloxopyrimidine non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *J. Med. Chem., 2011, vol. 54, no. 16, pp. 5927–5936. doi: 10.1021/jm200734j*

114. Schoepf I.C., Esteban-Cantos A., Thorball C.W., Rodés B., Reiss P., Rodríguez-Centeno J., Riebensahm C., Braun D.L., Marzolini C., Seneghini M., Bernasconi E., Cavassini M., Buvelot H., Thurnheer M.C., Kouyos R.D., Fellay J., Günthard H.F., Arribas J.R., Ledergerber B., Tarr P.E. Epigenetic ageing accelerates before antiretroviral therapy and decelerates after viral suppression in people with HIV in Switzerland: a longitudinal study over 17 years. *Lancet. Healthy. Longev., 2023, vol. 4, no. 5, pp. e211–e218. doi: 10.1016/S2666-7568(23)00037-5*
115. Sciamanna I., Landriscina M., Pittoggi C., Quirino M., Mearelli C., Beraldi R., Mattei E., Serafino A., Cassano A., Sinibaldi-Vallebona P., Garaci E., Barone C., Spadafora C. Inhibition of endogenous reverse transcriptase antagonizes human tumor growth. *Oncogene, 2005, vol. 24, no. 24, pp. 3923–3931. doi: 10.1038/sj.onc.1208562*
116. Sciamanna I., Vitullo P., Curatolo A., Spadafora C. A reverse transcriptase-dependent mechanism is essential for murine preimplantation development. *Genes (Basel), 2011, vol. 2, no. 2, pp. 360–373. doi: 10.3390/genes2020360*
117. Sharma A.M., Li Y., Novalen M., Hayes M.A., Uetrecht J. Bioactivation of nevirapine to a reactive quinone methide: implications for liver injury. *Chem. Res. Toxicol., 2012, vol. 25, no. 8, pp. 1708–1719. doi: 10.1021/tx300172s*
118. Shevyrev D., Tereshchenko V., Berezina T.N., Rybtsov S. Hematopoietic stem cells and the immune system in development and aging. *Int. J. Mol. Sci., 2023, vol. 24, no. 6: 5862. doi: 10.3390/ijms24065862*
119. Simon M., Van Meter M., Ablaeva J., Ke Z., Gonzalez R.S., Taguchi T., De Cecco M., Leonova K.I., Kogan V., Helfand S.L., Neretti N., Roichman A., Cohen H.Y., Meer M.V., Gladyshev V.N., Antoch M.P., Gudkov A.V., Sedivy J.M., Seluanov A., Gorbunova V. LINE1 derepression in aged wild-type and SIRT6-deficient mice drives inflammation. *Cell Metab., 2019, vol. 29, no. 4, pp. 871–885. doi: 10.1016/j.cmet.2019.02.014*
120. Singh M., Cai H., Bunse M., Feschotte C., Izsvák Z. Human Endogenous Retrovirus K Rec forms a regulatory loop with MITF that opposes the progression of melanoma to an invasive stage. *Viruses, 2020, vol. 12, no. 11: 1303. doi: 10.3390/v12111303*
121. Smer-Barreto V., Quintanilla A., Elliott R.J.R., Dawson J.C., Sun J., Campa V.M., Lorente-Macías Á., Unciti-Broceta A., Carragher N.O., Acosta J.C., Oyarzún D.A. Discovery of senolytics using machine learning. *Nat. Commun., 2023, vol. 14, no. 1: 3445. doi: 10.1038/s41467-023-39120-1*
122. Solana R., Tarazona R., Aiello A.E., Akbar A.N., Appay V., Beswick M., Bosch J.A., Campos C., Cantisán S., Cicin-Sain L., Derhovanessian E., Ferrando-Martínez S., Frasca D., Fulöp T., Govind S., Grubeck-Loebenstein B., Hill A., Hurme M., Kern F., Larbi A., López-Botet M., Maier A.B., McElhaney J.E., Moss P., Naumova E., Nikolich-Zugich J., Pera A., Rector J.L., Riddell N., Sanchez-Correa B., Sansoni P., Sauce D., van Lier R., Wang G.C., Wills M.R., Zieliński M., Pawelec G. CMV and Immunosenescence: from basics to clinics. *Immun. Ageing, 2012, vol. 9, no. 1: 23. doi: 10.1186/1742-4933-9-23*
123. Song D.G., Ye Q., Santoro S., Fang C., Best A., Powell D.J. Jr. Chimeric NKG2D CAR-expressing T cell-mediated attack of human ovarian cancer is enhanced by histone deacetylase inhibition. *Hum. Gene Ther., 2013, vol. 24, no. 3, pp. 295–305. doi: 10.1089/hum.2012.143*
124. Spadafora C. A LINE-1-encoded reverse transcriptase-dependent regulatory mechanism is active in embryogenesis and tumorigenesis. *Ann. N.Y. Acad. Sci., 2015, vol., 1341, no. 1, pp. 164–171. doi: 10.1111/nyas.12637*
125. Stoeger T., Grant R.A., McQuattie-Pimentel A.C., Anekalla K.R., Liu S.S., Tejedor-Navarro H., Singer B.D., Abdala-Valencia H., Schwake M., Tetreault M.P., Perlman H., Balch W.E., Chandel N.S., Ridge K.M., Sznajder J.I., Morimoto R.I., Misharin A.V., Budinger G.R.S., Nunes Amaral L.A. Aging is associated with a systemic length-associated transcriptome imbalance. *Nat. Aging, 2022, vol. 2, no. 12, pp. 1191–1206. doi: 10.1038/s43587-022-00317-6*
126. Su B., Gao G., Wang M., Lu Y., Li L., Chen C., Chen Y., Song C., Yu F., Li Y., Liu Y., Luo Y., He H., Cheng C., Xu L., Zhang T., Sun L., Liu A., Xia W., Qin Y., Zhao Q., Wei H., Cai W., Chen Y., Zhang F., Wu H. Efficacy and safety of ainuovirine versus efavirenz combination therapies with lamivudine/tenofovir disoproxil fumarate for medication of treatment-na ve HIV-1-positive adults: week 48 results of a randomized controlled phase 3 clinical trial followed by an open-label setting until week 96. *Lancet Reg. Health West Pac., 2023, vol. 36: 100769. doi: 10.1016/j.lanwpc.2023.100769*
127. Sun J.X., Xu J.Z., Liu C.Q., An Y., Xu M.Y., Zhong X.Y., Zeng N., Ma S.Y., He H.D., Hu J., Liu Z., Wang S.G., Xia Q.D. The association between human papillomavirus and bladder cancer: Evidence from meta-analysis and two-sample mendelian randomization. *J. Med. Virol., 2023, vol. 95, no. 1: e28208 doi: 10.1002/jmv.28208*
128. Taglialegna, A. A virus hastens ageing in flies. *Nat. Rev. Microbiol., 2024, vol. 22, no. 8, pp. 455–455. doi: 10.1038/s41579-024-01070-w*
129. Ukadike K.C., Najjar R., Ni K., Laine A., Wang X., Bays A., Taylor M.S., LaCava J., Mustelin T. Expression of L1 retrotransposons in granulocytes from patients with active systemic lupus erythematosus. *Mob. DNA, 2023, vol. 14, no. 1: 5. doi: 10.1186/s13100-023-00293-7*
130. Vijg J., Montagna C. Genome instability and aging: Cause or effect? *Translational Medicine of Aging, 2017, vol. 1, pp. 5–11. doi: 10.33029/1816-2134-2024-45-2-221-234*
131. Voronina M.V., Frolova A.S., Kolesova E. The intricate balance between life and death: ROS, cathepsins, and their interplay in cell death and autophagy. *Int. J. Mol. Sci., 2024, vol. 25, no. 7: 4087. doi: 10.3390/ijms25074087*
132. Wahl D., Smith M.E., McEntee C.M., Cavalier A.N., Osburn S.C., Burke S.D., Grant R.A., Nerguizian D., Lark D.S., Link C.D., LaRocca T.J. The reverse transcriptase inhibitor 3TC protects against age-related cognitive dysfunction. *Aging Cell, 2023, vol. 22, no. 5: e13798. doi: 10.1111/acel.13798*
133. Wang T., Medynets M., Johnson K.R., Doucet-O'Hare T.T., DiSanza B., Li W., Xu Y., Bagnell A., Tyagi R., Sampson K., Malik N., Steiner J., Hadegan A., Kowalak J., O'Malley J., Maric D., Nath A. Regulation of stem cell function and neuronal differentiation by HERV-K via mTOR pathway. *Proc. Natl Acad. Sci. USA, 2020, vol. 117, no. 30, pp. 17842–17853. doi: 10.1073/pnas.2002427117*
134. Wells J.N., Chang N.C., McCormick J., Coleman C., Ramos N., Jin B., Feschotte C. Transposable elements drive the evolution of metazoan zinc finger genes. *Genome Res., 2023, vol. 33, no. 8, pp. 1325–1339. doi: 10.1101/gr.277966.123*
135. Wilmoth J.R. Demography of longevity: past, present, and future trends. *Exp. Gerontol., 2000, vol. 35, no. 9–10, pp. 1111–1129. doi: 10.1016/s0531-5565(00)00194-7*

136. Wit F.W.N.M., Lange J.M.A., Volberding P.A. New HIV drug development. *HIV/AIDS Medicine, 2008, pp. 123–134. doi: 10.1016/B978-1-4160-2882-6.50016-2*
137. 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*
138. Wu J., Wu C., Xing F., Cao L., Zeng W., Guo L., Li P., Zhong Y., Jiang H., Luo M., Shi G., Bu L., Ji Y., Hou P., Peng H., Huang J., Li C., Guo D. Endogenous reverse transcriptase and RNase H-mediated antiviral mechanism in embryonic stem cells. *Cell Res., 2021, vol. 31, no. 9, pp. 998–1010. doi: 10.1038/s41422-021-00524-7*
139. Yang B., Li T., Wang Z., Zhu Y., Niu K., Hu S., Lin Z., Zheng X., Jin X., Shen C. Ruxolitinib-based senomorphic therapy mitigates cardiomyocyte senescence in septic cardiomyopathy by inhibiting the JAK2/STAT3 signaling pathway. *Int. J. Biol. Sci., 2024, vol. 20, no. 11, pp. 4314–4340. doi: 10.7150/ijbs.96489*
140. Yoshida S., Nakagami H., Hayashi H., Ikeda Y., Sun J., Tenma A., Tomioka H., Kawano T., Shimamura M., Morishita R., Rakugi H. The CD153 vaccine is a senotherapeutic option for preventing the accumulation of senescent T cells in mice. *Nat. Commun., 2020, vol. 11, no. 1: 2482. doi: 10.1038/s41467-020-16347-w*
141. Zhang L., Pitcher L.E., Prahalad V., Niedernhofer L.J., Robbins P.D. Targeting cellular senescence with senotherapeutics: senolytics and senomorphics. *FEBS J., 2023, vol. 290, no. 5, pp. 1362–1383. doi: 10.1111/febs.16350*
142. Zhong L., Zhao Q., Zeng M.S., Zhang X. Prophylactic vaccines against Epstein–Barr virus. *Lancet, 2024, vol. 404, no. 10455: 845. doi: 10.1016/S0140-6736(24)01608-8*
143. Zhou L., Mitra R., Atkinson P.W., Hickman A.B., Dyda F., Craig N.L. Transposition of hAT elements links transposable elements and V(D)J recombination. *Nature, 2004, vol. 432, no. 7020, pp. 995–1001. doi: 10.1038/nature03157*
144. Zlotorynski E. Younger endogenous retroviruses make us older. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 2023, vol. 24: 165. doi: 10.1038/s41580-023-00580-4*

Авторы:
Лысакова Е.В., аспирант, младший научный сотрудник, направление «Иммунобиология и биомедицина», АНОО ВО Научно-технологический университет «Сириус», Федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия;
Бурак М.Ю., магистрант, АНОО ВО Научно-технологический университет «Сириус», Федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия;
Навроцкий М.Б., к.ф.н., руководитель группы «Медицинская химия», направление «Медицинская биотехнология», АНОО ВО Научно-технологический университет «Сириус», Федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия;
Рыбцов С.А., к.б.н., руководитель ресурсного центра клеточных технологий и иммунологии АНОО ВО Научно-технологический университет «Сириус», Федеральная территория «Сириус», Краснодарский край, Россия.

Authors:
Lysakova E.V., PhD Student, Junior Researcher, Division of Immunobiology and Biomedicine, Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Krasnodar Region, Russian Federation;
Burak M.Yu., Master's degree Student, Sirius University of Science and Technology, Sirius Federal Territory, Krasnodar Region, Russian Federation;
Navrotsky M.B., PhD (Pharmacy), Head of the Medical Chemistry Group, Division of Medical Biotechnology, 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.

Поступила в редакцию 06.12.2024
Принята к печати 23.03.2025

Received 06.12.2024
Accepted 23.03.2025

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 465–475

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 465–475

INTERACTIONS BETWEEN VIRAL AND BACTERIAL PATHOGENS IN INFECTION DEVELOPMENT: A REVIEW WITH AN EMPHASIS ON HERPES SIMPLEX VIRUS (HSV)

M.H. Kalantar Neyestanaki[a], A. Mehdipour[b]

[a] *Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran*
[b] *Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran*

Abstract. The interaction between viruses and bacteria has a significant impact on human health, affecting various microbial ecosystems in the respiratory and urogenital tracts as well as in cases of ventilator-associated pneumonia. These interactions can be complex and contribute to the development of diseases. Some interactions benefit the virus directly, while others indirectly create conditions favorable for bacterial growth. For instance, viruses can damage epithelial cells, disrupt the immune system, and alter the composition of the microbiota, making the host more susceptible to bacterial infections. Conversely, bacterial species can influence viral infections by altering the host environment and potentially contributing to viral transmission. Herpes simplex virus (HSV) is a common infection caused by two types, HSV-1 and HSV-2, which can lead to various illnesses ranging from mild mucocutaneous infections to severe neurological and systemic complications. HSV-1 is often associated with cold sores, while HSV-2 primarily causes genital herpes. Both viruses are highly contagious and spread through close contact. While there's no cure, antiviral medications can manage symptoms and reduce transmission. The prevalence of HSV-2 varies globally and is influenced by factors such as geographic location, gender, and sexual behavior. The virus can cause a wide range of symptoms depending on the infection site and the individual's immune system. HSV can interact with various bacterial species to influence the development and progression of disease. For example, it can exacerbate periodontal disease by creating conditions favorable for bacterial growth or increase the risk of acquiring bacterial infections such as *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacter baumannii*. Conversely, some bacteria, like *Lactobacillus crispatus*, can inhibit HSV infection. Additionally, HSV can interact with bacteria in specific disease contexts, such as increasing the severity of ventilator-associated pneumonia or facilitating bacterial urinary tract infections. Moreover, bacterial vaginosis is associated with an increased risk of HSV-2 acquisition. Overall, this review underscores the necessity for ongoing research into viral-bacterial interactions, particularly focusing on HSV, to enhance our understanding of disease pathogenesis and improve therapeutic and public health strategies.

Key words: *bacterial infection, co-infection, herpes simplex virus, host microbial interactions, public health, viral infections.*

Адрес для переписки:
Аида Мехдипур
37185, Иран, г. Кум, б-р Алгадир, Стоматологический факультет, Кумский университет медицинских наук.
Тел: +98 912 634 4677
Факс: +98 25 3771 5212
E-mail: mehdipoor_aida@yahoo.com

Contacts:
Aida Mehdipour
37185, Iran, Qom, Alghadir Blvd, Dental Faculty, Qom University of Medical Sciences.
Phone: +98 912 634 4677.
Fax: +98 25 3771 5212.
E-mail: mehdipoor_aida@yahoo.com

Для цитирования:
Калантар Нейестанаки М.Х., Мехдипур А. Взаимодействия между вирусными и бактериальными патогенами в развитии инфекций: обзор с акцентом на вирус простого герпеса // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 465–475. doi: 10.15789/2220-7619-TIB-17749

Citation:
Kalantar Neyestanaki M.H., Mehdipour A. Interactions Between Viral and Bacterial Pathogens in Infection Development: A Review with an Emphasis on Herpes Simplex Virus (HSV) // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 465–475. doi: 10.15789/2220-7619-TIB-17749

© Kalantar Neyestanaki M.H., Mehdipour A., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-TIB-17749

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ ВИРУСНЫМИ И БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ПАТОГЕНАМИ В РАЗВИТИИ ИНФЕКЦИЙ: ОБЗОР С АКЦЕНТОМ НА ВИРУС ПРОСТОГО ГЕРПЕСА

Калантар Нейестанаки М.Х.[1], Мехдипур А.[2]

[1] *Аракский университет медицинских наук, г. Арак, Иран*
[2] *Кумский университет медицинских наук, г. Кум, Иран*

Резюме. Взаимодействие между вирусами и бактериями оказывает значительное влияние на здоровье человека, затрагивая различные микробные экосистемы в дыхательных и мочеполовых путях, а также в случаях вентилятор-ассоциированной пневмонии. Такие взаимодействия могут быть сложными и способствовать развитию заболеваний. Ряд взаимодействий могут непосредственно поддерживать жизненный цикл вируса, в то время как другие косвенно создают условия, благоприятные для роста бактерий. Например, вирусы могут повреждать эпителиальные клетки, нарушать иммунную систему и изменять состав микробиоты, делая организм хозяина более восприимчивым к бактериальным инфекциям. И наоборот, бактерии могут влиять на вирусные инфекции, изменяя гомеостаз организма хозяина и потенциально способствовать распространению вируса. Вирус простого герпеса (ВПГ) первого и второго типа (ВПГ-1 и ВПГ-2) вызывает распространенную инфекцию, проявляющуюся как в виде легких слизисто-кожных инфекций, так и в виде тяжелых неврологических и системных поражений. ВПГ-1 часто ассоциируется с герпесом на губах, в то время как ВПГ-2 в первую очередь вызывает генитальный герпес. Оба вируса крайне контагиозны и распространяются при близком контакте. Хотя существующие лекарства не приводят к элиминации вирусов, противовирусные препараты способны контролировать симптомы и снижать их распространение. Уровень инфицирования ВПГ-2 варьирует в разных странах и зависит от таких факторов, как географическое положение, пол и сексуальное поведение человека. Вирус может вызывать широкий спектр симптомов в зависимости от места инфицирования и сохранности иммунной системы человека. ВПГ может взаимодействовать с различными видами бактерий, влияя на развитие и прогрессирование заболевания. Например, он может усугублять пародонтоз, создавая условия, благоприятные для роста бактерий, или повышать риск заражения бактериальными инфекциями, такими как *Staphylococcus aureus* и *Acinetobacter baumannii*. И наоборот, некоторые бактерии, такие как *Lactobacillus crispatus*, могут препятствовать заражению ВПГ. Кроме того, ВПГ может взаимодействовать с бактериями и утяжелять течение пневмонии, связанной с искусственной вентиляцией легких, или способствовать формированию бактериальных инфекций мочевыводящих путей. Более того, бактериальный вагиноз связан с повышенным риском заражения ВПГ-2. В целом представленный обзор подчеркивает необходимость постоянного исследования вирусно-бактериальных взаимодействий, особенно роли ВПГ, для улучшения понимания патогенеза заболевания и улучшения терапевтических стратегий и тактики здравоохранения.

Ключевые слова: *бактериальная инфекция, коинфекция, вирус простого герпеса, взаимодействия микробы–хозяин, общественное здравоохранение, вирусные инфекции.*

Introduction

The interactions between viruses and bacteria have recently emerged as a focal point of study due to numerous significant examples involving human pathogens of clinical relevance. However, despite their likely importance in applied and health sciences, the ubiquitous interactions between viruses and bacteria have yet to be thoroughly reviewed or compiled. While it has long been recognized that bacteria and eukaryotic viruses coexist, attention to their relationships, particularly in terms of promoting or inhibiting each other's presence in their eukaryotic hosts, has only relatively recently gained traction. Although co-infections among different pathogens, including those spanning multiple kingdoms, have been well-documented, many questions remain regarding the mechanisms and extent to which these pathogens, along with their interactions with other microbes, contribute to varying infection levels. Infectious diseases are primarily caused by viruses or bacteria that frequently interact with one another. Although their presence may precede subsequent infections, viruses, and bacteria can exist in the body without causing any special symptoms. They often inhabit the same niches, yet only recently has there been growing interest in their potential collaboration in promoting wellness or disease states. While the interaction of certain bacteria and viruses, such as the influenza virus, is well understood, researchers typically prioritize identifying the location of the infection over the manner of cooperation. There are two main types of interactions between bacteria and viruses that cause disease: direct interactions that benefit the viruses in some way, and indirect interactions that benefit bacteria. Direct interactions that promote viruses occur when the virus utilizes a bacterial component to facilitate entry into the host cell. Conversely, indirect interactions lead to heightened bacterial pathogenesis due to viral infection. Enteric viruses primarily utilize the direct pathway, whereas respiratory viruses predominantly impact bacteria indirectly [1].

Understanding the interactions between viral and bacterial infections is crucial for effective management and prognosis determination in patients. These interactions can significantly impact the course

of disease and treatment outcomes. For instance, herpes simplex virus (HSV) infection is one of the most common sexually transmitted infections in humans and can have serious implications for both individual health and public health. Therefore, elucidating the relationship between HSV and various bacterial infections is vital. Research has shown that viral infections can predispose individuals to secondary bacterial infections or exacerbate existing bacterial infections. This phenomenon is often observed in respiratory infections, where viral pathogens like influenza viruses weaken the immune response, making individuals more susceptible to bacterial superinfections such as pneumonia. Conversely, bacterial infections can also influence viral infections [3].

Understanding the mechanisms underlying these interactions is essential for developing targeted therapeutic strategies. Furthermore, understanding how viral and bacterial pathogens interact in the host can inform the development of new therapies, such as combination therapies that target both pathogens simultaneously, providing insights into the dynamics of disease transmission and informing public health actions. By understanding how viral and bacterial pathogens interact in hosts and spread among populations, public health officials can implement more effective control measures to prevent outbreaks and reduce disease burden [30]. This review highlights key knowledge on the complex interplay between viral and bacterial infections, with a particular focus on herpes simplex virus (HSV).

Herpes simplex virus

Herpes simplex virus encompasses types 1 and 2 (HSV-1 and HSV-2), which manifest in a wide array of illnesses, ranging from mucocutaneous infections to infections of the central nervous system (CNS) and sporadic infections of visceral organs, some of which can pose life-threatening risks. The term “herpes” derived from the Greek word meaning “to creep” has been documented in medical literature since ancient times. Cold sores, also known as herpes febrile, were noted by the Roman physician Herodotus around AD 100. Genital herpes was first detailed by John Astruc, a physician to the king of France, in 1736, with the initial English translation of his treatise on venereal disease emerging in 1754. Transmission of infection through orolabial lesions was observed in the late 19th century. Experimental transmission of the disease to rabbits was achieved in the early 20th century, and the ability to culture HSV *in vitro* was established in 1925. In the 1960s, Nahmias and Dowdle identified two antigenic types of HSV, each with distinct sites of viral recovery [7, 33, 47].

The eight human herpesviruses (HHVs) are categorized into three groups based on their genomic and biological characteristics: alphaherpesviruses (such as HSV-1, HSV-2, and varicella-zoster virus [VZV]), betaherpesviruses (including cytomegalovirus [CMV], HHV-6, and HHV-7), and gammaherpesviruses (such as Epstein–Barr virus and Kaposi sarcoma-associated herpesvirus, or HHV-8). Herpesviruses share certain morphological traits, such as an internal core containing double-stranded DNA, an icosahedral capsid comprising 162 capsomers, an amorphous tegument surrounding the capsid, a lipid envelope containing surface viral glycoproteins, and an average diameter of approximately 160 nm. However, despite these structural similarities, each herpesvirus exhibits distinct biological and epidemiological features. Although HSV-1 and HSV-2 are closely related to herpesviruses, they exhibit distinct serological and genetic characteristics. The genome of HSV consists of a linear, double-stranded DNA molecule with a molecular weight of approximately 1×10^8 kDa, encoding around 90 transcriptional units, of which 84 are believed to encode proteins. The genome features repeated sequences at both terminal ends, organized in an inverted fashion, thus dividing it into two unique components. While HSV-1 and HSV-2 share approximately 50% overall sequence homology, homologous sequences are distributed throughout the entire genome. Most polypeptides encoded by one viral type are antigenically related to those of the other viral type. However, there are also type-specific regions unique to HSV-1 and HSV-2 proteins, some of which play a role in evading host immunity. Despite diverging 6 to 8 million years ago, interspecies recombinants of HSV-1 and HSV-2 are widely circulated. HSV demonstrates genomic stability, and methods such as restriction endonuclease or sequence analysis of viral DNA can distinguish between the two subtypes and among strains of each subtype [6, 27, 51].

HSV-1 has a wide distribution, infecting over 3.7 billion adults by the age of 40. The prevalence of HSV-2 varies significantly and is influenced by factors such as geographic location, gender, and sexual behavior. Generally, women have higher rates of HSV-2 infection compared to men. Among populations with weakened immunity, such as individuals with HIV or attendees of STD clinics, as well as men who have sex with men (MSM), HSV-2 infection rates can exceed 80%. The prevalence of HSV-2 infection correlates with sexual activity, increasing with factors such as a higher number of sexual partners, younger age at sexual debut, and the presence of existing sexually transmitted diseases. In populations such as female sex workers, where near-universal infection rates are observed, rare genetic resistance to HSV-2 is suggested [9] (see Fig. 1 on cover II).

Transmission. Transmission of HSV most commonly occurs through close contact with an individual who is actively shedding the virus from a peripheral site, mucosal surface, or genital/oral secretions. In 1921, Lipschutz conducted experiments by inoculating material from genital herpetic lesions into the skin of humans, resulting in clinical infection

within 48 to 72 hours in six individuals and within 24 days in one case. It is now understood that infection occurs through the inoculation of the virus onto susceptible mucosal surfaces (such as the oropharynx, cervix, and conjunctivae) or through small breaks in the skin. Aerosol and fomite transmission of HSV are rare due to the virus's susceptibility to inactivation at room temperature and by drying. However, transmission of HSV-1 through orogenital contact is increasingly recognized, possibly due to a decrease in the age-specific prevalence of HSV-1 at the time of sexual debut. Certain occupations, such as dentists and respiratory care unit personnel, face the risk of spreading HSV-1 infection from oral secretions to other areas of the skin. Additionally, laboratory-acquired and nosocomial outbreaks involving hospital or nursery personnel have been documented. Herpes gladiatorum outbreaks among wrestlers are also well documented. Infants born to mothers shedding HSV at delivery can acquire the virus during birth. Anal and perianal infections with HSV-1 or HSV-2 are prevalent among sexually active MSM populations. Most cases occur within 5 days of contact, indicating the short incubation period of primary infection. However, the precise virologic determinants of transmission likelihood are not well understood. In the case of HIV infection, there is a clear relationship between genital and plasma HIV viral load and the per-coital risk for HIV transmission. However, because genital HSV-2 levels fluctuate rapidly over hours, both with and without therapy, the exact impact of source partner viral load during sex on the likelihood of transmission is uncertain. Nevertheless, modeling studies suggest that there is a certain viral load threshold that influences sexual transmission. Subclinical or asymptomatic shedding of HSV in oral and genital secretions is characteristic of infection in both immunocompetent and immunocompromised individuals, and transmission is more common during asymptomatic shedding. Prolonged episodes of asymptomatic shedding lasting several days have been well documented, even among immunocompetent patients who are taking daily antiviral therapy. In a prospective trial, the frequency of symptomatic recurrences poorly predicted the likelihood of transmission, underscoring the significant transmission risk associated with asymptomatic shedding. The frequency of detectable shedding varies widely among individuals who are seropositive for HSV-2, which likely contributes to the variability in reported rates of transmission per sexual encounter. DNA polymerase inhibitors, which reduce the frequency of asymptomatic shedding as well as the peak HSV-2 titers during recurrence, have been shown to decrease transmission within serodiscordant couples [9, 34, 54].

Clinical manifestations. Clinical manifestations of HSV infection vary depending on factors such as the site of infection, viral type (HSV-1 or HSV-2), and the host's age and immune status. The incubation period ranges from 2 to 12 days, with an average of around 4 days. Initial infections are generally more severe than recurrent ones. Orofacial infection, including gingivostomatitis and pharyngitis, is the most common initial manifestation of HSV-1, while recurrent lesions on the vermilion lip border (herpes labialis) are indicative of latent infection. Complications can include aseptic meningitis, transverse myelitis, sacral radiculopathy, and extragenital lesions during primary genital infection. HSV infection can also lead to esophagitis, pulmonary infections, hepatitis, and disseminated disease, particularly in immunocompromised patients, with severe skin infections observed in patients with eczema. Oropharyngeal HSV infection typically presents asymptomatically, but symptomatic cases may exhibit fever, oral lesions, sore throat, fetor oris, anorexia, cervical adenopathy, and mucosal edema. Genital HSV Infection: primary infections typically present with fever, malaise, myalgias, inguinal adenopathy, and signs of systemic illness. Other Primary HSV Skin Infections: atopic dermatitis can result in localized HSV skin infection known as eczema herpeticum, while trauma-induced cutaneous infection is termed herpes gladiatorum (wrestler's herpes or traumatic herpes). Ocular HSV Infection: manifestations include blepharitis or follicular conjunctivitis (keratitis and retinitis), progressing to dendritic lesions. Symptoms may include photophobia, tearing, chemosis, blurred vision, and preauricular lymphadenopathy. Central nervous system HSV Infection: characterized by headache, fever, behavioral disturbances, speech disorders, altered consciousness, and focal neurologic findings such as seizures. Neonatal HSV Infections: categorized into localized disease (affecting the skin, eyes, and/or mouth), encephalitis (with or without the involvement of skin, eyes, and/or mouth), and disseminated infection affecting multiple organs [13, 52].

Virus-Bacteria Interactions Pathophysiology

While bacteria and viruses often share similar habitats, the exploration of their potential collaboration in either promoting wellness or contributing to disease states has recently gained attention. Although some interactions between bacteria and viruses, such as those involving the influenza virus, have been well studied, researchers tend to prioritize understanding the location of infection over the mechanisms of cooperation. One of the most widely recognized examples of viral-bacterial synergy is the interaction between the influenza virus and *S. pneumoniae*. While an influenza virus infection alone can be severe, mortality rates significantly escalate with bacterial superinfections, as seen during the "Spanish flu" pandemic of 1918–1919, where millions of deaths were attributed mostly to second-

ary pneumococcal pneumonia. The mechanisms by which viruses influence bacterial colonization and invasion are diverse and multifaceted, involving both direct and indirect interactions that lead to disease. Direct interactions occur when viruses exploit bacterial components to facilitate their entry into host cells, primarily benefiting viral infiltration without conferring advantages to bacteria. In contrast, indirect interactions enhance bacterial pathogenesis as a consequence of viral infection, where viruses alter the host environment to make it more permissive for bacterial colonization. Enteric viruses predominantly utilize direct pathways, while respiratory viruses primarily exert their effects through indirect mechanisms. Although commensal bacteria inhabit various body systems, the respiratory and gastrointestinal microbiomes have been extensively studied. The gastrointestinal tract harbors a highly diverse bacterial population, with the oral cavity containing approximately 200 species and the distal intestine hosting up to 1000 species, reaching densities of up to 10^{14} bacterial cells per gram. In comparison, the respiratory tract contains a significantly lower bacterial load, with an estimated total of 10^4 bacteria and ample uncolonized space. Both commensal and pathogenic organisms colonize the nasopharynx, leading to infections in the upper and lower respiratory tracts when host homeostasis is disrupted [1, 25, 42]. Indirect interactions often involve four major mechanisms: (1) virus-induced upregulation of bacterial receptor concentrations on host cells, (2) virus-mediated damage to epithelial barriers, (3) virus-driven displacement of commensal bacteria, and (4) virus-induced suppression of the host immune response [35] (Fig. 2, cover III).

Bacterial species often benefit from viral infections. While viruses exist independently of proximal bacterial species, viral-induced disease states can create conditions where normally harmless bacteria become opportunistically pathogenic. In healthy circumstances, direct competition among microbes helps limit pathogen invasion by saturating colonization sites, bolstering barrier immunity to produce antimicrobials, and enhancing the immune response to invading microorganisms. However, when microbial populations are disrupted, previously inaccessible niches become available to invading pathogens, and surfaces where native microbiota once outcompeted disease-causing counterparts are compromised [22].

Viral propensity for Bacterial Adherence. The initial attachment of pathogens to mucosal surfaces is a crucial step in the development of respiratory diseases. Viral infections can alter the defense mechanisms of the host epithelium, potentially making it more susceptible to bacterial colonization. Studies in mice have indicated that this predisposition to bacterial attachment can occur not only during simultaneous viral-bacterial infections but also up to a week after initial viral infection or even after full recovery from influenza. Furthermore, the extent of interaction varies depending on the viral types and bacterial strains involved; only pneumococcal strains with high adhesive capacity were observed to adhere to human respiratory epithelium infected with adenovirus. This effect was primarily seen with adenovirus types known to cause respiratory disease in humans [2, 37].

Epithelial Barrier Disruption. The epithelial layer lining the respiratory tract mucosa serves as the primary defense against bacterial invasion. Any compromise in its barrier function can pave the way for pathogen entry. Viruses typically replicate within host cells, disrupting cellular processes, and leading to cell death either through metabolic exhaustion or direct lysis. Consequently, cell death can cause denudation of the epithelial layer, exposing the underlying basement membrane. *S. pneumoniae* has been observed to strongly bind to fibronectin, a protein prominently exposed at the basement membrane following epithelial denudation. Similarly, *Staphylococcus aureus* and *Moraxella catarrhalis* have demonstrated binding capabilities to extracellular matrix proteins, indicating potential benefits from virus-induced epithelial damage. Moreover, the binding efficiency of bacteria to fibronectin appears to be influenced by the amount and duration of fibronectin exposure. Viral presence can directly induce the upregulation of fibronectin expression, as demonstrated in rhinovirus infections, further facilitating pathobiont binding. Another consequence of epithelial disruption is the loss of epithelial integrity and the decreased inhibition of bacterial translocation. Studies have shown rhinovirus-induced paracellular migration of Haemophilus influenzae as a result of epithelial damage. Additionally, viruses may cause damage to ciliated cells, leading to reduced mucociliary velocity and impaired bacterial clearance [15, 39, 45].

Upregulation of Adhesion Proteins. Viral infections within cells can induce changes in the expression of antimicrobial peptides, such as defensins, which are crucial components of the innate immune system and directly combat pathogenic bacteria in the respiratory mucosa. Additionally, viral infections trigger a pro-inflammatory response leading to the upregulation of adhesion proteins in various cell types, including epithelial cells. These adhesion proteins serve as receptors that enable immune cells to bind to virus-infected cells and combat the viral invader. For instance, upon infection with viruses like respiratory syncytial virus (RSV) or para-influenza virus, eukaryotic cell surface receptors such as intracellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), outer membrane protein P5-homologous fimbriae (P5 fimbriae), carcinoembryonic adhesion molecule-1 (CEACAM-1), and platelet-activating factor receptor (PAFr) are upregulated in different cell types. Several bacterial species can adhere to these adhesion proteins on the host cell surface. For example, rhinovirus-induced upregulation of ICAM-1 facilitates both its own invasion and the adhesion of *Haemophilus influenzae.*

Additionally, certain strains of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* express phosphorylcholine, a natural ligand for PAFr, enabling them to attach to and invade host cells. The increased expression of PAFr in response to viral infection may thus enhance adherence to both *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*. However, influenza viruses may be an exception as *in vitro* studies have shown that they do not alter the expression of several receptors, including ICAM-1, CEACAM, and PAFr. Conflicting data exist regarding the potential role of PAFr in protecting against bacterial superinfection following influenza in mouse models, which may be attributed to strain-related differences and the timing and order of viral and bacterial exposure [21, 31, 37].

Viral Factor Production. In addition to direct interactions, the influenza virus can enhance bacterial adherence through alternative mechanisms, such as the production of neuraminidase (NA). NA, produced by influenza and parainfluenza viruses, facilitates bacterial entry into host cells by cleaving sialic acid residues, thereby exposing bacterial receptors on the surface of the upper respiratory tract. Numerous *in vitro* and animal studies, including those involving NA inhibitors, support this mechanism. While some bacteria, like *Streptococcus pneumoniae*, naturally express NA, their contribution to viral replication appears minimal due to their lower enzymatic activity and stricter binding requirements compared to viral NA. Conversely, respiratory syncytial virus (RSV) does not produce NA. Instead, bacterial adherence to RSV-infected cells is believed to be mediated directly by the expression of RSV-protein G. However, blocking G-protein activity only partially reduces excessive bacterial colonization in RSV-infected cells *in vitro*, suggesting an involvement of other mechanisms during viral-bacterial co-occurrence. These mechanisms may include the upregulation of additional receptors like ICAM-1 and PAFr or other indirect pathways [16, 20, 46].

Dysfunction of Immune System elements. In addition to facilitating the adhesion of neutrophils, monocytes, and other immune cells to virus-infected cells, viral-induced expression of the adhesion molecules may also promote the recruitment and activation of pro-inflammatory immune cells. However, respiratory viruses can directly impact the immune system by impairing neutrophil function, reducing oxidative burst, and accelerating neutrophil apoptosis, thus increasing susceptibility to bacterial superinfection. Certain strains of influenza virus may predispose to superinfection by *Staphylococcus aureus* due to ineffective recruitment and activation of natural killer (NK) cells. Furthermore, viral infection can alter monocyte function, leading to decreased surface expression of CD receptors. Additionally, viral presence influences the production and biological activity of cytokines. For instance, virus-induced interferon (IFN)-α and IFNβ can impair neutrophil responses by reducing the production of neutrophil chemoattractants. IFNγ downregulates macrophage activity, hindering bacterial clearance during the initial phase of infection. Blockage of IFNγ has been shown to decrease susceptibility to secondary bacterial pneumonia in mice. Moreover, the production of tumor necrosis factor (TNF)-α is downregulated during viral infection, potentially increasing susceptibility to secondary bacterial infections. Respiratory viruses can also interfere with Toll-like receptor (TLR) pathways, disrupting proper immune responses. This is exemplified by data from co-infection models with influenza virus and *Streptococcus pneumoniae* in mice, where excessive production of the immunosuppressive interleukin (IL)-10 following co-infection was associated with enhanced bacterial colonization and increased mortality. In recent years, there has been growing recognition of the potential involvement of viral and bacterial-viral interactions in the development of autoimmune diseases. Despite this, understanding the specific microbial contributions to autoimmunity remains a significant challenge, particularly in deciphering the role of commensal bacteria and chronic viruses. Establishing causality in these complex microbe-microbe interactions is further complicated by the intricate interplay between microbes and host genetics. Nevertheless, emerging research has highlighted the impact of microbial interactions on immune tolerance breakdown and autoimmune pathogenesis. Numerous human studies and animal models support the involvement of the microbiota in autoimmune disease development. While substantial progress has been made in elucidating host-pathogen interactions, establishing definitive causality in humans remains challenging. Molecular mimicry, leading to the loss of immune tolerance, has emerged as a key pathogenic mechanism in disease development. Future investigations will undoubtedly delve deeper into the dysregulation of crucial T-cell subsets implicated in autoimmunity, shedding more light on the role of chronic infections and commensal relationships. Advancements in sequencing technology and our understanding of the microbiota-host relationship are poised to drive further progress in unraveling these complex interactions [43].

Unilateral or Bilateral Synergy. While most studies emphasize a unilateral viral predisposition to bacterial colonization, there are indications that preceding bacterial infections may also increase susceptibility to subsequent viral infections. For instance, research has demonstrated that *H. influenzae* can induce the expression of ICAM-1 and TLR-3 on human airway epithelial cells, providing an entry point for rhinovirus. Similarly, human bronchial epithelial cells pre-treated with pneumococcus were found to be more susceptible to human metapneumovirus compared to those treated with other bacterial strains. Moreover, microbial interactions may disrupt the microbiota equilibrium,

creating opportunities for viral invasion and transmission. Recent studies have shown that the transmission of an enteric virus was less successful when the intestinal microbiota of mice were disrupted by antibiotic treatment. Additionally, viruses might exploit their microbial environment to evade immune clearance. However, limited information exists on bacterial predisposition to viral disease, warranting further research to elucidate the extent to which bacteria contribute to viral presence [19, 23, 48].

Viral-bacterial Interaction in Asymptomatic Individuals. Recent research suggests that asymptomatic individuals harboring viruses in the nasopharynx may play a role in bacterial colonization and sustained viral presence. Cohort studies involving asymptomatic children have revealed a positive association between the presence of adenovirus and rhinovirus and the colonization of *M. catarrhalis* and *H. influenzae.* However, the cross-sectional nature of most of these studies complicates the determination of a cause-effect relationship and the direction of these effects. To elucidate the sequence of observed effects, longitudinal studies with comprehensive follow-up during both health and disease states are warranted [4, 53].

Other Ways that Various Viruses Affect Bacteria. (A) When influenza A virus binds to bacteria, it boosts bacterial attachment to eukaryotic cells. (B) Multiple poliovirus virions binding to bacteria leads to increased coinfection and genetic recombination, giving rise to reassortant viruses. (C) Poliovirus binding to Lipopolysaccharides (LPS) enhances its affinity for poliovirus receptor (PVR), and the binding of human norovirus to bacterial histo-blood group antigens promotes infection. (D) Binding of gram-positive and gram-negative bacteria by picornaviruses and mammalian reovirus enhances virion thermostability [30].

Interactions between Herpes Simplex Virus and Bacterial Infections

Porphyromonas gingivalis and Dialister pneumosinte. Recent studies indicate that the progression of aggressive periodontitis, characterized by attachment, bone, and tooth loss, involves interactions among three herpes virus species (Epstein–Barr virus type 1 (EBV-1), human cytomegalovirus (HCMV), and HSV) and common periodontal bacteria, such as *Porphyromonas gingivalis* and *Dialister pneumosintes* [11, 36]. This synergistic relationship between herpesviruses and periodontal bacteria contributes to host immunosuppression, thereby promoting bacterial colonization and enhancing disease severity [18]. Additionally, periodontitis lesions may harbor HSV-1, human herpesvirus 6 (HHV-6), HHV-7, and HHV-8 in individuals infected with human immunodeficiency virus (HIV). Both HSV and HCMV infect various immune cells, inducing inflammation and cytopathic effects within host tissues, thereby compromising the host's defense against periodontal bacteria. Furthermore, viral proteins on infected host cells act as receptors for periodontal bacteria, while destroyed host cells offer attachment sites on exposed surfaces [10]. These lesions progress until rapid loss of connective tissue attachment and alveolar bone loss, hallmark features of periodontitis, occur. Hence, understanding the dynamic interplay between the immune system and virus-bacteria interactions is crucial for elucidating their pathogenic mechanisms [1]. In addition to the mentioned bacteria, herpesvirus-infected periodontitis lesions exhibit increased levels of periodontopathic bacteria such as *Actinobacillus actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis, Dialister pneumosintes, Prevotella intermedia, Prevotella nigrescens,* and *Treponema denticola* [40].

Enterococcus faecium. Enterococcus faecium is a Gram-positive bacterium found in the genus *Enterococcus.* While it can exist as a commensal organism in the gastrointestinal tract of humans and animals, it is also known to cause various infections, including endocarditis, urinary tract infections, prostatitis, intra-abdominal infection, cellulitis, wound infection, bacteremia, and neonatal meningitis [38, 50]. Several components present in the bacterial supernatant may contribute to its observed antiviral activity. One such group of proteinaceous molecules, called bacteriocins, exhibits antiviral properties. For instance, Enterocin CRL35, a bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* CRL35, has been shown to reduce the replication of herpes simplex virus 1 and 2 by approximately 1 log10 *in vitro.* Studies suggest that this bacteriocin inhibits the synthesis of a viral glycoprotein necessary for viral infection and replication. The ability of enteric bacteria to bind to viruses, prevent their adherence to host cells, or inhibit various stages of the viral infection process may hold promise for therapeutic interventions [28, 49].

Streptococcus pneumoniae and Haemophilus influenzae. Studies examining the relationship between herpesvirus infections and bacterial infections, particularly involving *S. pneumoniae* and *H. influenzae*, have indicated a potential association. This association has been observed in cases of herpesvirus isolation occurring prior to (within 30 days), concurrently with (within seven days), and following bacterial infections caused by these pathogens. However, none of these associations have reached statistical significance. While there has been a longstanding clinical belief that pneumococcal pneumonia might trigger latent herpesvirus infections, recent clinical evidence has supported this notion. Nonetheless, it's important to note that fever itself can activate latent herpesvirus infections, and the specific contributions of the organism *(S. pneumoniae)* versus changes in the host environment (fever) are yet to be fully understood [41].

Lactobacillus crispatus. Lactobacillus crispatus is a rod-shaped species commonly found in the vagina and gastrointestinal tract, produces hydrogen per-

oxide, and plays a crucial role in protecting against urogenital pathogens. In a study assessing its potential antiviral activity against HSV-2 infection *in vitro*, *L. crispatus* was found to significantly reduce HSV-2 infectivity in the initial stages on both Vero and HeLa cell lines. Interestingly, the adhesion of lactobacilli to Vero cells was twice as strong as to HeLa cells, resulting in nearly 2.5 times higher protection of Vero cells against the virus. Co-incubation of HSV-2 with bacterial cells prior to virus inoculation also led to a significant decrease in virus titer. *L. crispatus* appears to inhibit viral entry into cells by trapping HSV-2 particles, and the formation of *L. crispatus* microcolonies on the cell surface may block HSV-2 receptors, thereby preventing viral entry into cells during the initial infection stages [29, 32].

Staphylococcus aureus. S. aureus along with herpes simplex virus type-1 (HSV-1) and type-2 (HSV-2), as well as *Candida albicans*, coexist in the oral and genital mucosa, yet their interaction remains poorly understood. Experimental reports indicate a significant decrease in HeLa-associated *S. aureus* levels for both HSV-1- and HSV-2-infected cells compared to virus-free HeLa cell controls. In contrast, HSV-1 and HSV-2 significantly enhance HeLa cell association of *C. albicans* yeast forms and germ tubes approximately two-fold each. This effect of *S. aureus* on germ tube and yeast form adherence to HSV-1- and HSV-2-infected cells is specific to the *Candida* phenotype tested. While HSV acts as an antagonist towards *S. aureus* adherence, it enhances *Candida* adherence. Moreover, the combination of the three pathogens results in *S. aureus* adherence that is either unaffected or partially restored depending on both the herpes viral species and the fungal phenotype present. These studies highlight the ability of HSV to regulate the adherence of multiple opportunistic pathogens within the inter-kingdom microbiome. It suggests that HSV-1 and HSV-2 modulate both fungal and bacterial adherence to cells, likely in part through HSV-mediated alteration of heparan sulfate cell surface display. These findings signal a shift in perspective from the conventional notion that host factors exclusively govern microbiome composition, to one where a lifelong latent viral pathogen could influence the host through specific molecular mechanisms that alter biofilm initiation. This suggests a usurpation of regulatory control over microbiome membership. Further investigations are warranted to delineate the precise role of various HSV viral entry receptors in modulating staphylococcal and candidal adherence. Understanding the initial interactions between HSV-1 and HSV-2, as permanent members of the host microbiome, and chronic colonizers like *S. aureus* and *C. albicans*, opens up new possibilities for biofilm inhibition and eradication. Additionally, in another study, positive cultures of *Staphylococcus aureus* were more frequently reported in burn patients with herpes infection [44].

Acinetobacter baumannii. In one study, HSV activation was linked to prolonged hospital stays and mechanical ventilation. Moreover, HSV activation raised the likelihood of acquiring positive pulmonary cultures for *Acinetobacter baumannii* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in wound cultures. It also heightened the risk of positive cultures for any strain of *A. baumannii*. Severe burn injury patients experiencing HSV activation exhibited prolonged mechanical ventilation and hospitalization periods, along with an elevated susceptibility to infections from opportunistic bacteria [44].

Group B Streptococcus (GBS). Studies indicate GBS colonization as a risk factor for genital tract shedding of HSV-2 in women. While vaginal GBS colonization is common, even modest associations with HSV-2 shedding can result in significant risks for virus transmission. GBS is generally considered as a microorganism that does not provoke a substantial host inflammatory response when present in the vagina. Its detection usually signifies colonization rather than infection, as it's not typically linked to vulvovaginal symptoms. However, pregnant women with heavy vaginal GBS colonization during mid-gestation face a significantly higher risk of delivering a preterm, low-birth-weight infant compared to those with either no or light GBS colonization. This observation suggests that although vaginal GBS colonization may not cause evident vulvovaginal symptoms, it could induce alterations in the vaginal microenvironment, with heavier colonization potentially more prone to trigger such changes [8].

Ventilator-associated pneumonia (VAP). Herpes simplex virus (HSV) shedding in lower respiratory tract (LRT) secretions is not uncommon in cases of VAP, and it correlates with increased severity and a poorer prognosis. In a study involving 177 patients with confirmed bacterial VAP, HSV was detected in 13.4% of cases. Patients with HSV shedding exhibited more severe underlying conditions and experienced worse outcomes. They required more antibiotics for the VAP episode, had a higher incidence of *Clostridium difficile* infection, spent a longer duration on mechanical ventilation, had extended stays in the intensive care unit and hospital, and had higher mortality rates compared to those without HSV shedding [5].

Bacterial urinary tract infections (UTIs). UTIs typically involve bacteria such as *E. coli*, *K. pneumoniae*, and *P. aeruginosa*. The underlying mechanisms involve the release of chemokines and cytokines, including CXCL8, CCL2, interleukins (IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A), and granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) [26]. In certain investigations, pre-infection of HT-1376 cells with HSV-2 led to a tenfold increase in adherence of an *E. coli* strain (U1), isolated from a patient with severe hemorrhagic cystitis. Conversely, in HSV-2 pre-infected cells, the number of *C. trachomatis* inclusion bodies was significantly reduced [44].

Bacterial vaginosis (BV). Diagnosis of BV may correlate with an elevated risk of acquiring HSV-2 infection in the population [8]. HSV-2 infection stands as a significant risk factor for BV. Pharmacological suppression of HSV-2 may potentially decrease both the incidence of BV and BV-associated complications. Observations recognize a heightened risk of HSV-2 acquisition among women with BV, mirroring the association previously noted between BV and HIV. Given the widespread prevalence of BV and the persistent nature of HSV-2 infection, widespread screening and treatment of BV might offer an avenue to mitigate the incidence of HSV-2 infection in women. Further research is necessary to ascertain whether screening and treating BV could diminish susceptibility to HSV-2 acquisition in women [12].

Human immunodeficiency viruses. HSV-2 infection escalates the susceptibility to HIV acquisition. The prevailing HSV-2 infection correlates with a three-fold rise in the risk of HIV acquisition among both genders in the general populace. This suggests that in regions with high HSV-2 prevalence, a significant portion of HIV cases could be attributed to HSV-2. This discovery bears crucial implications for managing individuals diagnosed with HSV-2 infection, especially those who are newly diagnosed. Interventions aimed at HSV-2, such as novel HSV vaccines, hold promise for additional protection against HIV, particularly in areas with high rates of co-infection [14, 24].

HSV prevention

Prophylaxis against Herpes Simplex Virus (HSV) remains a challenge due to the lack of a licensed vaccine for HSV-1 or HSV-2. Previous studies investigating vaccines targeting glycoprotein D (gD2) and/or glycoprotein B (EB1) were discontinued due to inconsistent results. However, understanding the factors associated with HSV protection is crucial for vaccine development. In terms of exposure prophylaxis, symptomatic relief during acute illness is paramount and typically involves antiviral therapy, pain relief, sitz baths, and lesion drying. Effective counseling strategies are essential, particularly for asymptomatic patients identified through serologic testing. Recognition of subtle genital ulcers is emphasized, and various printed materials aid in counseling sessions. Prevention strategies focus on serodiscordant relationships and include measures such as full disclosure, condom use, abstinence during symptomatic periods, and antiviral therapy. Valacyclovir, administered at a dose of 500 mg daily, has been shown to reduce transmission by 50% and serves as a primary prevention method, albeit imperfect. Moreover, considering asymptomatic transmission is crucial, highlighting the necessity for comprehensive prevention strategies [17].

Conclusion

The interplay between viral and bacterial pathogens presents a complex and multifaceted dynamic in human health. From facilitating bacterial colonization to modulating immune responses, viruses can significantly impact the outcome of bacterial infections and vice versa. This intricate relationship extends across various microbial ecosystems, from the respiratory tract to the urogenital system. Moreover, the bilateral interactions between viruses and bacteria underscore the importance of considering both pathogens in clinical diagnosis, treatment, and prevention strategies. Furthermore, the implications of these interactions extend beyond individual infections to influence broader health outcomes. For instance, the HSV virus can have a two-way relationship with different mechanisms on various bacterial infections throughout the body and affect the severity and prognosis of infectious diseases. Overall, understanding the complex interplay between viruses and bacteria offers insights into disease pathogenesis, diagnostic strategies, and therapeutic interventions. Further research in this field holds promise for advancing our understanding of microbial dynamics and improving clinical outcomes in infectious diseases.

Additional information

Conflicts of interest. The author declares that there are no conflicts of interest.

Funding. N/A.

Acknowledgments. N/A.

References

1. Almand E.A., Moore M.D., Jaykus L.A. Virus-Bacteria Interactions: An Emerging Topic in Human Infection. *Viruses, 2017, vol. 9, no. 3: 58. doi: 10.3390/v9030058*
2. Bakaletz L.O. Viral-bacterial co-infections in the respiratory tract. *Curr. Opin. Microbiol., 2017, vol. 35, no. 1, pp. 30–35. doi: 10.1016/j.mib.2016.11.003*
3. Birkmann A., Zimmermann H. HSV antivirals — current and future treatment options. *Curr. Opin. Virol., 2016, vol. 18, no. 1, pp. 9–13. doi: 10.1016/j.coviro.2016.01.013*
4. Bosch A.A., Biesbroek G., Trzcinski K., Sanders E.A., Bogaert D. Viral and bacterial interactions in the upper respiratory tract. *PLoS Pathog., 2013, vol. 9, no. 1: e1003057. doi: 10.1371/journal.ppat.1003057*
5. Bouza E., Giannella M., Torres M.V., Catalán P., Sánchez-Carrillo C., Hernandez R.I., Muñoz P. Herpes simplex virus: a marker of severity in bacterial ventilator-associated pneumonia. *J. Crit. Care, 2011, vol. 26, no. 4: 432.e1–432.e6. doi: 10.1016/j.jcrc.2010.10.008*

6. Casto A.M., Roychoudhury P., Xie H., Selke S., Perchetti G.A., Wofford H., Huang M.L., Verjans G.M.G.M., Gottlieb G.S., Wald A., Jerome K.R., Koelle D.M., Johnston C., Greninger A.L. Large, Stable, Contemporary Interspecies Recombination Events in Circulating Human Herpes Simplex Viruses. *J. Infect. Dis., 2020, vol. 221, no. 8, pp. 1271–1279. doi: 10.1093/infdis/jiz199*
7. Chang J.Y., Balch C., Puccio J., Oh H.S. A narrative review of alternative symptomatic treatments for herpes simplex virus. *Viruses, 2023, vol. 15, no. 6: 1314. doi: 10.3390/v15061314*
8. Cherpes T.L., Melan M.A., Kant J.A., Cosentino L.A., Meyn L.A., Hillier S.L. Genital tract shedding of herpes simplex virus type 2 in women: effects of hormonal contraception, bacterial vaginosis, and vaginal group B Streptococcus colonization. *Clin. Infect. Dis., 2005, vol. 40, no. 10, pp. 1422–1428. doi: 10.1086/429622*
9. Cole S. Herpes Simplex Virus: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Nurs. Clin. North Am., 2020, vol. 55, no. 3, pp. 337–345. doi: 10.1016/j.cnur.2020.05.004*
10. Contreras A., Slots J. Herpesviruses in human periodontal disease. *J. Periodontal Res., 2000, vol. 35, no. 1, pp. 3–16. doi: 10.1034/j.1600-0765.2000.035001003.x*
11. Dai L., DeFee M.R., Cao Y., Wen J., Wen X., Noverr M.C., Qin Z. Lipoteichoic acid (LTA) and lipopolysaccharides (LPS) from periodontal pathogenic bacteria facilitate oncogenic herpesvirus infection within primary oral cells. *PLoS One, 2014, vol. 9, no. 6: e101326. doi: 10.1371/journal.pone.0101326*
12. Esber A., Vicetti Miguel R.D., Cherpes T.L., Klebanoff M.A., Gallo M.F., Turner A.N. Risk of Bacterial Vaginosis Among Women With Herpes Simplex Virus Type 2 Infection: A Systematic Review and Meta-analysis. *J. Infect. Dis., 2015, vol. 212, no. 1, pp. 8–17. doi: 10.1093/infdis/jiv017*
13. Fatahzadeh M., Schwartz R.A. Human herpes simplex virus infections: epidemiology, pathogenesis, symptomatology, diagnosis, and management. *J. Am. Acad. Dermatol., 2007, vol. 57, no. 5, pp. 737–763. doi: 10.1016/j.jaad.2007.06.027*
14. Freeman E.E., Weiss H.A., Glynn J.R., Cross P.L., Whitworth J.A., Hayes R.J. Herpes simplex virus 2 infection increases HIV acquisition in men and women: systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *AIDS, 2006, vol. 20, no. 1, pp. 73–83. doi: 10.1097/01.aids.0000198081.09337.a7*
15. Groeger S.E., Meyle J. Epithelial barrier and oral bacterial infection. *Periodontol. 2000, 2015, vol. 69, no. 1, pp. 46–67. doi: 10.1111/prd.12094*
16. Hedlund M., Aschenbrenner L.M., Jensen K., Larson J.L., Fang F. Sialidase-based anti-influenza virus therapy protects against secondary pneumococcal infection. *J. Infect. Dis., 2010, vol. 201, no. 7, pp. 1007–1015. doi: 10.1086/651170*
17. Johnston C., Gottlieb S.L., Wald A. Status of vaccine research and development of vaccines for herpes simplex virus. *Vaccine, 2016, vol. 34, no. 26, pp. 2948–2952. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.12.076*
18. Kamma J.J., Contreras A., Slots J. Herpes viruses and periodontopathic bacteria in early-onset periodontitis. *J. Clin. Periodontol., 2001, vol. 28, no. 9, pp. 879–885. doi: 10.1034/j.1600-051x.2001.028009879.x*
19. Kane M., Case L.K., Kopaskie K., Kozlova A., MacDearmid C., Chervonsky A.V., Golovkina T.V. Successful transmission of a retrovirus depends on the commensal microbiota. *Science, 2011, vol. 334, no. 6053, pp. 245–249. doi: 10.1126/science.1210718*
20. Kash J.C., Taubenberger J.K. The role of viral, host, and secondary bacterial factors in influenza pathogenesis. *Am. J. Pathol., 2015, vol. 185, no. 6, pp. 1528–1536. doi: 10.1016/j.ajpath.2014.08.030*
21. Kc R., Shukla S.D., Walters E.H., O'Toole R.F. Temporal upregulation of host surface receptors provides a window of opportunity for bacterial adhesion and disease. *Microbiology (Reading), 2017, vol. 163, no. 4, pp. 421–430. doi: 10.1099/mic.0.000434*
22. Khosravi A., Mazmanian S.K. Disruption of the gut microbiome as a risk factor for microbial infections. *Curr. Opin. Microbiol., 2013, vol. 16, no. 2, pp. 221–227. doi: 10.1016/j.mib.2013.03.009*
23. Kuss S.K., Best G.T., Etheredge C.A., Pruijssers A.J., Frierson J.M., Hooper L.V., Dermody T.S., Pfeiffer J.K. Intestinal microbiota promote enteric virus replication and systemic pathogenesis. *Science, 2011, vol. 334, no. 6053, pp. 249–252. doi: 10.1126/science.1211057*
24. Looker K.J., Elmes J.A.R., Gottlieb S.L., Schiffer J.T., Vickerman P., Turner K.M.E., Boily M.C. Effect of HSV-2 infection on subsequent HIV acquisition: an updated systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect. Dis., 2017, vol. 17, no. 12, pp. 1303–1316. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30405-X*
25. Lozupone C.A., Stombaugh J.I., Gordon J.I., Jansson J.K., Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature, 2012, vol. 489, no. 7415, pp. 220–230. doi: 10.1038/nature11550*
26. Manna S., Baindara P., Mandal S.M. Molecular pathogenesis of secondary bacterial infection associated to viral infections including SARS-CoV-2. *J. Infect. Public Health, 2020, vol. 13, no. 10, pp. 1397–1404. doi: 10.1016/j.jiph.2020.07.003*
27. Meier A.F., Tobler K., Michaelsen K., Vogt B., Henckaerts E., Fraefel C. Herpes Simplex Virus 1 Coinfection Modifies Adeno-associated Virus Genome End Recombination. *J. Virol., 2021, vol. 95, no. 13: e0048621. doi: 10.1128/JVI.00486-21*
28. Moore M.D., Jaykus L.A. Virus-Bacteria Interactions: Implications and Potential for the Applied and Agricultural Sciences. *Viruses, 2018, vol. 10, no. 2: 61. doi: 10.3390/v10020061*
29. Mousavi E., Makvandi M., Teimoori A., Ataei A., Ghafari S., Samarbaf-Zadeh A. Antiviral effects of *Lactobacillus crispatus* against HSV-2 in mammalian cell lines. *J. Chin. Med. Assoc., 2018, vol. 81, no. 3, pp. 262–267. doi: 10.1016/j.jcma.2017.07.010*
30. Neu U., Mainou B.A. Virus interactions with bacteria: Partners in the infectious dance. *PLoS Pathog., 2020, vol. 16, no. 2: e1008234. doi: 10.1371/journal.ppat.1008234*
31. O'Toole R.F., Shukla S.D., Walters E.H. Does upregulated host cell receptor expression provide a link between bacterial adhesion and chronic respiratory disease? *J. Transl. Med., 2016, vol. 14, no. 1: 304. doi: 10.1186/s12967-016-1063-x*
32. Oliveira de Almeida M., Carvalho R., Figueira Aburjaile F., Malcher Miranda F., Canário Cerqueira J., Brenig B., Ghosh P., Ramos R., Kato R.B., de Castro Soares S., Silva A., Azevedo V., Canário Viana M.V. Characterization of the first vaginal *Lactobacillus crispatus* genomes isolated in Brazil. *PeerJ, 2021, vol. 9: e11079. doi: 10.7717/peerj.11079*
33. Petti S., Lodi G. The controversial natural history of oral herpes simplex virus type 1 infection. *Oral Dis., 2019, vol. 25, no. 8, pp. 1850–1865. doi: 10.1111/odi.13234*

34. Rice S.A. Release of HSV-1 Cell-Free Virions: Mechanisms, Regulation, and Likely Role in Human-Human Transmission. *Viruses, 2021, vol. 13, no. 12: 2395. doi: 10.3390/v13122395*
35. Robledo Gonzalez L., Tat R.P., Greaves J.C., Robinson C.M. Viral-Bacterial Interactions That Impact Viral Thermostability and Transmission. *Viruses, 2023, vol. 15, no. 12: 2415. doi: 10.3390/v15122415*
36. Rodrigues P.M., Teixeira A.L., Kustner E.C., Medeiros R. Are herpes virus associated to aggressive periodontitis? A review of literature. *J. Oral Maxillofac. Pathol., 2015, vol. 19, no. 3, pp. 348–355. doi: 10.4103/0973-029X.174621*
37. Rossi G.A., Fanous H., Colin A.A. Viral strategies predisposing to respiratory bacterial superinfections. *Pediatr. Pulmonol., 2020, vol. 55, no. 4, pp. 1061–1073. doi: 10.1002/ppul.24699*
38. Said M.S., Tirthani E., Lesho E. Enterococcus Infections. *StatPearls [Internet], 2024. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33620836*
39. Sajjan U., Wang Q., Zhao Y., Gruenert D.C., Hershenson M.B. Rhinovirus disrupts the barrier function of polarized airway epithelial cells. *Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2008, vol. 178, no. 12, pp. 1271–1281. doi: 10.1164/rccm.200801-136OC*
40. Slots J. Interactions between Herpesviruses and Bacteria in Human Periodontal Disease. *In: Brogden K.A., Guthmiller J.M. (eds.) Polymicrobial Diseases. Washington (DC): ASM Press, 2002, Chapter 16, год обращения: 2025, ссылка: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2484/*
41. Smith C.B., Golden C., Klauber M.R., Kanner R., Renzetti A. Interactions between viruses and bacteria in patients with chronic bronchitis. *J. Infect. Dis., 1976, vol. 134, no. 6, pp. 552–561. doi: 10.1093/infdis/134.6.552*
42. Sommer F., Bäckhed F. The gut microbiota — masters of host development and physiology. *Nat. Rev. Microbiol., 2013, vol. 11, no. 4, pp. 227–238. doi: 10.1038/nrmicro2974*
43. Steed A.L., Stappenbeck T.S. Role of viruses and bacteria-virus interactions in autoimmunity. *Curr. Opin. Immunol., 2014, vol. 31, no. 1, pp. 102–107. doi: 10.1016/j.coi.2014.10.006*
44. Superti F., Longhi C., Di Biase A.M., Tinari A., Marchetti M., Pisani S., Gallinelli C., Chiarini F., Seganti L. Herpes simplex virus type 2 modulates the susceptibility of human bladder cells to uropathogenic bacteria. *Med. Microbiol. Immunol., 2001, vol. 189, no. 4, pp. 201–208. doi: 10.1007/s004300100067*
45. Tugizov S. Virus-associated disruption of mucosal epithelial tight junctions and its role in viral transmission and spread. *Tissue Barriers, 2021, vol. 9, no. 4: 1943274. doi: 10.1080/21688370.2021.1943274*
46. Van Der Sluijs K.F., van der Poll T., Lutter R., Juffermans N.P., Schultz M.J. Bench-to-bedside review: bacterial pneumonia with influenza—pathogenesis and clinical implications. *Crit. Care, 2010, vol. 14, no. 2: 219. doi: 10.1186/cc8893*
47. Van Wagoner N., Qushair F., Johnston C. Genital herpes infection: progress and problems. *Infect. Dis. Clin. North Am., 2023, vol. 37, no. 2, pp. 351–367. doi: 10.1016/j.idc.2023.02.011*
48. Verkaik N.J., Nguyen D.T., de Vogel C.P., Moll H.A., Verbrugh H.A., Jaddoe V.W., Hofman A., van Wamel W.J., van den Hoogen B.G., Buijs-Offerman R.M., Ludlow M., de Witte L., Osterhaus A.D., van Belkum A., de Swart R.L. Streptococcus pneumoniae exposure is associated with human metapneumovirus seroconversion and increased susceptibility to in vitro HMPV infection. *Clin. Microbiol. Infect., 2011, vol. 17, no. 12, pp. 1840–1844. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03480.x*
49. Wachsman M.B., Castilla V., de Ruiz Holgado A.P., de Torres R.A., Sesma F., Coto C.E. Enterocin CRL35 inhibits late stages of HSV-1 and HSV-2 replication *in vitro. Antiviral Res., 2003, vol. 58, no. 1, pp. 17–24. doi: 10.1016/s0166-3542(02)00099-2*
50. Wei Y., Palacios Araya D., Palmer K.L. Enterococcus faecium: evolution, adaptation, pathogenesis and emerging therapeutics. *Nat. Rev. Microbiol., 2024, vol. 22, no. 11, pp. 705–721. doi: 10.1038/s41579-024-01058-6*
51. Wertheim J.O., Hostager R., Ryu D., Merkel K., Angedakin S., Arandjelovic M., Ayimisin E.A., Babweteera F., Bessone M., Brun-Jeffery K.J., Dieguez P., Eckardt W., Fruth B., Herbinger I., Jones S., Kuehl H., Langergraber K.E., Lee K., Madinda N.F., Metzger S., Ormsby L.J., Robbins M.M., Sommer V., Stoinski T., Wessling E.G., Wittig R.M., Yuh Y.G., Leendertz F.H., Calvignac-Spencer S. Discovery of novel herpes simplexviruses in wild gorillas, bonobos, and chimpanzees supports zoonotic origin of HSV-2. *Mol. Biol. Evol., 2021, vol. 38, no. 7, pp. 2818–2830. doi: 10.1093/molbev/msab072*
52. Whitley R.J. Herpes simplex virus infection. *Semin. Pediatr. Infect. Dis., 2002, vol. 13, no. 1, pp. 6–11. doi: 10.1053/spid.2002.29752*
53. Wiertsema S.P., Chidlow G.R., Kirkham L.A., Corscadden K.J., Mowe E.N., Vijayasekaran S., Coates H.L., Harnett G.B., Richmond P.C. High detection rates of nucleic acids of a wide range of respiratory viruses in the nasopharynx and the middle ear of children with a history of recurrent acute otitis media. *J. Med. Virol., 2011, vol. 83, no. 11, pp. 2008–2017. doi: 10.1002/jmv.22221*
54. Zhu S., Viejo-Borbolla A. Pathogenesis and virulence of herpes simplex virus. *Virulence, 2021, vol. 12, no. 1, pp. 2670–2702. doi: 10.1080/21505594.2021.1982374*

Авторы:

Калантар Нейестанаки М.Х., врач, Медицинский факультет, Аракский университет медицинских наук, г. Арак, Иран;
Мехдипур А., доцент, специалист по детской стоматологии, Центр клеточных и молекулярных исследований, Медицинский университет города Кум, г. Кум, Иран.

Authors:

Kalantar Neyestanaki M.H., Medical Doctor, Department of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran;
Mehdipour A., Associate Professor, Pediatric Dentistry Specialist, Cellular and Molecular Research Center, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.

Поступила в редакцию 30.07.2024
Отправлена на доработку 18.02.2025
Принята к печати 25.03.2025

Received 30.07.2024
Revision received 18.02.2025
Accepted 25.03.2025

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 476–488

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 476–488

ПЕРВЫЕ ДАННЫЕ О МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОМ РАЗНООБРАЗИИ ВГЧ6В И ЕГО ВЛИЯНИИ НА КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЕ ТЕЧЕНИЕ МОНОНУКЛЕОЗОПОДОБНОГО СИНДРОМА У ДЕТЕЙ

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

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

Резюме. Вирус герпеса человека 6В (ВГЧ6В) — убиквитарно распространенный возбудитель мононуклеозоподобного синдрома (МПС), а также других заболеваний различной тяжести. Разнообразие форм ВГЧ6В-инфекции может быть обусловлено генетическим полиморфизмом вируса. Вопрос молекулярно-генетического разнообразия циркулирующих вариантов ВГЧ6В, а также его влияния на клинико-лабораторное течение ВГЧ6В-инфекции не изучен. Целью работы стало изучение внутривидового разнообразия ВГЧ6В, циркулирующего среди детей Нижегородского региона, и его влияния на клинико-лабораторное течение МПС. *Материалы и методы.* Образцы ДНК лейкоцитов крови и слюны здоровых детей, а также детей с ВГЧ6В-инфекцией исследовали на наличие ДНК ВГЧ6В. Типирование вируса осуществляли с использованием авторской внутривидовой классификации ВГЧ6В на основании наличия сигнатурных нуклеотидных замен в последовательности фрагмента гена U90. Связь геновариантa ВГЧ6В с клиническими и лабораторными характеристиками МПС оценивали с использованием многомерных и одномерных методов статистики. *Результаты.* На территории Нижегородского региона среди детей показана циркуляция четырех геновариантов ВГЧ6В: ВГЧ6В/GV2e, ВГЧ6В/GV2b (доминирующие геноварианты), ВГЧ6В/GV1a и ВГЧ6В/GV2a (минорные геноварианты). У детей с МПС, инфицированных геновариантом ВГЧ6В/GV2e, чаще наблюдали лабораторные признаки цитолиза, а также повышение содержания лимфоцитов в крови. У детей с МПС, инфицированных геновариантом ВГЧ6В/GV2b, чаще фиксировали увеличение содержания зрелых нейтрофилов. Повышение содержания ДНК ВГЧ6В в лейкоцитах крови сопровождалось усилением симптомов интоксикации. Коинфицирование вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ) приводило к усилению симптомов острого тонзиллита, гепатоспленомегалии и лимфаденопатии. У пациентов с ВЭБ-коинфекцией с большей частотой наблюдалось повышение содержания АЛАТ и лимфоцитов крови на фоне снижения содержания зрелых нейтрофилов. У детей с МПС ВЭБ-коинфекция обуславливала снижение вирусной нагрузки ВГЧ6В в лейкоцитах крови (при содержании ДНК ВГЧ6В 10 и более копий/10^5 клеток) и снижение частоты выявления ДНК ВГЧ6В в слюне (при содержании ДНК ВГЧ6В менее 10 копий/10^5 лейкоцитов). Полученные результаты свидетель-

Адрес для переписки:
Филатова Елена Николаевна
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.
E-mail: el.filatova83@mail.ru

Contacts:
Elena N. Filatova
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.
E-mail: el.filatova83@mail.ru

Для цитирования:
Филатова Е.Н., Сахарнов Н.А., Суслов Н.А., Попкова М.И., Уткин О.В. Первые данные о молекулярно-генетическом разнообразии ВГЧ6В и его влиянии на клинико-лабораторное течение мононуклеозоподобного синдрома у детей // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 476–488. doi: 10.15789/2220-7619-FDO-17827

Citation:
Filatova E.N., Sakharnov N.A., Suslov N.A., Popkova M.I., Utkin O.V. First data on the molecular genetic diversity of HHV6B and its impact on the clinical and laboratory course of mononucleosis-like syndrome in children // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 476–488. doi: 10.15789/2220-7619-FDO-17827

© Филатова Е.Н. и соавт., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-FDO-17827

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

ствуют о влиянии генетического полиморфизма ВГЧ6В на клинико-лабораторные характеристики МПС, а также демонстрируют схожий характер симптомов заболевания, обусловленных как геновариантом ВГЧ6В/GV2e, так и ВЭБ.

Ключевые слова: *ВГЧ6В, молекулярно-генетическое разнообразие, геновариант, мононуклеозоподобный синдром, инфекционный мононуклеоз, клинические симптомы, лабораторные показатели.*

FIRST DATA ON THE MOLECULAR GENETIC DIVERSITY OF HHV6B AND ITS IMPACT ON THE CLINICAL AND LABORATORY COURSE OF MONONUCLEOSIS-LIKE SYNDROME IN CHILDREN

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

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

Abstract. Human herpes virus 6B (HHV6B) is a ubiquitous causative agent of mononucleosis-like syndrome (MLS) and other diseases. The diversity of HHV6B infection may be due to virus genetic polymorphism. Molecular genetic diversity of circulating HHV6B, as well as its impact on the clinical and laboratory features of HHV6B infection have not been studied. The aim of the work was to study the intraspecific diversity of HHV6B circulating among children in Nizhny Novgorod (Russia) region, and to investigate its effect on MLS clinical and laboratory features. Blood leukocytes and saliva DNA samples from healthy children and children with HHV6B infection were analyzed for HHV6B DNA detection. Original intraspecific HHV6B classification based on detecting signature nucleotide substitutions in the sequence of the U90 gene fragment, was used for virus typing. A relationship between HHV6B genovariant and clinical/laboratory MLS characteristics was studied using multivariate statistical methods. Circulation of four HHV6B genovariants was shown among children in Nizhny Novgorod region: HHV6B/GV2e, HHV6B/GV2b (dominant genovariants), HHV6B/GV1a and HHV6B/GV2a (minor genovariants). Children with MLS infected with HHV6B/GV2e genovariant were more likely to have laboratory signs of cytolysis and increased peripheral blood lymphocyte count. Children with MLS infected with the HHV6B/GV2b genovariant were more likely to have higher mature neutrophil level. An increase of HHV6B viral load in leukocytes was accompanied by aggravated intoxication symptoms. Co-infection with the Epstein–Barr virus (EBV) led to more severe symptoms of acute tonsillitis, hepatosplenomegaly, and lymphadenopathy. Patients with EBV were more likely to have higher ALAT and lymphocyte level along with decreased mature neutrophil count. In children with MLS, EBV coinfection caused smaller HHV6B viral load in blood leukocytes (in children with HHV6B DNA 10 or more copies/10^5 cells) and lower HHV6B DNA detection frequency in saliva (in children with HHV6B DNA less than 10 copies/10^5 leukocytes). The results show the influence of genetic HHV6B polymorphism upon the clinical and laboratory features of MLS in children, and also demonstrate that HHV6B/GV2e and EBV cause similar disease symptoms.

Key words: *HHV6B, molecular genetic diversity, genovariant, mononucleosis-like syndrome, infectious mononucleosis, clinical symptoms, laboratory parameters.*

Введение

Roseolovirus humanbeta6b (бета-герпесвирус человека 6В, вирус герпеса человека 6В, ВГЧ6В) — повсеместно распространенный представитель семейства *Orthoherpesviridae*, ассоциированный с широким спектром заболеваний человека. Первичное инфицирование ВГЧ6В, как правило, происходит в раннем детском возрасте и протекает с развитием внезапной детской экзантемы, лихорадки неясного генеза, мононуклеозоподобного синдрома (МПС) или бессимптомно. Вирус сохраняется в организме пожизненно. Осложнения и реактивация ВГЧ6В-инфекции могут быть сопряжены с тяжелыми поражениями органов центральной нервной и сердечно-сосудистой систем, а также, возможно, онкологическими заболеваниями [5, 17]. Высокая (более 90%) пораженность населения данным вирусом обуславливает значительный экономический ущерб от ассоциированных с ним заболеваний и обосновывает необходимость совершенствования методов надзора за ВГЧ6В-инфекцией.

В геноме ВГЧ6В выявлены высокодивергентные области, включающие гены U90 (немедленно ранний ген, регулирующий экспрессию интерферон-стимулированных генов [16]), гены гликопротеинов U39 и U48 (обуславливают клеточный тропизм вируса [11, 23]), ген U83 (кодирует лиганд рецепторов бета-хемокинов иммунокомпетентных клеток [14]) и другие. Полиморфизм генетических вариантов ВГЧ6В может обуславливать разнообразие форм проявления ВГЧ6В-инфекции. Однако пейзаж вариантов ВГЧ6В, циркулирующих в России и других регионах мира, не охарактеризован, а их влияние на клинико-лабораторное течение ВГЧ6В-инфекции не изучено.

Анализ клинического течения ВГЧ6В-инфекции затруднен вследствие полиэтиологичной природы ассоциированных с ней заболеваний. МПС — распространенная форма ВГЧ6В-инфекции. Клинические проявления

МПС включают лихорадку, интоксикацию, острый тонзиллит, лимфаденопатию, гепатоспленомегалию, синдром цитолиза, синдром экзантемы, а также изменения лейкоцитарной формулы. Клиническая картина МПС схожа с симптомами инфекционного мононуклеоза (ИМ) — заболевания, вызываемого вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ). В России смешанная ВГЧ6(+)ВЭБ(+)-инфекция составляет от 39 до 48% случаев ИМ [1, 8]. Дифференцировать симптомы, обусловленные двумя вирусами, представляется возможным не всегда.

Сведения о клинико-лабораторном течение ИМ разной этиологии, представленные в литературе, противоречивы. Многие исследователи указывают на то, что лимфаденопатия, гепатоспленомегалия, симптомы острого тонзиллита и синдром цитолиза характерны для ВЭБ-опосредованного ИМ [1, 8]. Другие отмечают, что лимфопролиферативный синдром в виде увеличения небных миндали и периферических лимфоузлов также встречается при ВГЧ6-инфекции [3]. Отмечают характерные различия изменений лейкоцитарной формулы: лимфоцитоз при ВЭБ-ИМ и нейтрофилию при ВГЧ6-опосредованном МПС [1, 2, 8]. Таким образом, клинические и лабораторные проявления ВГЧ6В-инфекции представляют собой результат кумулятивного действия многих факторов, исследование которых в перспективе позволит повысить достоверность диагностики и улучшить качество оказания медицинской помощи пациентам с ВГЧ6В-опосредованными заболеваниями.

Целью данной работы стало изучение молекулярно-генетического разнообразия ВГЧ6В и его взаимосвязи с клинико-лабораторным течением МПС у детей Нижегородского региона.

Материалы и методы

Характеристика групп исследования. Были исследованы образцы лейкоцитов периферической крови и нестимулированной смешанной слюны 118 детей, находившихся на лечении в ГБУЗ НО «Детская инфекционная больница № 8 г. Нижнего Новгорода» и ГБУЗ НО «Инфекционная клиническая больница № 23 г. Нижнего Новгорода» с симптомами МПС, внезапной детской экзантемы, тонзиллита, тонзиллофарингита. Этиологическую расшифровку заболевания проводили на основании результатов исследований методами ИФА и ПЦР. Серологические исследования были выполнены на базе клинико-диагностических лабораторий медицинских организаций. Выявляли специфические антитела класса IgM и IgG (с определением авидности) к ВГЧ6, цитомегаловирусу (ЦМВ) и капсидному антигену ВЭБ. Использовали коммерческие тест-системы производства «Вектор-Бест» (Россия) и «Диагностические системы» (Россия). Молекулярно-генетические исследования выполняли на базе ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора. ПЦР с количественным определением содержания ДНК ВГЧ6, ЦМВ и ВЭБ выполняли с использованием набора «AmpliSense» производства ФБУН ЦНИИЭ (Россия).

В исследовании участвовали дети с лабораторными признаками ВГЧ6В-инфекции. Пациентов с лабораторными признаками ЦМВ-инфекции из исследования исключали. В зависимости от содержания ДНК ВГЧ6В и обнаружения ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови, а также клинических симптомов пациенты были разделены на 5 групп сравнения: 1) ВГЧ6В(вн)ВЭБ(–)МПС — пациенты с симптомами МПС, высокой вирусной нагрузкой ВГЧ6В более или равно 10 копий/10^5 клеток, не инфицированные ВЭБ (здесь и далее в скобках указано количество детей; процентная доля детей разного пола; медиана, 1-й и 3-й квартили возраста: n = 16; м 87±8%, ж 13±8%; 2 [1; 3] лет); 2) ВГЧ6В(вн)ВЭБ(+)МПС — пациенты с симптомами МПС, высокой вирусной нагрузкой ВГЧ6В более или равно 10 копий/10^5 клеток, инфицированные ВЭБ (n = 15; м 60±13%, ж 40±13%; 2 [1; 2] лет); 3) ВГЧ6В(нн)ВЭБ(–)МПС — пациенты с симптомами МПС, низкой вирусной нагрузкой ВГЧ6В менее 10 копий/10^5 клеток, не инфицированные ВЭБ (n = 24; м 50±10%, ж 50±10%; 5 [3; 9] лет); 4) ВГЧ6В(нн)ВЭБ(+)МПС — пациенты с симптомами МПС, низкой вирусной нагрузкой ВГЧ6В менее 10 копий/10^5 клеток, инфицированные ВЭБ (n = 67; м 59±6%, ж 41±6%; 6 [3; 10] лет); 5) ВГЧ6В(нн)ВЭБ(–)неМПС — пациенты с внезапной экзантемой, тонзиллитом, тонзиллофарингитом, без симптомов МПС, с низкой вирусной нагрузкой ВГЧ6В менее 10 копий/10^5 клеток, не инфицированные ВЭБ (n = 14; м 36±11%, ж 64±11%; 9 [4; 14] лет). Контрольную группу составили практически здоровые дети без клинических и лабораторных признаков ВГЧ6В- и ВЭБ-инфекции, проходившие диспансеризацию в клиниках «НИКА СПРИНГ НН» и «Тонус Кроха и семейная Стоматология» г. Нижнего Новгорода (n = 71; м 56±6%, ж 44±6%; 6 [4; 8] лет).

Типирование последовательностей ВГЧ6В. Из образцов лейкоцитов крови и слюны выделяли тотальную нуклеиновую кислоту с использованием комплекта реагентов «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия). Детекцию ВГЧ6В и наработку фрагмента U90B(part431) осуществляли с использованием разработанного нами лабораторного варианта тест-системы в формате ПЦР (патент РФ № RU2805956C1 от 20.02.2023). Процедуры выполняли соглас-

но оптимизированному ранее протоколу [4, 6]. Полученные ампликоны выделяли из агарозного геля и очищали с использованием набора реагентов «ФбиоГель» (Фрактал Био, Россия), внесение флуоресцентной метки выполняли с применением набора реагентов «Big Dye Terminator v.3.1 Cycle Sequencing Kit» (Applied Biosystems, США) в соответствии с указаниями производителя. Очистку меченой ДНК выполняли с применением 3М раствора ацетата натрия, очищенную ДНК растворяли в 20 мкл HiDi формамида. Секвенирование по методу Сэнгера выполняли на аппарате «AB-3500 genetic analyzer» (Applied Biosystems, США) с оригинальным программным обеспечением 3500 Data Collection Software Version 1.0.

Выполняли множественное выравнивание расшифрованных последовательностей фрагмента U90B(part431) и референсных последовательностей ВГЧ6В с применением алгоритма ClustalW. Типирование ВГЧ6В выполняли на основании нуклеотидных замен в сигнатурных позициях согласно разработанной нами ранее классификации (табл.).

Анализ взаимосвязи геновариантa ВГЧ6В и клинико-лабораторных характеристик МПС. Анализ проводили среди пациентов с симптомами МПС (группы ВГЧ6В(вн)ВЭБ(–)МПС, ВГЧ6В(вн)ВЭБ(+)МПС, ВГЧ6В(нн)ВЭБ(–)МПС, ВГЧ6В(нн)ВЭБ(+)МПС), инфицированных мажорными геновариантами вируса (ВГЧ6В/GV2b и ВГЧ6В/Gv2e). Изучали данные медицинских карт стационарного больного, а именно выраженность клинических признаков и результаты общеклинического и стандартного биохимического анализа крови. Для выполнения множественного факторного анализа клинико-лабораторные признаки объединили в группы.

Группы клинических симптомов составили: синдром интоксикации (вялость, беспокойство, снижение аппетита, нарушение сна, приглушенные тоны сердца, тахикардия и рвота), лимфаденопатия (увеличение лимфатических узлов), гепатоспленомегалия (увеличение печени, увеличение селезенки), острый тонзиллит (увеличение миндалин, гиперемия, налет, отек, заложенность носа, храп) и появление сыпи, не связанной с приемом антибиотиков. Проявления клинических симптомов выражали в баллах от 0 до 2, где 0 — признак не выражен, 1 — признак выражен, 2 — признак сильно выражен.

К группам лабораторных признаков отнесли: лейкоцитарные показатели (абсолютное содержание лейкоцитов, относительное содержание палочкоядерных нейтрофилов, сегментоядерных нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов, лимфоцитов, ядерно-интоксикационный индекс), гематологические показатели (абсолютное содержание эритроцитов, тромбоцитов, гемоглобина, СОЭ), показатели синдрома цитолиза (содержание АСАТ, АЛАТ, общего, прямого и непрямого билирубина) и биохимические показатели (содержание общего белка и глюкозы) периферической крови. Лабораторные признаки ранжировали относительно половой и возрастной нормы с получением трех возможных значений: –1 — ниже нормы, 0 — соответствует норме, 1 — превышает норму.

Таблица. Перечень сигнатурных нуклеотидных замен, использованных для типирования нижегородских изолятов ВГЧ6В

Table. List of signature nucleotide substitutions used for typing of Nizhny Novgorod isolates of HHV6B

Геновариант Genovariant	**Референсная последовательность (NCBI ID)** Reference sequence (NCBI ID)	**Регион преимущественного распространения*** Region of predominant distribution*	**Сигнатурные нуклеотидные замены в позиции**, н.о.** Signature nucleotide patterns in positions**, n.b.				
			136505	**136507**	**136522**	**136524**	**136568**
ВГЧ6В/GV0 HHV6B/GV0	AF557706.1	**Африка** Africa	G	C	A	A	A
ВГЧ6В/GV1a HHV6B/GV1a	MF511175.2	**Не определен** Not defined	C	T	G	A	A
ВГЧ6В/GV2a HHV6B/GV2a	AY245913.1	**Азия** Asia	G	T	A	A	C
ВГЧ6В/GV2b HHV6B/GV2b	KY274506.2	**Западная Европа, Северная Америка** West Europe, North America	G	T	A	G	C
ВГЧ6В/GV2e HHV6B/GV2e	PP922035	**Нижегородская область, Россия** Nizhny Novgorod region, Russia	G	T	A	C	C

Примечание. * — Сведения о распространенности геновариантов ВГЧ6В получены при анализе метаданных последовательностей, размещенных в банке данных NCBI, а также о результатах собственных исследований; ** — координаты указаны относительно последовательности ВГЧ6В (NCBI ID AF157706).

Note. * — Information on the prevalence of HHV6B genovariants was obtained by analyzing the metadata of sequences posted in the NCBi data bank, as well as from the results of our own research; ** — coordinates are set according to reference sequence HHV6B (NCBI ID AF157706).

С применением метода множественного факторного анализа редуцировали совокупность клинико-лабораторных признаков пациентов до точек в двухмерном пространстве первых главных компонент. Определяли факторы, способствующие разделению точек в пространстве и группы симптомов, вносящие значительный вклад в это разделение. Под значительным подразумевали вклад, превышающий предполагаемое усредненное значение вклада каждой из 9 групп симптомов (11,1%). Отличия в значениях симптомов и признаков выделенных групп далее тестировали с применением статистических методов.

Статистический анализ. Нормальность распределения оценивали с применением критерия Шапиро–Уилка. Различия (Δ) значений количественных переменных в группах сравнения анализировали с применением критерия Манна–Уитни. Наличие корреляции между количественными переменными тестировали путем расчета коэффициента корреляции Спирмена. Различия частот распределения качественных переменных в пределах одной группы оценивали с применением критерия хи-квадрат Пирсона. Различия частот качественных переменных в двух группах сравнения анализировали с применением точного критерия Фишера. Расчет отношения шансов (ОШ) выполняли с применением метода оценки максимального правдоподобия Уалда. Доверительный интервал (ДИ) составил 95%.

Полученные в сериях расчетов уровни статистической значимости «p» корректировали с применением поправки Бенджамини–Хохберга. Выявленные различия считали статистически значимыми при значениях скорректированного $p < 0,05$ и значениях доверительного интервала, соответствующих величинам биологически значимых различий. Для показателя вирусной нагрузки ВГЧ6 в лейкоцитах крови различия считали статистически значимыми при разнице более 1 копии/10^5 клеток, в слюне — более 1000 копий/мл.

Использованное программное обеспечение. Для визуализации нуклеотидных последовательностей использовали утилиту Unipro UGENE 49.1. Алгоритм анализа последовательностей, а также математического анализа был написан на языке R 4.0.3 с использованием пакетов: ape 5.7–1, Biostrings 3.1, DescTools 0.99.54, epitools 0.5–10.1, FactoMineR 2.11, msa 1.32.0, seqinr 4.2–36, stats 4.3.1. Иллюстрации выполнены с применением пакетов factoextra 1.0.7, ggplot2 3.5.1 и ggpubr 0.6.0.

Соблюдение этических требований. Информированное согласие родителей или опекунов на проведение исследовательской работы в соответствии с положениями Хельсинкской декларации (2013) было получено лечащими врачами медицинской организации. Работа получила одобрение на заседании локального этического комитета ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной (протокол № 3 от 11.11.2021 г.).

Результаты

Молекулярно-генетическое разнообразие ВГЧ6В среди детей Нижегородского региона. Всего было исследовано 205 образцов лейкоцитов периферической крови и 166 образцов слюны. ДНК ВГЧ6 обнаруживалась в 78% (161 из 205 ед.) образцов лейкоцитов и 82% (136 из 166 ед.) образцов слюны. Во всех образцах, содержащих ДНК ВГЧ6, детектировали только ВГЧ6В. Установить геновариант ВГЧ6В удалось в 92% (148 из 161 ед.) и 88% (119 из 136 ед.) образцов лейкоцитов и слюны, содержащих ДНК вируса.

Частота выявления ДНК ВГЧ6В в лейкоцитах крови в группах сравнения варьировала от 70 до 100%, статистически значимых различий показателя установлено не было (рис. 1). В образцах слюны частота выявления ДНК вируса составила от 60 до 100%. Показано снижение частоты обнаружения ДНК ВГЧ6В в слюне у детей с низкой вирусной нагрузкой при коинфицировании ВЭБ. В группе ВГЧ6В(нн)ВЭБ(+)МПС шанс выявления ДНК ВГЧ6В в слюне был ниже в 1,5 раза (ДИ = 1,2–1,8, p = 0,010) по сравнению с детьми из группы ВГЧ6В(нн)ВЭБ(–)МПС и ниже в 5,2 раза (ДИ не рассчитан, p = 0,009) — по сравнению с детьми из группы ВГЧ6В(нн)ВЭБ(–)неМПС (ВГЧ6В выявлен во всех образцах слюны). В других группах сравнения различий частот обнаружения ДНК ВГЧ6В в слюне выявлено не было.

Во всех случаях образцы ДНК ВГЧ6В, выделенные из лейкоцитов крови и слюны, были идентичны. Исключение составил здоровый мальчик 7 лет, в крови которого был определен геновариант ВГЧ6В/GV2a, а в слюне — ВГЧ6В/GV2b. В дальнейшем этот ребенок был исключен из анализа. Далее под геновариантом ВГЧ6В подразумевали тот, который был установлен в образцах лейкоцитов крови и/или слюны.

Среди здоровых детей и детей с ВГЧ6В-инфекцией в Нижегородском регионе выявлена циркуляция четырех геновариантов ВГЧ6В: ВГЧ6В/GV1a, ВГЧ6В/GV2a, ВГЧ6В/GV2b и ВГЧ6В/GV2e (рис. 2). Во всех группах доминирующими геновариантами являлись ВГЧ6В/GV2b и ВГЧ6В/GV2e. Геноварианты ВГЧ6В/GV1a и ВГЧ6В/GV2a встречались реже, а в малочисленных группах сравнения (ВГЧ6В(вн)ВЭБ(–)МПС, ВГЧ6В(вн)ВЭБ(+)МПС, ВГЧ6В(нн)ВЭБ(–)неМПС) не были выявлены. Среди групп сравнения частота выявления геновариантa

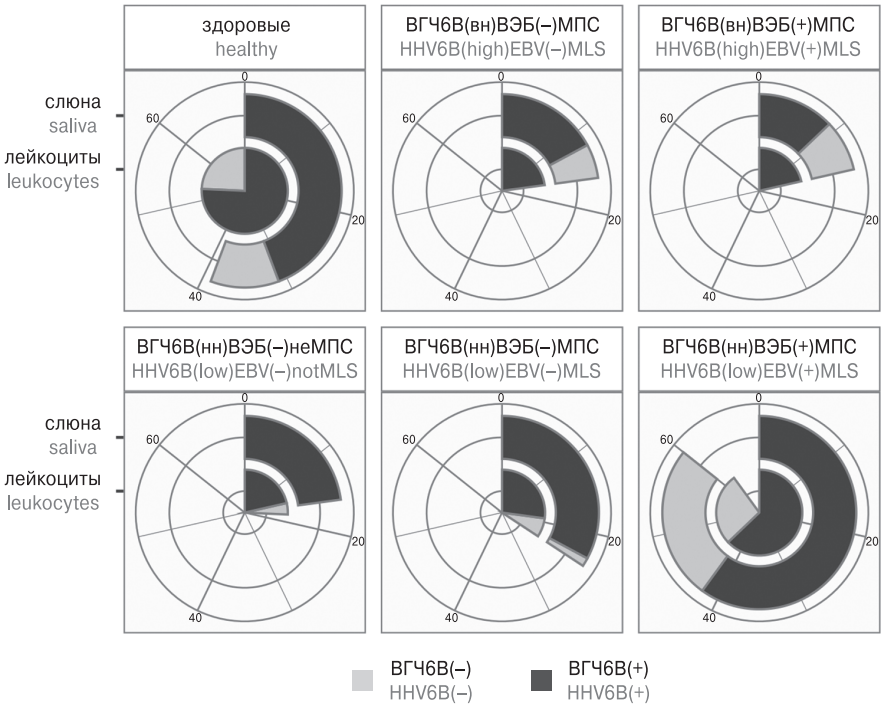


Рисунок 1. Выявляемость ДНК ВГЧ6В в образцах лейкоцитов крови и слюны здоровых детей и детей с ВГЧ6В-инфекцией

Figure 1. Detectability of HHV6B DNA in blood leukocyte and saliva samples from healthy children and children with HHV6B infection

Примечание. Вн — высокая вирусная нагрузка, нн — низкая вирусная нагрузка, МПС — мононуклеозоподобный синдром.

Note. High — high viral load, low — low viral load, MLS — mononucleosis-like syndrome.

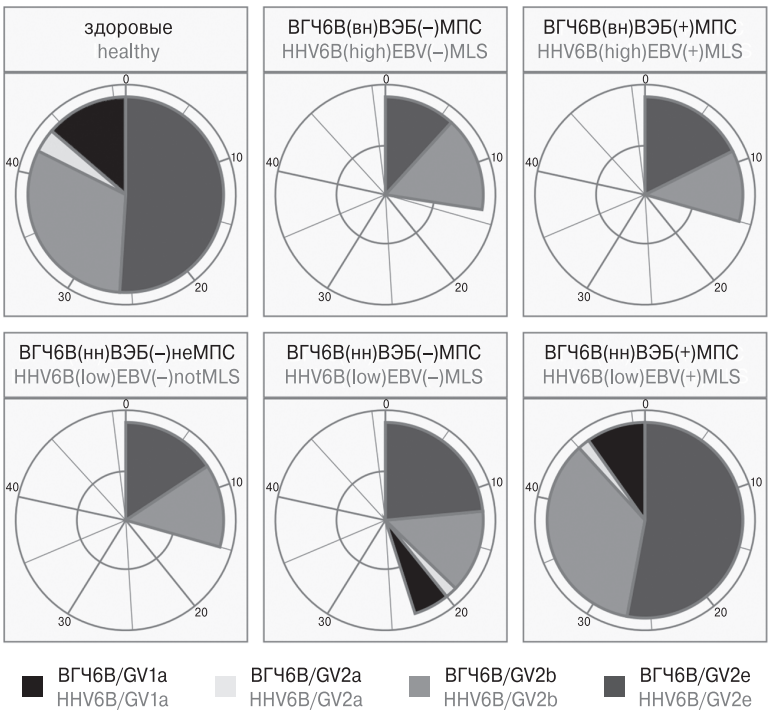


Рисунок 2. Выявляемость геновариантов ВГЧ6В среди здоровых детей и детей с ВГЧ6-инфекцией

Figure 2. Detectability of HHV6B genovariants among healthy children and children with HHV6B infection

Примечание. Вн — высокая вирусная нагрузка, нн — низкая вирусная нагрузка, МПС — мононуклеозоподобный синдром.

Note. High — high viral load, low — low viral load, MLS — mononucleosis-like syndrome.

ВГЧ6В/GV2e варьировала в пределах 43–60%, геновариантa ВГЧ6В/GV2b — 31–57%, частота выявления геновариантa ВГЧ6В/GV1a составила 13–14%, геновариантa ВГЧ6В/GV2a — 2–4%. Различия частот встречаемости доминирующих и минорных геновариантов ВГЧ6В в пределах одной группы были статистически значимыми ($p < 0,05$). Статистически значимых различий частот встречаемости геновариантов ВГЧ6В между группами сравнения найдено не было.

Влияние геновариантa ВГЧ6В на вирусную нагрузку в лейкоцитах крови. У здоровых детей и детей с ВГЧ6В-инфекцией, инфицированных доминирующими геновариантами ВГЧ6В/GV2b и ВГЧ6В/GV2e, исследовали содержание ДНК ВГЧ6В в лейкоцитах периферической крови. В группах детей с низкой вирусной нагрузкой (ВГЧ6В(нн)ВЭБ(+)МПС, ВГЧ6В(нн)ВЭБ(–)МПС и ВГЧ6В(нн)ВЭБ(–)неМПС) содержание ДНК ВГЧ6В было сопоставимо с показателем у здоровых детей и не зависело от геновариантa вируса (рис. 3). У детей с вирусной нагрузкой выше 10 копий/10^5 лимфоцитов, не инфицированных ВЭБ, содержание ДНК ВГЧ6В в зависимости от геновариантa также не изменялось. Различия в содержании ДНК ВГЧ6В в лейкоцитах крови при инфицировании различными геновариантами вируса выявлены в группе детей с высокой нагрузкой и ВЭБ-коинфекцией. В группе детей с ВГЧ6В(вн)ВЭБ(+)МПС, инфицированных геновариантом ВГЧ6В/GV2e, вирусная нагрузка в лейкоцитах была в 3,4 раза ниже ($\Delta = 17,5$, ДИ = 16,1–46,2 копий/10^5 клеток, $p = 0,036$) чем у детей той же группы, инфицированных геновариантом ВГЧ6В/GV2b.

Особенности клинико-лабораторного течения ВГЧ6В-ассоциированного МПС у детей. Изучены факторы, обуславливающие клинико-лабораторное течение МПС у ВГЧ6В-

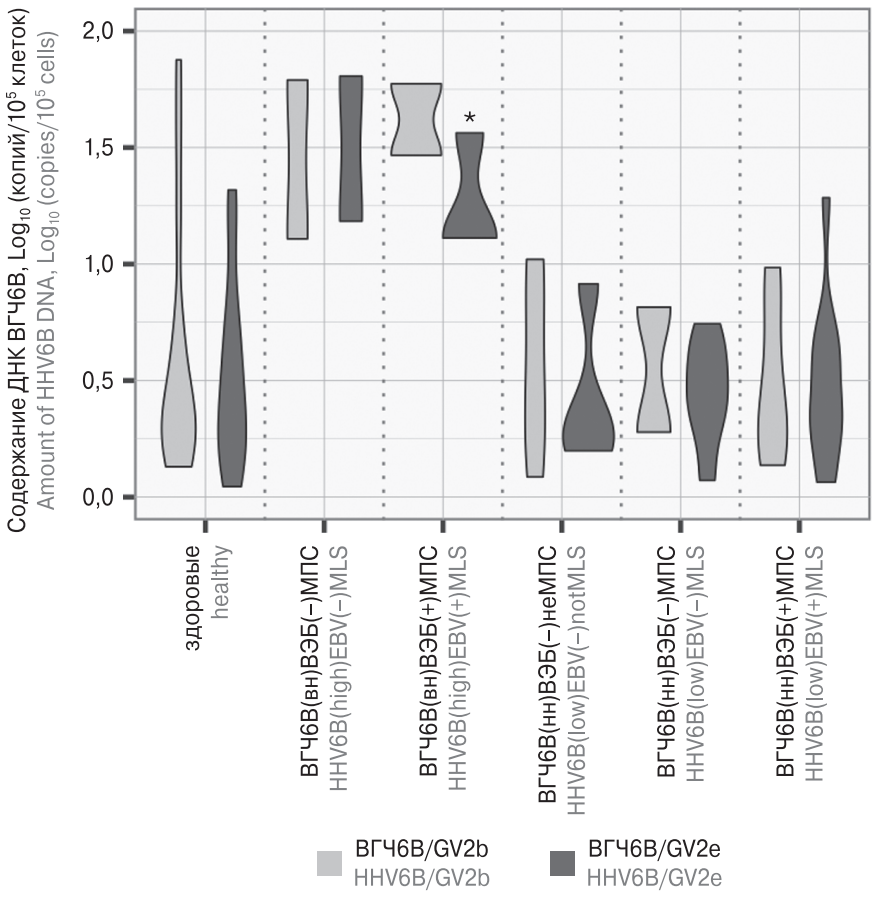


Рисунок 3. Содержание ДНК ВГЧ6В в лейкоцитах периферической крови здоровых детей и детей с ВГЧ6В-инфекцией

Figure 3. HHV6 DNA content in peripheral blood leukocytes of healthy children and children with HHV6B infection

Примечание. * — статистически значимые различия ($p < 0,05$) по сравнению с детьми, инфицированными геновариантом ВГЧ6В/GV2b. Вн — высокая вирусная нагрузка, нн — низкая вирусная нагрузка, МПС — мононуклеозоподобный синдром.

Note. * — statistically significant differences ($p < 0.05$) compared to children infected with the HHV6B/GV2b genovariant. High — high viral load, low — low viral load, MLS — mononucleosis-like syndrome.

инфицированных детей. С применением множественного факторного анализа произведена оценка вариабельности клинических и лабораторных признаков течения инфекции и определение параметров, ее объясняющих. Анализ проводили в координатах двух первых компонент, суммарно объясняющих 25,4% дисперсии (рис. 4). Геометрические центры групп пациентов были разделены в пространстве в зависимости от отношения к группе сравнения и геновариантa ВГЧ6В. На распределение точек вдоль оси первой компоненты преимущественно оказывал влияние фактор инфицирования ВЭБ, вдоль оси второй компоненты — фактор уровня вирусной нагрузки ВГЧ6В. В зависимости от геновариантa ВГЧ6В разделение точек пациентов в пространстве происходило вдоль обеих осей, но преимущественно вдоль оси второго измерения.

Значительный вклад в состав первой компоненты вносили группы симптомов лимфаденопатии (18,4%), гепатоспленомегалии (18,4%) и острого тонзиллита (15,7%); в состав второй компоненты — группы симптомов синдрома интоксикации (38,1%), синдрома цитолиза (13,5%) и изменения гематологических показателей (17,0%). Группа симптомов изменения лейкоцитарных показателей вносила значительный вклад в состав обоих измерений (21,4 и 17,5% соответственно). Далее было изучено влияние выявленных параметров на признаки указанных групп симптомов.

Установлено, что высокая вирусная нагрузка ВГЧ6В при МПС у детей ассоциирована с усилением симптомов интоксикации (рис. 5). По сравнению с детьми с низкой вирусной нагрузкой, у пациентов групп ВГЧ6В(вн)ВЭБ(–)МПС и ВГЧ6В(вн)ВЭБ(+)МПС были более вы-

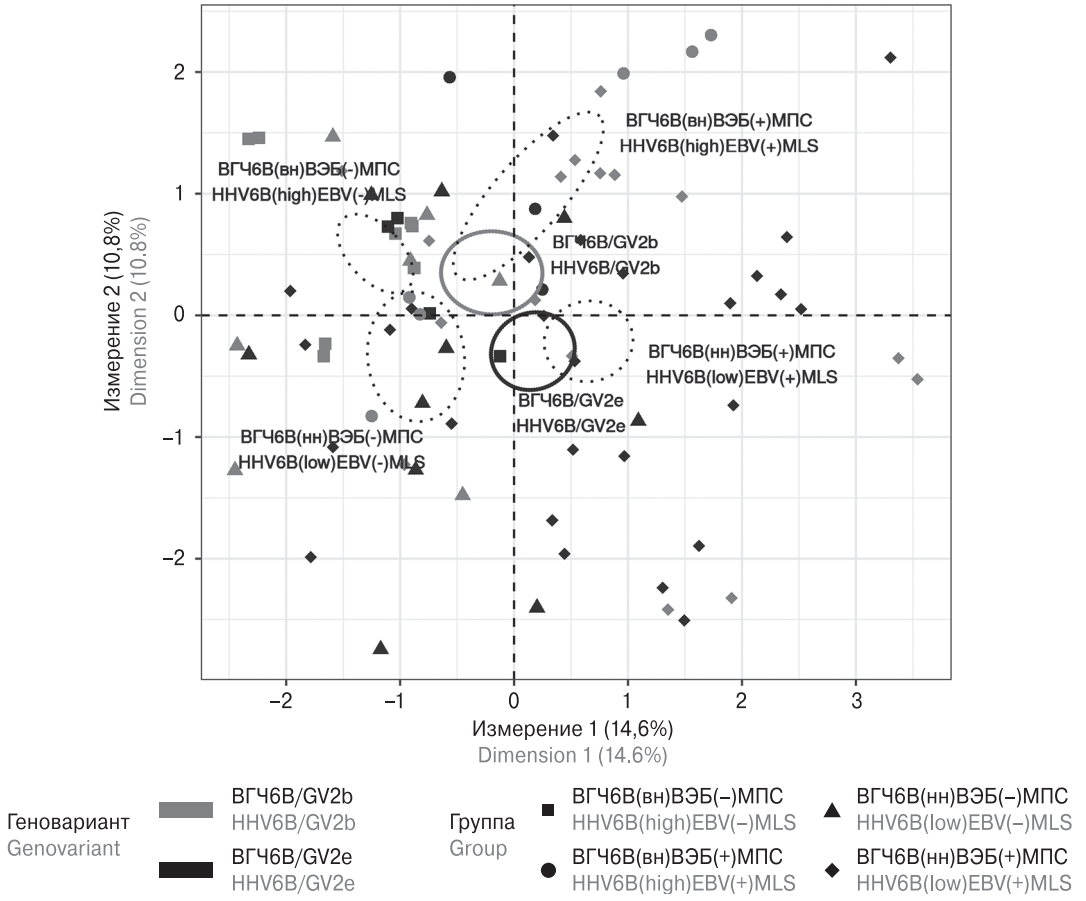


Рисунок 4. Множественный факторный анализ зависимости клинико-лабораторных характеристик у детей с МПС от геновариантa ВГЧ6В, содержания ДНК ВГЧ6В и коинфицирования ВЭБ

Figure 4. Multiple factor analysis of the dependence of clinical and laboratory characteristics in children with MLS on the HHV6B genovariant, HHV6B DNA amount and EBV co-infection

Примечание. Точками обозначены пациенты, положение точек рассчитано путем редукции значений 35 клинических и лабораторных признаков. Эллипс обозначает 95%-ный доверительный интервал расположения барицентра группы пациентов. Вн — высокая вирусная нагрузка, нн — низкая вирусная нагрузка, МПС — мононуклеозоподобный синдром.

Note. The points indicate patients, the position of the points was calculated by reducing the values of 35 clinical and laboratory characteristics. Ellipses represent the 95% confidence interval of the location of the barycenter of the patients' group. High — high viral load, low — low viral load, MLS — mononucleosis-like syndrome.

ражены следующие симптомы: беспокойство (Δ = 0,5, ДИ = 0,0–0,5 баллов, p < 0,001), снижение аппетита (Δ = 0,5, ДИ = 0,0–0,5 баллов, p < 0,001), нарушения сна (Δ = 0,5, ДИ = 0,0–0,5 баллов, p = 0,001) и все симптомы синдрома интоксикации в совокупности (Δ = 1,0, ДИ = 1,0–1,5 баллов, p < 0,001). Корреляционный анализ продемонстрировал наличие прямой взаимосвязи между содержанием ДНК ВГЧ6В в лейкоцитах крови и выраженностью симптомов интоксикации: вялость (rho = 0,39, ДИ = 0,16–0,57, p = 0,001), беспокойство (rho = 0,55, ДИ = 0,36–0,70, p < 0,001), потеря аппетита (rho = 0,51, ДИ = 0,31–0,67, p < 0,001), нарушения сна (rho = 0,32, ДИ = 0,09–0,51, p = 0,008), а также всех симптомов синдрома интоксикации в совокупности (rho = 0,44, 0,23–0,62, p < 0,001).

При коинфицировании ВЭБ у детей с МПС усиливались симптомы острого тонзиллита, гепатоспленомегалии и лимфаденопатии (рис. 5). По сравнению со случаями ВГЧ6В-моноинфекции, у ВЭБ-положительных пациентов были более выражены такие симптомы как: налет (Δ = 0,5, ДИ = 0,0–0,5 баллов, p < 0,001), отек (Δ = 0,5, ДИ = 0,5–0,5 баллов, p < 0,001), все симптомы острого тонзиллита в совокупности (Δ = 1,0, ДИ = 1,0–1,5 баллов, p < 0,001), увеличение печени (Δ = 0,5, ДИ = 0,0–0,5 баллов, p < 0,001), все симптомы гепатоспленомегалии в совокупности (Δ = 0,5, ДИ = 0,0–0,5 баллов, p < 0,001) и увеличение лимфатических узлов (Δ = 0,5, ДИ = 0,0–1,0 баллов, p < 0,001). У ВЭБ(+) пациентов выявлена положительная корреляция между содержанием ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови и выраженностью клинических симптомов: увеличением лимфатических узлов (rho = 0,36, ДИ = 0,11–0,57, p = 0,006), размера печени (rho = 0,37, ДИ = 0,12–0,58, p = 0,005), всех симптомов группы гепатоспленомегалия в совокупности (rho = 0,37, ДИ = 0,11–0,58, p = 0,006), а также размеров миндалин (rho = 0,29, ДИ = 0,19–0,62, p = 0,001).

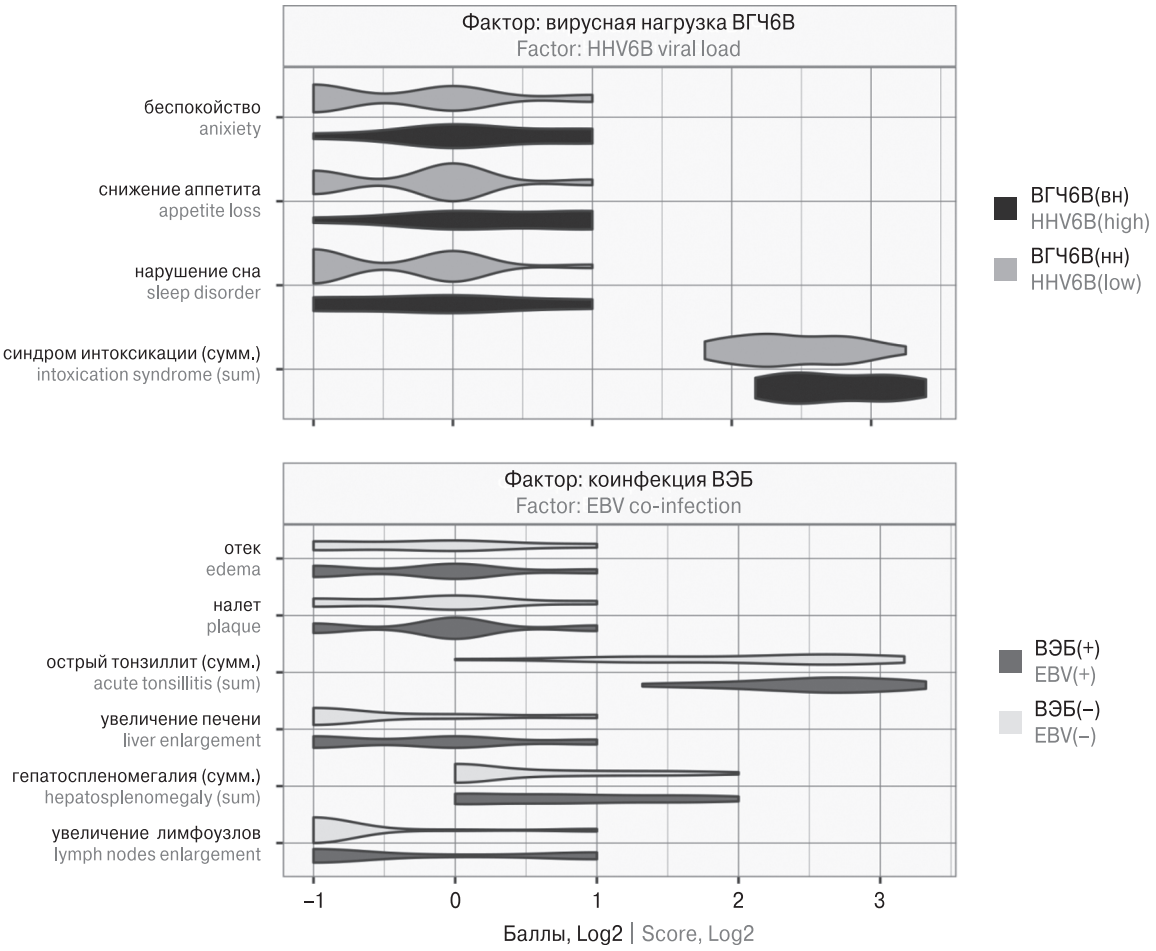


Рисунок 5. Выраженность клинических признаков у детей с МПС в зависимости от вирусной нагрузки ВГЧ6В и коинфицирования ВЭБ

Figure 5. Severity of clinical signs in children with MLS depending on the viral load of HHV6B and EBV co-infection

Примечание. Сумм. — сумма баллов группы симптомов, вн — высокая вирусная нагрузка, нн — низкая вирусная нагрузка.

Note. Sum — sum of scores of symptom group, high — high viral load, low — low viral load.

При МПС, ассоциированном с ВЭБ-коинфекцией, наблюдали изменение лабораторных признаков синдрома цитолиза, а также лейкоцитарных показателей (рис. 6). У ВЭБ(+) пациентов по сравнению с детьми с ВГЧ6В-моноинфекцией в периферической крови чаще наблюдали повышение содержания АЛАТ (ОШ = 1,4, ДИ = 1,2–1,6, p < 0,001), снижение содержания сегментоядерных нейтрофилов (ОШ = 1,2, ДИ = 1,1–1,3 p < 0,001) и повышение содержания лимфоцитов (ОШ = 1,1, ДИ = 1,0–1,2, p = 0,047). Напротив, у детей с ВГЧ6-моноинфекцией чаще выявляли повышение содержания зрелых нейтрофилов (ОШ = 2,5, ДИ = 2,0–3,3, p < 0,001) и снижение содержания лимфоцитов (ОШ = 2,0, ДИ = 1,4–2,5, p < 0,001) в крови.

У пациентов, инфицированных геновариантом ВГЧ6В/GV2e, чаще выявляли лабораторные признаки развития синдрома цитолиза (рис. 6). По сравнению с детьми, инфицированными геновариантом ВГЧ6В/GV2b, случаи инфицирования геновариантом ВГЧ6В/GV2e чаще характеризовались повышением содержания АСАТ (ОШ = 1,3, ДИ = 1,1–1,5, p = 0,002) и АЛАТ (ОШ = 1,2, ДИ = 1,0–1,4, p = 0,035). Также в крови у детей с МПС, инфицированных ВГЧ6В/GV2e, чаще наблюдалось повышение содержания лимфоцитов (ОШ = 1,6, ДИ = 1,2–2,1, p < 0,001), в то время как при инфицировании ВГЧ6В/GV2b более часто обнаруживали повышение содержания сегментоядерных нейтрофилов (ОШ = 1,4, ДИ = 1,1–1,7, p = 0,025).

Обсуждение

Впервые в России на примере Нижегородского региона охарактеризовано молекулярно-генетическое разнообразие ВГЧ6В, циркулирующего среди детей. Обнаружено доминирование геновариантов ВГЧ6В/GV2e и ВГЧ6В/GV2b. Геновариант ВГЧ6В/GV2e на текущий момент обнаружен исключительно в Нижегородской области, в то время как геновариант ВГЧ6В/GV2b, согласно данным банка NCBI Nucleotide, выявляют преимущественно в странах Западной Европы и Северной Америки (Великобритании, Германии, США). Минорные геноварианты ВГЧ6В/GV1a и ВГЧ6В/GV2a, также выявленные в Нижегородском регионе, происходят как из стран Северной Америки и Европы (США и Великобритания), так и из стран Азии (Япония, Китай). Таким образом, ВГЧ6В, циркулирующий среди детей Нижегородского региона, является эндемичным либо проявляет родство с европейскими вариантами, в то время как азиатские варианты вируса менее распространены. Обращает на себя внимание тот факт, что современные данные о филогеографии ВГЧ6В крайне ограничены [15] и дальнейшие исследования на территории России и других регионов мира могут изменить имеющиеся представления о распространенности геновариантов вируса.

Изучение пейзажа циркулирующих геновариантов ВГЧ6В становится особенно актуальным в свете полученных нами свидетельств о влиянии генетического полиморфизма вируса на течение ВГЧ6В-опосредованного МПС. Показано, что, наряду с содержанием ДНК ВГЧ6В и наличием ВЭБ-коинфекции, генова-

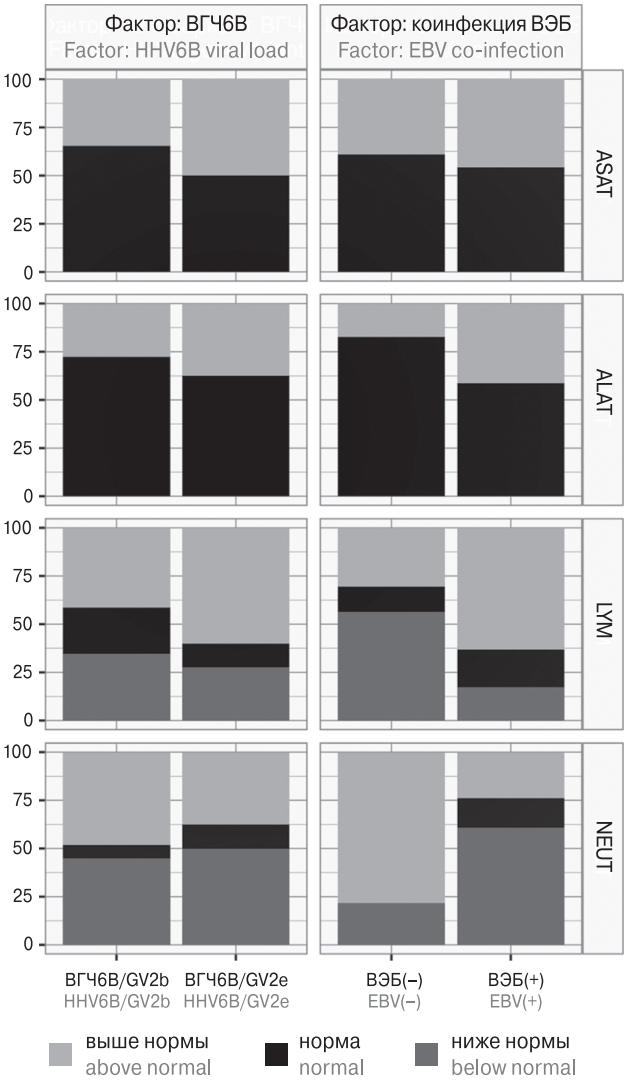


Рисунок 6. Лабораторные показатели периферической крови у детей с МПС в зависимости от геновариантa ВГЧ6В и коинфицирования ВЭБ

Figure 6. Laboratory parameters of peripheral blood in children with MLS depending on the HHV6B genovariant and EBV co-infection

Примечание. ASAT — содержание АСАТ, Ед/л; ALAT — содержание АЛАТ, Ед/л; LYM — относительное содержание лимфоцитов, %; NEUT — относительное содержание сегментоядерных нейтрофилов, %.

Note. ASAT — ASAT content, U/L; ALAT — ALAT content, U/L; LYM — relative lymphocyte content, %; NEUT — relative segmented neutrophil content, %.

риант ВГЧ6В является фактором, определяющим клинические и лабораторные признаки заболевания. Обобщив полученные результаты, можно полагать, что при ВГЧ6-опосредованном МПС выраженность симптомов интоксикации связана с уровнем репликации ВГЧ6В, а симптомов острого тонзиллита, гепатоспленомегалии и лимфаденопатии — с уровнем репликации ВЭБ. Полученные результаты соответствуют изложенным в научной литературе данным о том, что острый тонзиллит, гепатоспленомегалия и лимфаденопатия являются клиническими признаками, характерными для ВЭБ-ИМ [1, 8, 9, 21].

Генетический полиморфизм ВГЧ6В оказывает влияние на изменения лейкоцитарной формулы у детей с МПС. Инфицирование ВГЧ6В/GV2b обуславливает протекание МПС с преимущественным увеличением содержания нейтрофилов, а в случае с ВГЧ6В/GV2e — с преобладающим ростом содержания лимфоцитов. За распознавание клеточных рецепторов отвечает уникальный комплекс гликопротеинов gH/gL/gQ1/gQ2 оболочки ВГЧ6В [23], а гены U39 и U48, кодирующие молекулы гликопротеинов, обладают высоким межвидовым и внутривидовым полиморфизмом [11]. Экспериментально установлено, что клеточный тропизм штамма ВГЧ6В HST (соответствует геновариантy ВГЧ6В/GV2a в нашей классификации) ограничен экспрессирующими рецептор CD134 Т-лимфоцитами [12, 23]. Тропизм других геновариантов ВГЧ6В не изучен, однако возможность взаимодействия с клетками широкого спектра описана у другого генетически близкого розеоловируса — *Roseolovirus humanbeta6a* [12]. Различные геновариантy ВГЧ6В могут обладать разным клеточным тропизмом, в том числе к конкретным популяциям иммунокомпетентных клеток, что будет обуславливать наблюдаемые различия лейкоцитарной формулы у детей с МПС.

Нейтрофилы участвуют в реакциях как врожденного (фагоцитоз вирусных частиц, секреция цитокинов), так и приобретенного (миграция в лимфоузлы и усиление специфичного Т-клеточного ответа) противовирусного иммунитета, в то время как лимфоцитам отводится ключевая роль в реализации специфического звена иммунной защиты. Пораженные вирусом клетки, как правило, погибают путем апоптоза, однако инфицированные нейтрофилы также могут распространять патоген, перенося его в лимфатические узлы [22]. Таким образом, геновариантy ВГЧ6В могут различным образом участвовать в регуляции иммунного ответа на патоген.

У детей с установленным геновариантом ВГЧ6В/GV2e, по сравнению с детьми, инфицированными геновариантом ВГЧ6В/GV2b, чаще выявляли увеличение содержания АСАТ и АЛАТ в периферической крови, что свидетельствует о различном гепатотоксическом потенциале двух геновариантов вируса. Потенциальная способность геновариантa ВГЧ6В/GV2e повреждать клетки печени может лежать в основе развития тяжелых форм гепатитов [19, 24].

Обращает на себя внимание схожесть лабораторных признаков МПС, обусловленных ВГЧ6В/GV2e и ВЭБ. Для обоих вирусов характерны изменения лейкоцитарной формулы в сторону снижения содержания нейтрофилов и увеличения количества лимфоцитов, а также признаки развития синдрома цитолиза, что косвенно свидетельствует о способность двух вирусов поражать схожий спектр клеточных мишеней. Возможная конкуренция ВГЧ6В/GV2e и ВЭБ за клеточные мишени в случае коинфекции может объяснять наблюдаемое снижение вирусной нагрузки ВГЧ6В в лейкоцитах крови в группе ВГЧ6В(вн) ВЭБ(+)МПС (рис. 3), а также частоты выявления ДНК ВГЧ6В в слюне детей с ВГЧ6В(нн) ВЭБ(+)МПС (рис. 1). Известно, что реактивация ВЭБ сопровождается подавлением экспрессии множества генов хозяина [13], включая факторы репликации ВГЧ6В [20]. Показано снижение вирусной нагрузки как ВГЧ6В, так и ВЭБ при смешанной инфекции у детей с ИМ [8, 10]. Очевидно, что существует сложная взаимосвязь между ВГЧ6В и ВЭБ, обусловленная их способностью взаимно регулировать экспрессию генов [18]. Итог взаимной активации двух вирусов зависит от множества факторов, не последнюю роль среди которых играет генетический полиморфизм ВГЧ6В и ВЭБ [7].

Заключение

Впервые в России нами изучено молекулярно-генетическое разнообразие ВГЧ6В, циркулирующего среди детей. На территории Нижегородского региона выявлены четыре геновариантa вируса, два из которых являются доминирующими. Впервые получены свидетельства того, что генетический полиморфизм ВГЧ6В оказывает влияние на течение ВГЧ6В-обусловленного МПС. У пациентов с МПС, инфицированных различными геновариантами ВГЧ6В, выявлены разнонаправленные изменения лейкоцитарной формулы, а также отличия лабораторных показателей развития цитотоксического синдрома. Полученные данные могут объяснить представленные в литературе противоречивые сведения о клинико-лабораторных особенностях течения ИМ и МПС различной этиологии. Кроме того, наши результаты подчеркивают значимость полной этиологической расшифровки случаев МПС в целях правильной интерпретации лабораторных показателей пациентов и назначения адекватной терапии.

Список литературы/References

1. Демина О.И., Чеботарева Т.А., Мазанкова Л.Н., Тетова В.Б., Учаева О.Н. Инфекционный мононуклеоз у детей: клинико-лабораторная характеристика в зависимости от этиологии и фазы инфекционного процесса // Инфекционные болезни. 2020. Т. 18, № 3. С. 62–72. [Demina O.I., Chebotareva T.A., Mazankova L.N., Tetova V.B., Uchaeva O.N. Infectious mononucleosis in children: clinical and laboratory characteristics depending on the disease etiology and phase of infection. *Infektsionnye bolezni = Infectious Diseases, 2020, vol. 18, no. 3, pp. 62–72. (In Russ.)*] *doi: 10.20953/1729-9225-2020-3-62-72*
2. Крамарь Л.В., Карпухина О.А. Оценка показателей общего анализа крови у детей при инфекционном мононуклеозе различной этиологии // Современные проблемы науки и образования. 2012. № 6. [Kramary L.V., Karpuhina O.A. Evaluation of general blood test parameters in children with infectious mononucleosis of various etiologies. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education, 2012, no. 6. (In Russ.)*] *URL: https://science-education.ru/ru/article/view?id=7904*
3. Лысенкова М.Ю., Мелехина Е.В., Каражас Н.В., Свитич О.А., Веселовский П.А., Рыбалкина Т.Н., Бошьян Р.Е., Косенчук В.В., Музыка А.Д., Горелов А.В., Усенко Д.В., Иванова М.Ю. Клинико-эпидемиологические особенности ВГЧ-6А- и ВГЧ-6В-инфекции у детей г. Москвы // Детские инфекции. 2019. Т. 18, № 1. С. 11–16. [Lysenkova M.Yu., Melekhina E.V., Karazhas N.V., Svitich O.A., Veselovsky P.A., Rybalkina T.N., Boshyan R.E., Kosenchuk V.V., Muzyka A.D., Gorelov A.V., Usenko D.V., Ivanova M.Yu. The clinical and epidemiological features of HHV-6A and HHV-6B infections in children of Moscow. *Detskie infektsii = Children Infections, 2019, vol. 18, no. 1, pp. 11–16. (In Russ.)*] *doi: 10.22627/2072-8107-2019- 18-1-11-16*
4. Попкова М.И., Уткин О.В., Брызгалова Д.А., Сенатская А.О., Соболева Е.А., Сахарнов Н.А., Филатова Е.Н., Кулова Е.А. Методические подходы к дифференциальной детекции ВЭБ-1/ВЭБ-2 и ВГЧ-6А/ВГЧ-6В в слюне // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 3. С. 461–474. [Popkova M.I., Utkin O.V., Bryzgalova D.A., Senatskaia A.O., Soboleva E.A., Sakharnov N.A., Filatova E.N., Kulova E.A. Methodological approaches to differential detection of EBV1/EBV2 and HHV6A/HHV6B in saliva. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2022, vol. 12, no. 3, pp. 461–474. (In Russ.)*] *doi: 10.15789/2220-7619-MAT-1807*
5. Попкова М.И., Уткин О.В., Брызгалова Д.А. Сравнительная характеристика бета-герпесвирусов человека 6А и 6В. Современный взгляд на проблему // Журнал инфектологии. 2021. Т. 13, № 3. С. 5–18. [Popkova M.I., Utkin O.V., Bryzgalova D.A. Comparative characteristics of human betaherpesviruses 6A and 6B. A modern view on the problem. *Zhurnal infektologii = Journal Infectology, 2021, vol. 13, no. 3, pp. 5–18. (In Russ.)*] *doi: 10.22625/2072-6732-2021-13-3-5-18*
6. Попкова М.И., Уткин О.В., Соболева Е.А., Сахарнов Н.А., Брызгалова Д.А., Сенатская А.О., Кулова Е.А. Методические основы дифференциальной детекции ВЭБ1/ВЭБ2 и ВГЧ6А/ВГЧ6В // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 6. С. 1057–1066. [Popkova M.I., Utkin O.V., Soboleva E.A., Sakharnov N.A., Bryzgalova D.A., Senatskaia A.O., Kulova E.A. Methodological basics for differential detection of EBV1/EBV2 and HHV6A/HHV6B. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2021, vol. 11, no. 6, pp. 1057–1066. (In Russ.)*] *doi: 10.15789/2220-7619-MBF-1661*
7. Попкова М.И., Уткин О.В., Соболева Е.А., Филатова Е.Н., Брызгалова Д.А., Сахарнов Н.А. Клинико-лабораторная характеристика инфекционного мононуклеоза, вызванного вирусом Эпштейна–Барр 1-го типа, у госпитализированных детей // Журнал инфектологии. 2023. Т. 15, № 1. С. 36–47. [Popkova M.I., Utkin O.V., Soboleva E.A., Filatova E.N., Bryzgalova D.A., Sakharnov N.A. The clinical and laboratory characteristics of infectious mononucleosis caused by the Epstein–Barr virus type 1 in hospitalized children. *Zhurnal infektologii = Journal Infectology, 2023, vol. 15, no. 1, pp. 36–47. (In Russ.)*] *doi: 10.22625/2072-6732-2023-15-1-36-47*
8. Тян Н.С., Бабаченко И.В., Голева О.В., Орлова Е.Д., Безверхая Н.С., Калинин Р.С., Цай В.В., Пинковская Е.В., Крылов А.В., Кусакин А.В., Эйсмонт Ю.А., Мукомолова А.Л., Базиян Е.В. Клинико-лабораторные и вирусологические особенности инфекционного мононуклеоза ВЭБ- и ВГЧ-6-этиологии у детей // Детские инфекции. 2023. Т. 22, № 4. С. 34–38. [Tian N.S., Babachenko I.V., Goleva O.V., Orlova E.D., Bezverkhaya N.S., Kalinin R.S., Tsay V.V., Pinkovskaya E.V., Krylov A.V., Kusakin A.V., Eismont Y.A., Mukomolova A.L., Baziian E.V. Clinical, laboratory and virological aspects in infectious mononucleosis of EBV- and HHV-6 etiology in children. *Detskie infektsii = Children Infections, 2023, vol. 22, no. 4, pp. 34–38. (In Russ.)*] *doi: 10.22627/2072-8107-2023-22-4-34-38*
9. Харченко Ю.П., Зарецкая А.В., Брошков, М.М. Особенности течения инфекционного мононуклеоза различной этиологии у детей // Медицинские новости Грузии. 2019. № 287. С. 51–56. [Kharchenko Yu., Zaretska A., Broshkov M. The features of the course of infectious mononukleosis of different etiology in children. *Meditsinskie novosti Gruzii = Georgian Medical News, 2019, no. 287, pp. 51–56. (In Russ.)*]
10. Ярославцева Н.Г., Тихомиров Д.С., Романова Т.Ю., Игнатова Е.Н., Туполева Т.А., Филатов Ф.П., Гапонова Г.В. Лабораторная диагностика активной и латентной инфекции, вызванной вирусом герпеса человека 6-го типа, у пациентов с заболеваниями системы крови // Вопросы вирусологии. 2018. Т. 63, № 2. С. 84–90. [Yaroslavtseva N.G., Tikhomirov D.S., Romanova T.Y., Ignatova E.N., Tupoleva T.A., Filatov F.P., Gaponova T.V. Laboratory diagnostics of active and latent HHV 6-infection in patients with hematological malignancies. *Voprosy virusologii = Problems of Virology, 2018, vol. 63, no. 2, pp. 84–90. (In Russ.)*] *doi: 10.18821/0507-4088-2018-63-2-84-90*
11. Achour A., Malet I., Le Gal F., Dehee A., Gautheret-Dejean A., Bonnafous P., Agut H. Variability of gB and gH genes of human herpesvirus-6 among clinical specimens. *J. Med. Virol., 2008, vol. 80, no. 7, pp. 1211–1221. doi: 10.1002/jmv.21205*
12. Agut H., Bonnafous P., Gautheret-Dejean A. Update on infections with human herpesviruses 6A, 6B, and 7. *Med. Mal. Infect., 2017, vol. 47, no. 2, pp. 83–91. doi: 10.1016/j.medmal.2016.09.004*
13. Casco A., Johannsen E. EBV reactivation from latency is a degrading experience for the host. *Viruses, 2023, vol. 15, no. 3: 726. doi: 10.3390/v15030726*
14. Dewin D.R., Catusse J., Gompels U.A. Identification and characterization of U83A viral chemokine, a broad and potent beta-chemokine agonist for human CCRs with unique selectivity and inhibition by spliced isoform. *J. Immunol., 2006, vol. 176, no. 1, pp. 544–556. doi: 10.4049/jimmunol.176.1.544*

15. Forni D., Cagliani R., Clerici M., Pozzoli U., Sironi M. Evolutionary analysis of exogenous and integrated HHV-6A/HHV-6B populations. *Virus Evol., 2020, vol. 6, no. 1: veaa035. doi: 10.1093/ve/veaa035*
16. Jaworska J., Gravel A., Flamand L. Divergent susceptibilities of human herpesvirus 6 variants to type I interferons. *Proc. Natl Acad. Sci. USA, 2010, vol. 107, no. 18, pp. 8369–8374. doi: 10.1073/pnas.0909951107*
17. Kawamura Y., Yoshikawa T. Disease burden of primary HHV-6B infection in immunocompetent children. *Curr. Clin. Micro. Rpt., 2024, vol. 11, pp. 12–17. doi: 10.1007/s40588-024-00215-y*
18. Miranda J.L. Single-cell transcriptomics of Epstein–Barr virus and Human herpesvirus 6 coinfection. *Microbiol. Resour. Announc., 2023, vol. 12, no. 7: e0034223. doi: 10.1128/mra.00342-23*
19. Morfopoulou S., Buddle S., Torres Montaguth O.E., Atkinson L., Guerra-Assunção J.A., Moradi Marjaneh M., Zennezini Chiozzi R., Storey N., Campos L., Hutchinson J.C., Counsell J.R., Pollara G., Roy S., Venturini C., Antinao Diaz J.F., Siam A., Tappouni L.J., Asgarian Z., Ng J., Hanlon K.S., Lennon A., McArdle A., Czap A., Rosenheim J., Andrade C., Anderson G., Lee J.C.D., Williams R., Williams C.A., Tutill H., Bayzid N., Martin Bernal L.M., Macpherson H., Montgomery K.-A., Moore C., Templeton K., Neill C., Holden M., Gunson R., Shepherd S.J., Shah P., Cooray S., Voice M., Steele M., Fink C., Whittaker T.E., Santilli G., Gissen P., Kaufer B.B., Reich J., Andreani J., Simmonds P., Alrabiah D.K., Castellano S., Chikowore P., Odam M., Rampling T., Houlihan C., Hoschler K., Talts T., Celma C., Gonzalez S., Gallagher E., Simmons R., Watson C., Mandal S., Zambon M., Chand M., Hatcher J., De S., Baillie K., Semple M.G., DIAMONDS Consortium, PERFORM Consortium, ISARIC 4C Investigators, Martin J., Ushiro-Lumb I., Noursadeghi M., Deheragoda M., Hadzic N., Grammatikopoulos T., Brown, R., Kelgeri, C., Thalassinos, K., Waddington, S.N., Jacques, T.S., Thomson, E., Levin, M., Brown J.R., Breuer J. Genomic investigations of unexplained acute hepatitis in children. *Nature, 2023, vol. 617, pp. 564–573. doi: 10.1038/s41586-023-06003-w*
20. Murata T., Sugimoto A., Inagaki T., Yanagi Y., Watanabe T., Sato Y., Kimura H. Molecular basis of Epstein–Barr virus latency establishment and lytic reactivation. *Viruses, 2021, vol. 13, no. 12: 2344. doi: 10.3390/v13122344*
21. Naughton P., Healy M., Enright F., Lucey B. Infectious mononucleosis: diagnosis and clinical interpretation. *Br. J. Biomed. Sci., 2021, vol. 78, no. 3, pp. 107–116. doi: 10.1080/09674845.2021.1903683*
22. Naumenko V., Turk M., Jenne C.N., Kim S.-J. Neutrophils in viral infection. *Cell. Tissue. Res., 2018, vol. 371, pp. 505–516. doi: 10.1007/s00441-017-2763-0*
23. Nishimura M., Novita B.D., Kato T., Handayani Tjan L., Wang B., Wakata A., Lystia Poetranto A., Kawabata A., Tang H., Aoshi T., Mori Y. Structural basis for the interaction of human herpesvirus 6B tetrameric glycoprotein complex with the cellular receptor, human CD134. *PLoS Pathog., 2020, vol. 16, no. 7: e1008648. doi: 10.1371/journal.ppat.1008648*
24. Yurlov K.I., Masalova O.V., Kisteneva L.B., Khlopova I.N., Samokhvalov E.I., Malinovskaya V.V., Parfyonov V.V., Shuvalov A.N., Kushch A.A. Human herpesviruses increase the severity of hepatitis. *Biology (Basel.), 2021, vol. 10, no. 6: 483. doi: 10.3390/biology10060483*

Авторы:

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;
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;
Суслов Н.А., лаборант лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;
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;
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:

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;
Sakharnov N.A., PhD (Biology), 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;
Suslov N.A., Laboratory Assistant, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
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;
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.

Поступила в редакцию 02.12.2024
Принята к печати 03.01.2025

Received 02.12.2024
Accepted 03.01.2025

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 489–504

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 489–504

ТРОГОЦИТОЗ АДАПТИВНЫМИ NK-КЛЕТКАМИ ФРАГМЕНТОВ МЕМБРАН В-ЛИМФОЦИТОВ ПРИ АКТИВАЦИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ВЭБ-ИНФЕКЦИИ ПРИВОДИТ К ЭКСПРЕССИИ CD19 НА NK

А.А. Калашникова[1], Н.В. Бычкова[2], И.А. Ракитянская[3]

[1] ФГБУ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, Россия
[2] ФГБУ НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Минздрава России, Москва, Россия
[3] СПбГБУЗ Городская поликлиника № 112, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. В последнее десятилетие появились сообщения о выявлении в крови и костном мозге NK-клеток со слабой коэкспрессией CD19. Практически отсутствует оценка частоты встречаемости и относительного количества $CD56^{+}CD19^{+dim}$ клеток, нет данных о связи с какой-либо патологией. Ранее мы показали, что эта субпопуляция имеет фенотип адаптивных NK-клеток. Возможной причиной появления CD19 на NK может быть трогоцитоз мембран В-лимфоцитов при активной ВЭБ-инфекции. Цель: выявить факторы, способствующие появлению в периферической крови субпопуляции $CD56^{+}CD19^{+dim}$ NK-лимфоцитов у пациентов с герпетической инфекцией. *Материалы и методы.* Проанализированы кровь, слюна и другие биологические жидкости 225 пациентов (34,6±8,5 лет, 71% женщин). Хроническая персистирующая ВЭБ-инфекция отмечена у 29% лиц, ЦМВ — у 2,2%, микст-инфекция — у 10%. Врач-инфекционист оценивал средний стаж и активность заболевания. Определяли иммуноглобулины к ЦМВ классов М (иммунохемилюминесценция) и G с авидностью (иммуноферментный анализ) в сыворотке; ДНК ЦМВ и ВЭБ (ПЦР-РВ) в биологических жидкостях. Исследовали субпопуляции лимфоцитов крови (проточная цитометрия) с оценкой содержания $CD19^{+dim}$ NK-клеток. У лиц без IgG к ЦМВ субпопуляция $CD19^{+dim}$ NK-клеток не определена. Выявлена взаимосвязь между наличием в биологической жидкости ДНК каждого из вирусов и присутствием $CD19^{+dim}$ NK-клеток в крови. Доля $CD19^{+dim}$ NK-клеток была максимальной при активной репликации обоих вирусов и снижалась при отсутствии активной репликации ЦМВ. Среди лиц с микст-инфекцией субпопуляция определена в группе более молодых пациентов со средним стажем ВЭБ-инфекции свыше 4 лет, ЦМВ-инфекции — около 3 лет. В этой группе не выявлены значительные изменения содержания общих иммуноглобулинов, в анамнезе отсутствовали заболевания, подавляющие адекватный гуморальный иммунный ответ. Среди лиц с микст-инфекцией, но без $CD19^{+dim}$ NK-клеток, чаще отмечали снижение общих иммуноглобулинов и наличие заболеваний, приводящих к нарушению продукции специфических иммуноглобулинов. Появлению в крови $CD19^{+dim}$ NK-лимфоцитов способствует ЦМВ-инфекция, наличие длительной хронической ВЭБ-инфекции с активаци-

Адрес для переписки:
Калашникова Анастасия Андреевна
194044, Россия, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, 4/2,
ФГБУ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова МЧС России.
Тел.: 8 921 864-23-86.
E-mail: petkova_nas@mail.ru

Contacts:
Anastasia A. Kalashnikova
194044, Russian Federation, St. Petersburg, Academica Lebedeva str., 4/2, Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine.
Phone: +7 921 864-23-86.
E-mail: petkova_nas@mail.ru

Для цитирования:
Калашникова А.А., Бычкова Н.В., Ракитянская И.А. Трогоцитоз адаптивными NK-клетками фрагментов мембран В-лимфоцитов при активации хронической ВЭБ-инфекции приводит к экспрессии CD19 на NK // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 489–504. doi: 10.15789/2220-7619-ANC-17850

Citation:
Kalashnikova A.A., Bychkova N.V., Rakityanskaya I.A. Adaptive NK cells acquire B-lymphocyte CD19 surface marker via trogocytosis during activation of chronic EBV infection // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 489–504. doi: 10.15789/2220-7619-ANC-17850

© Калашникова А.А., Бычкова Н.В., Ракитянская И.А., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-ANC-17850

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

ей на момент исследования, сохранный гуморальный иммунный ответ. $CD19^{+dim}$ NK-клетки не определены у лиц без ЦМВ-инфекции в анамнезе, при отсутствии активации ВЭБ, при наличии заболеваний, приводящих к нарушению гуморального иммунитета. Появление в крови субпопуляции $CD56^{+}CD19^{+dim}$ является следствием участия адаптивных NK в противовирусном ответе при высоком содержании нейтрализующих антител и маркером трогоцитоза В-лимфоцитов, связавших ВЭБ. Возможность присутствия в крови $CD19^{+dim}$ NK-лимфоцитов необходимо учитывать при фенотипировании В-клеток, поскольку их наличие может приводить к некорректному результату.

Ключевые слова: *$CD19^{+}$ NK-клетки, $CD56^{+}CD19^{+dim}$, адаптивные NK, трогоцитоз, ВЭБ-инфекция, ЦМВ-инфекция.*

ADAPTIVE NK CELLS ACQUIRE B-LYMPHOCYTE CD19 SURFACE MARKER VIA TROGOCYTOSIS DURING ACTIVATION OF CHRONIC EBV INFECTION

Kalashnikova A.A.[a], Bychkova N.V.[b], Rakityanskaya I.A.[c]

[a] *The Nikiforov All-Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russian Federation*
[b] *National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakov, Moscow, Russian Federation*
[c] *Municipal Outpatient Hospital no. 112, St. Petersburg, Russian Federation*

Abstract. In the last decade, there have been reports of NK with low CD19 coexpression in the blood and bone marrow. There is no data on their association with pathology. We have previously shown that $CD19^{+dim}$ NK has an adaptive phenotype. A possible reason for the appearance of CD19 on NK may occur via trogocytosis of B-lymphocytes during active EBV infection. The aim of study is to identify factors contributing to the appearance of a $CD56^{+}CD19^{+dim}$ NK in the peripheral blood of patients with herpes infection. *Materials and methods.* Blood, saliva, and other biological fluids from 225 patients (34.6±8.5 years, 71% women) were analyzed. Chronic persistent EBV infection was noted in 29%, CMV — in 2.2%, mixed infection — in 10%. IgM to CMV and IgG with avidity were determined in serum; CMV and EBV DNA in biological fluids. Subpopulations of blood lymphocytes were studied by flow cytometry to quantitate $CD19^{+dim}$ NK cell level. In individuals without IgG to CMV, $CD19^{+dim}$ NK were not determined. A relationship was found between the presence of DNA of each virus and the presence of $CD19^{+dim}$ NK cells. The proportion of $CD19^{+dim}$ NK cells peaked at active replication of both viruses and decreased in the absence of CMV replication. Among individuals with mixed infection, cell subpopulation was identified in the group of younger patients with long-term chronic EBV infection. In this group, no significant changes in the content of total immunoglobulins were detected; no diseases in history that suppress an adequate humoral immunity were observed. Among individuals with mixed infection, but without $CD19^{+dim}$ NK cells, a decrease in total immunoglobulins and the presence of diseases leading to altered production of specific immunoglobulins were more often noted. The appearance of $CD19^{+dim}$ NK cells in the blood is facilitated by CMV infection, the presence of long-term chronic EBV infection with activation at the time of the study, and an intact humoral immunity. $CD19^{+dim}$ NK cells are not detected in individuals without IgG to CMV, in the absence of EBV activation, in the presence of diseases that lead to impaired humoral immunity. The appearance of the $CD56^{+}CD19^{+dim}$ NK cells in the blood is a consequence of the participation of adaptive NK cells in the antiviral response with a high level of neutralizing antibodies and a marker of trogocytosis of B-cells that have bound EBV. The possibility of the presence of $CD19^{+dim}$ NK cells in the blood must be taken into account when phenotyping B-cells.

Key words: *$CD19^{+}$ NK-cells, $CD56^{+}CD19^{+dim}$, adaptive NK, trogocytosis, EBV infection, CMV infection.*

Введение

В последнее десятилетие среди зарубежных публикаций встречаются упоминания о минорной популяции NK-лимфоцитов, экспрессирующих на мембране линейный В-клеточный антиген CD19 [15, 26]. Эту популяцию описывают в периферической крови и костном мозге детей и взрослых [7, 17, 26]. Частота встречаемости $CD56^{+}CD19^{+dim}$ клеток невелика — среди образцов крови взрослых лиц, обследуемых с подозрением на иммунодефицитное состояние, она составляет 1,2% [3] и увеличивается до 4,4% среди образцов крови детей [15]. Максимальная частота встречаемости этой популяции, составляющая 15%, отмечается среди образцов костного мозга детей с В-клеточным острым лимфобластным лейкозом после этапов индукционной и консолидационной терапии [7]. Минимальный выявляемый объем субпопуляции $CD56^{+}CD19^{+dim}$ определяется чувствительностью исследования, а именно количеством проанализированных клеток, и составляет 0,004% от лейкоцитов при анализе не менее 500 000 событий в лейкоцитарном регионе при исследовании минимальной определяемой болезни [26]. Эта популяция может составлять значимую долю от лейкоцитов [3] и влиять на результаты рутинных исследований по определению субпопуляционного состава лимфоци-

тов или минорных субпопуляций В-клеток при использовании CD19 в качестве единственного линейного В-лимфоцитарного маркера или отсутствии в пробе антител к CD56 и некоторым другим NK-клеточным антигенам.

В настоящее время отсутствуют представления о значении субпопуляции $CD56^{+}CD19^{+dim}$ клеток при различной патологии. NK-лимфоциты с коэкспрессией CD19 отмечаются при острых и хронических В-клеточных лимфопролиферативных заболеваниях [7, 17], при инфекции COVID-19 [11] и других патологических состояниях [15].

В нашем предыдущем исследовании было показано, что фенотип $CD56^{+}CD19^{+dim}$ соответствует адаптивным NK-лимфоцитам — особенной популяции клеток, формирование которой связано с цитомегаловирусной инфекцией [3]. Стабильные эпигенетические модификации, возникающие под влиянием цитомегаловируса (ЦМВ), приводят к изменению клеточного метаболизма, увеличению продолжительности жизни адаптивных NK-лимфоцитов и определяют преимущественную экспрессию молекул, опосредующих участие в реакциях антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ) с вовлечением CD16, но не противоопухолевую активность, опосредованную рецепторами естественной цитотоксичности [19].

В недавних экспериментальных исследованиях была показана возможность различных исходов взаимодействия В-лимфоцитов, опсонизированных гликопротеином gp350 вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ), и NK-клеток в зависимости от вовлечения клетки-мишени в инфекционный процесс при наличии соответствующих специфических антител. Если в инфицированном В-лимфоците ВЭБ находится в литической фазе жизненного цикла, осуществляя активную репродукцию с формированием новых вирионов, то результатом является развитие реакций антителозависимой клеточной цитотоксичности и лизис В-лимфоцита. При взаимодействии с неинфицированной В-клеткой, имеющей на мембране связавшуюся с CD21 вирусную частицу, жизнеспособность клетки-мишени чаще всего сохраняется [21]. В последнем случае, как было продемонстрировано в более поздних экспериментальных исследованиях этого коллектива, элиминация ВЭБ осуществляется посредством антителозависимого трогоцитоза — захвата и переноса NK-клеткой фрагмента мембраны В-лимфоцита с вирусной частицей — и последующей интернализацией вируса в ранние эндосомы и лизосомы NK-клетки [4]. Трогоцитоз в условиях *in vitro* приводил к появлению на мембране NK-клеток ряда молекул клетки-донора, а именно CD19, CD20 и CD21. Однако фенотипирование $CD19^{+}$ NK-клеток периферической крови пациентов с различными заболеваниями не выявило экспрессии других В-клеточных антигенов [3, 15, 26]. Тем не менее гипотеза о трогоцитозе В-клеток, опсонизированных ВЭБ, как причине появления CD19 на мембране NK-клеток представляется убедительной, и служит основанием для предположения о существовании взаимосвязи выявления в крови пациентов субпопуляции $CD19^{+}$ NK-лимфоцитов с активацией хронической ВЭБ-инфекции.

Цель исследования: определить факторы, способствующие появлению в периферической крови субпопуляции $CD56^{+}CD19^{+dim}$ NK-лимфоцитов у пациентов с герпетической инфекцией.

Материалы и методы

Проанализированы результаты обследования пациентов с клиническими симптомами герпетической инфекции (n = 225), обратившихся к врачу-инфекционисту в период с 2015 по 2023 г. для клинико-лабораторного обследования и лечения. Значительная часть лиц имела в анамнезе лабораторно подтвержденную хроническую персистирующую герпетическую инфекцию: у 29% — ассоциированную с ВЭБ, у 2,2% — ассоциированную с ЦМВ, у 10% — микст-вирусную инфекцию. Некоторые пациенты наблюдались на протяжении нескольких лет, им обследование проводили неоднократно. Выполнено 255 комплексных лабораторных исследований. Средний возраст пациентов составил 34,6±8,5 лет, преобладали женщины (71%).

Лабораторные исследования проводились на базе ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России и включали: определение в сыворотке крови иммуноглобулинов классов M и G (IgG с индексом авидности) к антигенам ЦМВ (n = 255), общих иммуноглобулинов классов A, M, G (n = 24); выявление ДНК ЦМВ и ВЭБ в слюне (n = 255), крови (n = 180) и других биологических жидкостях (n = 18); изучение субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови (n = 255) с оценкой содержания $CD56^{+}CD19^{+dim}$ субпопуляции NK-лимфоцитов.

Взятие крови проводили из локтевой вены с использованием вакутейнеров с ЭДТА или активатором свертывания. Взятие слюны осуществляли в стерильный пластиковый контейнер с завинчивающейся крышкой после трехкратного полоскания полости рта кипяченой водой.

Концентрацию общих иммуноглобулинов оценивали методом турбидиметрии (DxC 700AU, реактивы и прибор Beckman Coulter, США). Содержание специфических иммуноглобулинов к белкам ЦМВ определяли следующими методами: IgM — методом иммунохемилюминесценции (Immulite 2000, Siemens, США),

IgG с индексом авидности — иммуноферментного анализа (ВектоЦМВ-IgG-авидность, АО «Вектор-Бест», Россия). Определение концентрации вирусной ДНК в биологических жидкостях проводили методом ПЦР-РВ (Ампли-Сенс EBV/HHV6/CMV-FL, ЦНИИ эпидемиологии, Россия). При выявлении вирусных ДНК в биологических жидкостях говорили об активной местной репликации соответствующего вируса.

Для оценки субпопуляционного состава лимфоцитов использовали восьмицветную панель моноклональных антител: HLADR-FITC, CD4-PE, CD3-ECD, CD56-PC5.5, CD25-PC7, CD8-APC, CD19-APC-AF700, CD45-APC-AF750. Для лизиса эритроцитов применяли VersaLyse. Анализ образцов проводили на проточном цитофлюориметре Navios в соответствии с инструкциями к реактивам (реактивы и прибор Beckman Coulter, США). При исследовании субпопуляционного состава лимфоцитов накопление проводили до 5000 событий в лимфоцитарном регионе, определяемом как $CD45^{+bright}FS^{dim}SS^{dim}$. Субпопуляцию NK-лимфоцитов с коэкспрессией CD19 ($CD56^{+}CD19^{+dim}$) оценивали как $CD56^{+}CD19^{+dim}CD3^{-}HLADR^{-+dim}$ клетки и считали положительной при выявлении более 10 событий в целевом регионе, что составляло 0,2% и более от лимфоцитов.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета Statistica 12.0 (StatSoft). Для выявления и оценки тесноты связи между количественными признаками использовали непараметрический корреляционный анализ по Спирмену. Частотный анализ проводили с использованием четырехпольных таблиц сопряженности на основании критерия χ^2 Пирсона. Для сравнения групп использовали критерий Манна–Уитни. Статистически значимыми различия сравниваемых показателей считали при $p < 0,05$.

Результаты

Наличие в крови субпопуляции NK-лимфоцитов с коэкспрессией CD19 связано с предшествующей ЦМВ-инфекцией

Субпопуляция $CD56^{+}CD19^{+dim}$ клеток (рис. 1) выявлена в 21 образце крови 18 человек.

Частота встречаемости субпопуляции $CD56^{+}CD19^{+dim}$ среди всех обследованных лиц составила 8%. Эти клетки выявлены только в образцах крови пациентов, имевших ЦМВ-инфекцию в анамнезе и положительные результаты определения высокоавидных специфических IgG к ЦМВ в сыворотке крови.

Всего высокоавидные IgG к ЦМВ были выявлены у 187 человек, в этой группе частота встречаемости субпопуляции $CD56^{+}CD19^{+dim}$ составила 9,6%. У троих пациентов были выявлены специфические IgM к цитомегаловирусу: у 2-х имела место первичная ЦМВ-инфекция, у 1-го — реактивация хронической инфекции.

Наличие в крови субпопуляции NK-лимфоцитов с коэкспрессией CD19 связано с активной репликацией ВЭБ

Результаты определения вирусных ДНК в биологических жидкостях пациентов, имевших высокоавидные IgG к ЦМВ, позволили выделить четыре подгруппы: 1 — лица без лабораторных признаков активной репликации герпесвирусов, 2 — репликация только ЦМВ, 3 — репликация только ВЭБ, 4 — репликация обоих вирусов. Оценка частоты встречаемости субпопуляции $CD56^{+}CD19^{+dim}$ лимфоцитов в крови обследованных лиц в зависимости от выявления IgG к ЦМВ и наличия ДНК герпесвирусов в биологических жидкостях представлена на рис. 2.

Как видно из рис. 2, субпопуляция $CD56^{+}CD19^{+dim}$ клеток не была выявлена в крови как пациентов без ЦМВ-инфекции в анам-

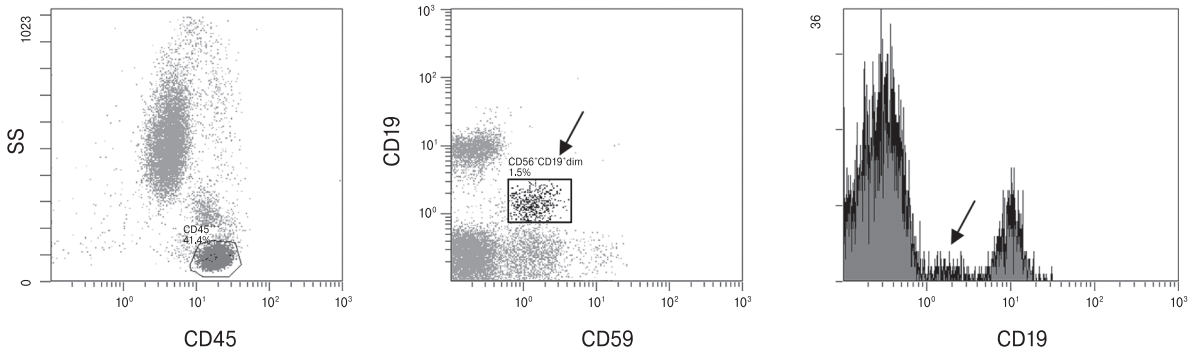


Рисунок 1. Субпопуляция $CD56^{+}CD19^{+dim}$ клеток в периферической крови (пациент Д., 45 лет)

Figure 1. Subpopulation of $CD56^{+}CD19^{+dim}$ cells in peripheral blood (patient D., 45 years old)

Примечание. Субпопуляция $CD56^{+}CD19^{+dim}$ клеток выделена черной рамкой и стрелкой.

Note. Subpopulation of $CD56^{+}CD19^{+dim}$ cells is highlighted in black frame and an arrow.

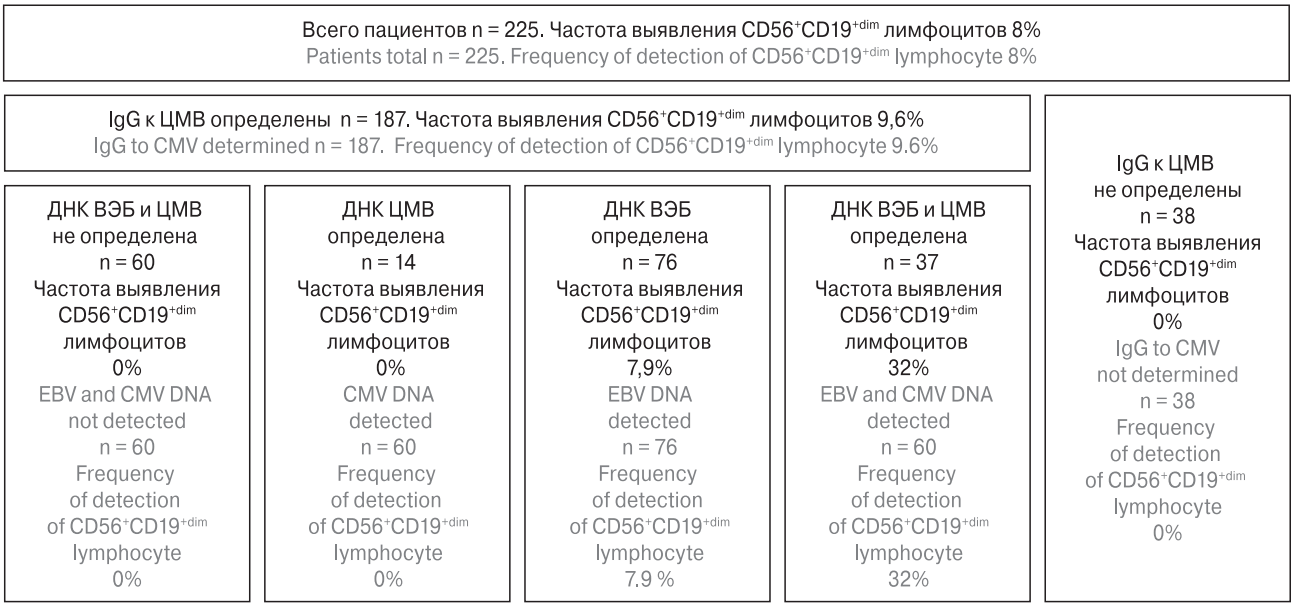


Рисунок 2. Частота выявления субпопуляции $CD56^+CD19^{+dim}$ лимфоцитов в крови пациентов в зависимости от наличия вирусных ДНК в биологических жидкостях

Figure 2. Frequency of detection of the $CD56^+CD19^{+dim}$ lymphocyte subpopulation in the blood of patients depending on the presence of viral DNA in biological fluids

незе, так и у лиц, имевших высокоавидные IgG к ЦМВ, но без активной репликации ВЭБ на момент обследования. Таким образом, было сделано предположение о необходимости выполнения двух условий для появления в крови $CD19^+$ NK-лимфоцитов. Первое — встреча с цитомегаловирусной инфекцией, приводящей к формированию пула адаптивных NK-клеток. Второе — наличие активной репликации ВЭБ.

Активная сочетанная репликация герпесвирусов увеличивает вероятность появления $CD19^+$ NK

У всех пациентов, в крови которых была определена субпопуляция $CD56^+CD19^{+dim}$ клеток, выявлена активная репликация вирусов герпеса в биологических жидкостях, в 12 случаях — обоих вирусов, в 6 — только ВЭБ (табл. 1). Необходимо отметить, что высокое содержание копий ДНК ВЭБ в биологических жидкостях пациентов было связано с клинической картиной активации хронической ВЭБ-инфекции, потребовавшей назначения врачом-инфекционистом специфической терапии. В табл. 1 результаты обследования пациентов 4 и 11 представлены в динамике, у пациента 11 при последнем визите клетки $CD56^+CD19^{+dim}$ в крови не определены.

Выявлена средняя сила связи между наличием в биологической жидкости ДНК каждого из вирусов и присутствием субпопуляции $CD56^+CD19^{+dim}$ лимфоцитов в периферической крови (значения χ^2 при факторе риска «наличие ДНК ВЭБ» — 14,1, $p < 0,001$; при факторе

Таблица 1. Содержание ДНК вирусов ВЭБ и ЦМВ в биологической жидкости пациентов, имеющих в крови субпопуляцию $CD56^+CD19^{+dim}$ клеток (21 образец 18 пациентов)

Table 1. The content of EBV and CMV virus DNA in the biological fluid of patients with a subpopulation of $CD56^+CD19^{+dim}$ cells in the blood (21 samples of 18 patients)

№	Доля $CD56^+CD19^{+dim}$ от лимфоцитов, % Proportion $CD56^+CD19^+$dim from lymphocytes, %	ЦМВ, копий ДНК/мл CMV, DNA/ml	ВЭБ, копий ДНК/мл EBV, DNA/ml
1	0,3	0	$1,6 \times 10^3$
2	0,2	$1,3 \times 10^3$	$2,3 \times 10^3$
3	0,3	0	$1,7 \times 107$
4	1,2	$0,4 \times 10^3$	$2,5 \times 10^3$
	1,2	$0,4 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$
	0,5	0	$1,8 \times 10^3$
5	0,4	$1,2 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$
6	8,8	0	$1,0 \times 10^5$
7	0,2	$8,0 \times 10^4$	$1,5 \times 10^3$
8	0,2	$1,3 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$
9	0,3	$9,3 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$
10	0,7	$1,5 \times 10^3$	$3,8 \times 10^4$
11	0,3	$0,4 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$
	0,2	0	$6,2 \times 10^5$
	0,0	0	$6,9 \times 10^5$
12	0,2	$0,5 \times 10^3$	$6,1 \times 10^3$
13	0,2	$2,2 \times 10^4$	$8,1 \times 10^4$
14	0,6	0	$9,9 \times 10^3$
15	0,2	$6,0 \times 10^3$	$6,5 \times 10^5$
16	0,2	$6,2 \times 10^3$	$2,9 \times 10^5$
17	5,9	0	$1,0 \times 10^3$
18	0,4	0	$1,6 \times 10^3$

риска «наличие ДНК ЦМВ» — 22,5, $p < 0,001$). Определена относительно сильная сила связи между выявлением в биологической жидкости ДНК обоих вирусов и присутствием субпопуляции $CD56^+CD19^{+dim}$ лимфоцитов в периферической крови (значение χ^2 37,6, $p < 0,001$).

Относительное количество NK-лимфоцитов с коэкспрессией CD19 в крови снижается при отсутствии репликативной активности ЦМВ

Ранее мы описывали результаты многолетних наблюдений за пациенткой, в крови которой субпопуляция $CD56^+CD19^{+dim}$ была определена при втором и последующих обследованиях, совершавшихся в среднем с полугодовыми интервалами [3]. Субпопуляция сохранялась на протяжении шести лет, изменяясь от 0,3% лимфоцитов при втором визите до 0,9% во время третьего, далее снижаясь до 0,2% к концу наблюдений. Отсутствие анамнестических данных и результатов дополнительных лабораторных исследований не позволило связать появление в периферии субпопуляции $CD19^+$ NK-клеток с наличием заболевания. В ходе текущего исследования на протяжении нескольких лет наблюдали двух пациентов с субпопуляцией $CD56^+CD19^{+dim}$ в крови (пациенты 4 и 11 в табл. 1). При первом обследовании в слюне обоих лиц была определена ДНК ЦМВ и ВЭБ и максимальное количество $CD56^+CD19^{+dim}$ NK-лимфоцитов в периферической крови. При повторных наблюдениях сохранялась персистенция ВЭБ при отсутствии ЦМВ. Вместе с этим в крови снижалось относительное количество $CD19^+$ NK-клеток (рис. 3).

Максимальное относительное количество $CD56^+CD19^{+dim}$ лимфоцитов в образцах крови обоих пациентов наблюдали при активной репликации обоих вирусов. В случае отсутствия в слюне ДНК цитомегаловируса при сохранении репликации ВЭБ доля $CD19^+$ NK-лимфоцитов снижалась у обоих пациентов, в последнем случае при исходно малом объеме субпопуляции до значений ниже чувствительности исследования при наборе 5000 событий в лимфоцитарном регионе (рис. 3Б).

Среди лиц с активной репликацией ЦМВ и ВЭБ субпопуляция NK-лимфоцитов с коэкспрессией CD19 не отмечается у пациентов со скомпрометированным гуморальным иммунным ответом

Нами было показано, что высокая вероятность появления в периферической крови субпопуляции $CD56^+CD19^{+dim}$ лимфоцитов и ее максимальная численность связана с активной репликацией обоих вирусов. Тем не менее в нашем исследовании далеко не у всех лиц с клиническими и лабораторными признаками сочетанной герпетической инфекции была определена интересующая нас субпопуляция клеток — среди 37 человек с сочетанной репликацией вирусов субпопуляция $CD19^+$ NK-лимфоцитов в крови отмечалась только у 12 пациентов (32%). Следовательно, наряду с текущей или относительно недавней ЦМВ-инфекцией активная репликация вируса Эпштейна–Барр является необходимым, но не достаточным условием появления/сохранения в периферической крови этой субпопуляции NK-клеток.

Для поиска возможной причины наличия или отсутствия в периферической крови пациентов субпопуляции $CD56^+CD19^{+dim}$ лимфоцитов были проанализированы анамнестические данные (возраст, длительность течения герпетических инфекций, сопутствующая патология) и концентрация в сыворотке крови общих иммуноглобулинов классов A, M, G как характеристика интегрального гуморального иммунного ответа. В медицинской информаци-

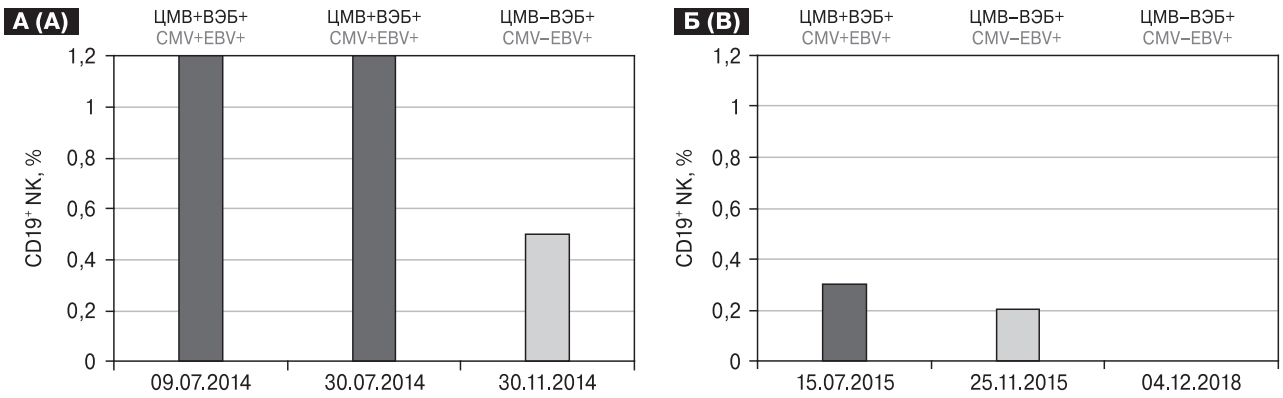


Рисунок 3. Динамика изменения относительного количества $CD56^+CD19^{+dim}$ NK-лимфоцитов в крови при различном содержании вирусных ДНК в слюне пациентов 4 (А) и 11 (Б)

Figure 3. Dynamics of changes in the relative number of $CD56^+CD19^{+dim}$ NK lymphocytes in the blood with different levels of viral DNA in the saliva of patients 4 (A) and 11 (B)

онной системе необходимые сведения имелись у 24 человек. В группу 1 вошли лица, в крови которых была определена целевая популяция клеток (n = 12), в группу 2 — без таковой (n = 12). Пациенты первой группы были моложе лиц второй группы (28,2±11,6 лет vs 47,1±18,9 лет, $p < 0,05$). Статистическое сравнение длительности инфекционных заболеваний между группами не проводили ввиду ее приблизительной оценки. Тем не менее сложилось впечатление о более длительном среднем стаже заболевания ВЭБ у лиц группы 1 (4,5 года против 2,3 лет) при сопоставимом среднем стаже заболевания ЦМВ (около 3,3 лет в обеих группах).

В сыворотках всех пациентов группы 1 были определены специфические высокоавидные IgG антитела к ЦМВ. Среди пациентов группы 2 у двоих имела место первичная ЦМВ-инфекция (выявлены специфические IgM и низкоавидные IgG), специфические высокоавидные IgG антитела к ЦМВ определены у 10 пациентов.

Анамнестические данные и результаты определения общих иммуноглобулинов классов A, M и G в сыворотке пациентов групп 1 и 2 представлены в таблицах 2 и 3 соответственно.

У троих пациентов (25%) группы 1 отмечено снижение содержания в сыворотке общих иммуноглобулинов какого-либо класса, из них в двух случаях выявлено снижение IgG.

Снижение концентрации иммуноглобулинов какого-либо класса в сыворотке пациентов группы 2 ниже возрастной нормы отмечено в два раза чаще — в 58% случаев (n = 7) против 25% в группе 1, из них в четырех случаях — снижение IgG. Анализ анамнестических данных пациентов второй группы выявил у значительной части лиц наличие заболеваний, приводящих к нарушению гуморального иммунного ответа. Среди них прогрессирующая ВИЧ-инфекция без антиретровирусной терапии, хронические В-клеточные лимфопролиферативные заболевания, иммунодефицит с преимущественным дефектом продукции антител, вторичное иммунодефицитное состояние. Следовательно, состоятельность гуморального звена иммунитета можно рассматривать как один из факторов, влияющих на возможность появления в периферической крови субпопуляции $CD56^{+}CD19^{+dim}$ лимфоцитов.

Обсуждение

В нашем исследовании показана взаимосвязь появления в периферической крови субпопуляции $CD19^{+}$ NK-клеток с наличием ЦМВ-инфекции текущей или в анамнезе. У большинства пациентов с $CD19^{+}$ NK-лимфоцитами в крови репликация ЦМВ в биологических жидкостях имела место на момент обследования, у некоторых отмечалась ранее. Нами выявлено, что помимо ЦМВ-инфекции для присутствия в крови $CD56^{+}CD19^{+dim}$ лимфоцитов необходима активная репликация ВЭБ.

Следует отметить, что у всех пациентов с субпопуляцией $CD19^{+}$ NK-клеток в крови ВЭБ-инфекция имела продолжительное хроническое течение — длительность заболевания на момент обследования составляла не менее 7 месяцев, в среднем около двух лет. Популяция NK-клеток со слабой экспрессией CD19 в нашем исследовании выявлена только у пациентов с реактивацией хронической ВЭБ-инфекции, достигая частоты встречаемости 32% среди лиц с активной репликацией обоих вирусов. Динамическое наблюдение за некоторыми пациентами показало возможность многолетней персистенции $CD19^{+}$ NK-лимфоцитов в крови с постепенным снижением численности при отсутствии репликативной активности ЦМВ. Отсутствие $CD56^{+}CD19^{+dim}$ лимфоцитов у лиц с активной сочетанной герпетической инфекцией в ряде случаев было связано с нарушением гуморального иммунного ответа.

Ранее проведенное нами фенотипирование субпопуляции NK-клеток с коэкспрессией CD19 позволило отнести эти клетки к адаптивным NK-лимфоцитом [3], появление которых связано с цитомегаловирусной инфекцией. Фенотип этих клеток чаще всего описывают как $NKG2C^{+/-}CD57^{+bright}CD2^{+bright}CD7^{+dim}$ $CD16^{+dim}CD38^{+dim}Fc\varepsilon R1\gamma^{-}$ [13]. Первая встреча с цитомегаловирусом происходит, как правило, в детском возрасте, поражая от 60 до 100% взрослого населения планеты. Среди подростков и лиц молодого возраста отмечается вторая волна инфицирования ЦМВ [2]. В России среди подростков 14–16 лет число серопозитивных лиц составляет в среднем 73% [1]. Согласно литературным данным, популяция адаптивных NK-лимфоцитов увеличивается в остром периоде первичной ЦМВ-инфекции, достигает максимальных значений к концу второй недели после инфицирования и постепенно снижается к 20-му дню заболевания [27]. В дальнейшем эти клетки персистируют в течение нескольких лет, изменяя численность в зависимости от активности ЦМВ [20]. Таким образом, максимальное количество адаптивных NK-лимфоцитов отмечается у лиц детского и молодого возраста с постепенным снижением популяции при отсутствии репликации вируса.

Помимо увеличенной продолжительности жизни, адаптивные NK-клетки обладают усиленной способностью к участию в реакциях антителозависимой клеточной цитотоксич-

Таблица 2. Анамнестические данные и концентрация общих иммуноглобулинов пациентов группы 1
Table 2. Anamnestic data and concentration of total immunoglobulins of patients in group 1

№	Пол Sex	Возраст, лет Age, years	Анамнестические данные согласно медицинской документации Anamnestic data from medical records	IgA, г/л IgA, g/l	IgM, г/л IgM, g/l	IgG, г/л IgG, g/l
1	**М** M	31	**Нисходящая частичная атрофия зрительного нерва обоих глаз** **Наследственная оптическая нейропатия Лебера** Descending partial atrophy of the optic nerve of both eyes Leber's optic neuropathy	1,2	1,3	6,1*
2	**Ж** F	28	**Синдром Гийена-Барре** **Поллиноз** **Риноконъюнктивит** Guillain–Barré syndrome Hay fever Rhinoconjunctivitis	1,6	1,7	12,89
3	**Ж** F	33	**Энцефалопатия сосудистого генеза** **Нейросенсорная тугоухость легкая форма** Vascular encephalopathy Sensorineural hearing loss mild form	2,1	1,4	9,4
4	**М** M	3	**Нарушения, вовлекающие иммунные механизмы, неуточненные** Disorders involving immune mechanisms, unspecified	0,8	1,2	8,29
5	**М** M	45	**Хронический билиарнозависимый панкреатит в фазе обострения** **Хронический эрозивный антральный гастрит, обострение** Exacerbation of chronic pancreatitis Exacerbation of chronic erosive gastritis	2,1	0,7	7,7*
6	**Ж** F	29	**Хронический пангастрит HP- с эрозиями антрального отдела, обострение** **Хронический дуоденит обострение** Exacerbation of chronic erosive antral gastritis HP- Exacerbation of chronic duodenitis	1,9	1,2	11,7
7	**М** M	2,5	**Вторичные нарушения параметров иммунитета на фоне вирусной инфекции** Secondary immune disorders due to viral infection	0,7	0,6*	9,5
8	**Ж** F	27	**Апластическая анемия, тяжелая форма** **Пароксизмальная ночная гемоглобинурия** Severe aplastic anemia Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	2,0	0,92	14,12
9	**М** M	10	**Воспалительный процесс вирусной этиологии, вялотекущий** **Поллиноз** **Бытовая сенсибилизация** Viral infection Hay fever Sensitization to household allergens	1,4	1,0	15,8
10	**М** M	40	**Нарушения, вовлекающие иммунные механизмы, неуточненные** Disorders involving immune mechanisms, unspecified	1,6	0,8	11,52
11	**Ж** F	32	**Нарушения, вовлекающие иммунные механизмы, неуточненные** Disorders involving immune mechanisms, unspecified	1,2	1,1	9,9
12	**Ж** F	58	**Кандидозный эзофагит** Candidal esophagitis	1,5	2,7**	10,5

Примечание. * — результат ниже возрастной нормы; ** — результат выше возрастной нормы.
Note. * — the result is below the age norm; ** — the result is above the age norm.

Таблица 3. Анамнестические данные и концентрация общих иммуноглобулинов у пациентов группы 2
Table 3. Anamnestic data and concentration of total immunoglobulins in patients of group 2

№	Пол Sex	Возраст, лет Age, years	Анамнестические данные согласно медицинской документации Anamnestic data from medical records	IgA, г/л	IgM, г/л	IgG, г/л
1	Ж F	8	**Нарушения, вовлекающие иммунные механизмы, неуточненные** Disorders involving immune mechanisms, unspecified	1,4	1,7	15,0
2	Ж F	57	**ВИЧ-инфекция, прогрессирование без антиретровирусной терапии** HIV infection, progression without antiretroviral therapy	6,6**	0,7	8,7
3	М M	65	**Атопическая бронхиальная астма** **Вторичное иммунодефицитное состояние** Atopic bronchial asthma Secondary immunodeficiency	4,0	1,0	13,25
4	Ж F	3	**Иммунодефицит с преимущественным дефектом антител неуточненный** Antibody immunodeficiency, unspecified	< 0,06*	1,0	5,71*
5	М M	36	**ВИЧ-инфекция 4В стадия, прогрессирование без антиретровирусной терапии** HIV infection stage 4B, progression without antiretroviral therapy	2,1	1,4	23,2**
6	М M	70	**В-клеточная лимфома ЦНС** CNS B-cell lymphoma	0,64*	0,35*	12,23
7	М M	81	**В-клеточная лимфома из малых лимфоцитов** Small B-cell lymphoma	< 0,06*	< 0,25*	5,9*
8	Ж F	55	**Нарушения, вовлекающие иммунные механизмы, неуточненные** Disorders involving immune mechanisms, unspecified	1,3	1,5	8,1
9	Ж F	58	**Первичная ЦМВ-инфекция** **ВПЧ-инфекция** **Вторичное иммунодефицитное состояние** Primary CMV infection HPV infection Secondary immunodeficiency	0,8*	1,7	8,6
10	М M	39	**Нарушения, вовлекающие иммунные механизмы, неуточненные** **Бронхиальная астма, неаллергическая** Disorders involving immune mechanisms, unspecified Nonatopic bronchial asthma	1,44	0,41*	5,6*
11	М M	57	**Гипертоническая болезнь II стадии** **Дисметаболическая кардиомиопатия** Stage II hypertension Dysmetabolic cardiomyopathy	1,33	1,87	6,05*
12	Ж F	36	**Первичная ЦМВ-инфекция** **Вторичное иммунодефицитное состояние** **Аутоиммунный тиреоидит** Primary CMV infection Secondary immunodeficiency Autoimmune thyroiditis	0,8*	1,0	8,6

Примечание. * — результат ниже возрастной нормы; ** — результат выше возрастной нормы.
Note. * — the result is below the age norm; ** — the result is above the age norm.

ности [24, 31]. Функциональные особенности адаптивных NK-лимфоцитов связаны с уникальным фенотипом, в частности, с высокой экспрессией костимуляторной молекулы CD2 и проведением сигнала от CD16 (FcγRIIIa) с помощью CD3ζ. Как молекула адгезии CD2 участвует в стабилизации межклеточных контактов для формирования иммунного синапса, взаимодействуя с CD58 на антигенпрезентирующих клетках, в том числе на В-лимфоцитах [23]. Кроме того, эта молекула служит связующим звеном между CD16 и актиновым цитоскелетом, облегчая перемещение молекул в иммунологическом синапсе NK-клеток [5]. Только для субпопуляции адаптивных NK-лимфоцитов показана возможность тесной взаимосвязи между молекулами CD2 и FcγRIIIa: CD16 стабилизирует экспрессию CD2, обе молекулы совместно локализуются в иммунном синапсе, что позволяет CD2 подключиться к сигнальному пути от CD16. Это приводит к значительно более высоким уровням фосфорилирования всех сигнальных молекул, снижая порог активации адаптивных NK-лимфоцитов для реализации эффективной АЗКЦ. Интересно, что костимулирующий эффект CD2 в реакциях АЗКЦ зависит от концентрации специфических IgG к антигенам клетки-мишени: при низких титрах IgG он значительно выше [18].

Механизмы, позволяющие NK-лимфоцитам контролировать ВЭБ на разных этапах инфекционного процесса, изучались с использованием различных экспериментальных моделей группой исследователей под руководством M. Lopez-Montañés. Было показано, что в зависимости от степени поражения В-лимфоцита вирусом его взаимодействие с NK-клеткой может приводить не только к лизису инфицированного В-лимфоцита, но и к сохранению жизнеспособности неинфицированной В-клетки, опсонизированной вирусной частицей [4, 21]. В последнем случае элиминация вируса осуществлялась путем FcγRIIIa-зависимого трогоцитоза фрагмента мембраны В-клетки с прикрепленной к CD21 частицей ВЭБ в присутствии специфических IgG. Появление на поверхности NK-лимфоцита В-клеточных молекул CD19, CD20 и CD21 в экспериментах *in vitro* было следствием процесса трогоцитоза. Авторами было высказано предположение о том, что CD16-зависимый трогоцитоз может являться альтернативным механизмом элиминации вирусов. Таким образом, наиболее вероятным объяснением появления экспрессии В-клеточных антигенов на поверхности NK-лимфоцитов периферической крови пациентов с острой ВЭБ-инфекцией является FcγRIIIa-зависимый трогоцитоз фрагмента мембраны В-клетки.

Трогоцитоз — это активный кальций-зависимый рецептор-индуцированный контактно-опосредованный перенос участков мембраны, содержащих как молекулы, играющие роль в межклеточных взаимодействиях, так и соседние молекулы [10, 14]. Возможность трогоцитоза обеспечивается выполнением ряда условий, что предопределяет относительную редкость его детекции. Для его осуществления необходимо формирование иммунного синапса между клеткой-реципиентом и клеткой-донором с высокоаффинной связью в центральной зоне супрамолекулярного активационного кластера, а также с высокой плотностью экспрессии костимуляторных молекул и молекул адгезии в его периферической зоне [22]. Таким образом, для трогоцитоза NK-клеткой фрагмента мембраны В-лимфоцита должно быть обеспечено устойчивое взаимодействие на всех этапах цепи от В-клетки, опсонизированной вирусом, до NK-лимфоцита: CD21 — gp350 ВЭБ — специфические IgG к gp350 — CD16a (FcγRIIIa) (рис. 4).

Это условие может быть обеспечено присутствием в крови высокоаффинных IgG к поверхностному гликопротеину gp350 вируса Эпштейна–Барр, высоким сродством FcγRIIIa на NK-клетках к Fc-домену специфических IgG и повышенной экспрессией адгезионной молекулы CD2, что показано для адаптивных NK-лимфоцитов.

Гликопротеин gp350 вируса Эпштейна–Барр, опосредующий проникновение вирусной частицы в В-лимфоцит через связывание с CD21, является основной мишенью для нейтрализующих антител [29]. Результаты исследований последних лет свидетельствуют о том, что специфические высокоаффинные нейтрализующие IgG антитела к поверхностным антигенам вирусов являются, как правило, афукозилированными, обладая сродством к FcγRIIIa, в десятки раз превышающим сродство фукозилированных IgG [8, 16]. Высокое сродство анти-gp350 IgG к CD16 — один из факторов, обеспечивающих формирование устойчивой связи между клеткой-эффектором и мишенью, что способствует как эффективной АЗКЦ, так и трогоцитозу даже при связывании с низкоаффинным рецептором к иммуноглобулину G, каким является FcγRIIIa.

Титры нейтрализующих IgG к gp350 увеличиваются в течение нескольких месяцев после первичного заражения и достигают пиковых значений в среднем к 2,5 годам [6]. По-видимому, длительность хронической ВЭБ-инфекции немаловажна для возможности трогоцитоза, поскольку определяет концентрацию высокоаффинных нейтрализующих IgG к gp350. При низких титрах IgG костимулирующий эффект CD2

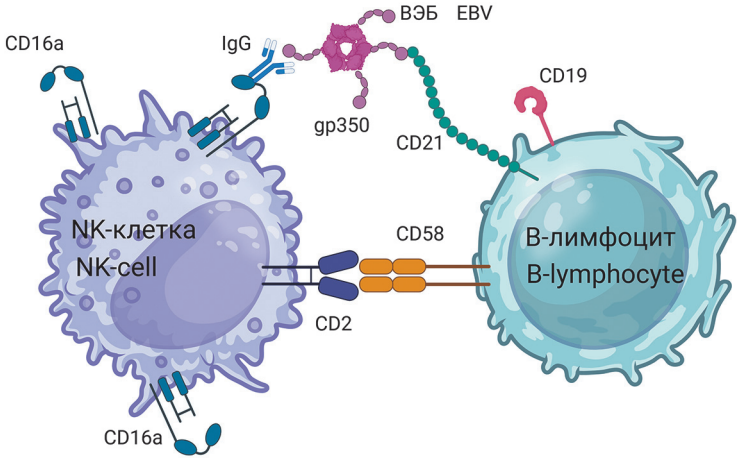


Рисунок 4. Взаимодействие B-лимфоцита и NK-клетки при ВЭБ-инфекции. Рисунок создан с помощью программного обеспечения BioRender (https://biorender.com)

Figure 4. Interaction of B-lymphocyte and NK-cell during EBV infection. Image created using software BioRender (https://biorender.com)

для проведения сигнала от CD16 значительно выше [18] и способствует развитию АЗКЦ и гибели В-клетки, что обеспечивает контроль активной вирусной инфекции при незначительном содержании антител. Вероятно, при высоких концентрациях IgG к gp350 выраженная экспрессия молекул CD2 на адаптивных NK-клетках необходима только для формирования устойчивого межклеточного контакта, требующегося для осуществления АЗКЦ и/или трогоцитоза. При этом практически нет усиления сигнала от CD16 с участием CD2, что затрудняет развитие АЗКЦ, но не мешает трогоцитозу. Результаты исследования Alari-Pahissa E. и соавт. (2021) подтверждают предположение о минимальном вовлечении CD2 в межклеточное взаимодействие при FcγRIIIa-зависимом трогоцитозе В-лимфоцитов [4].

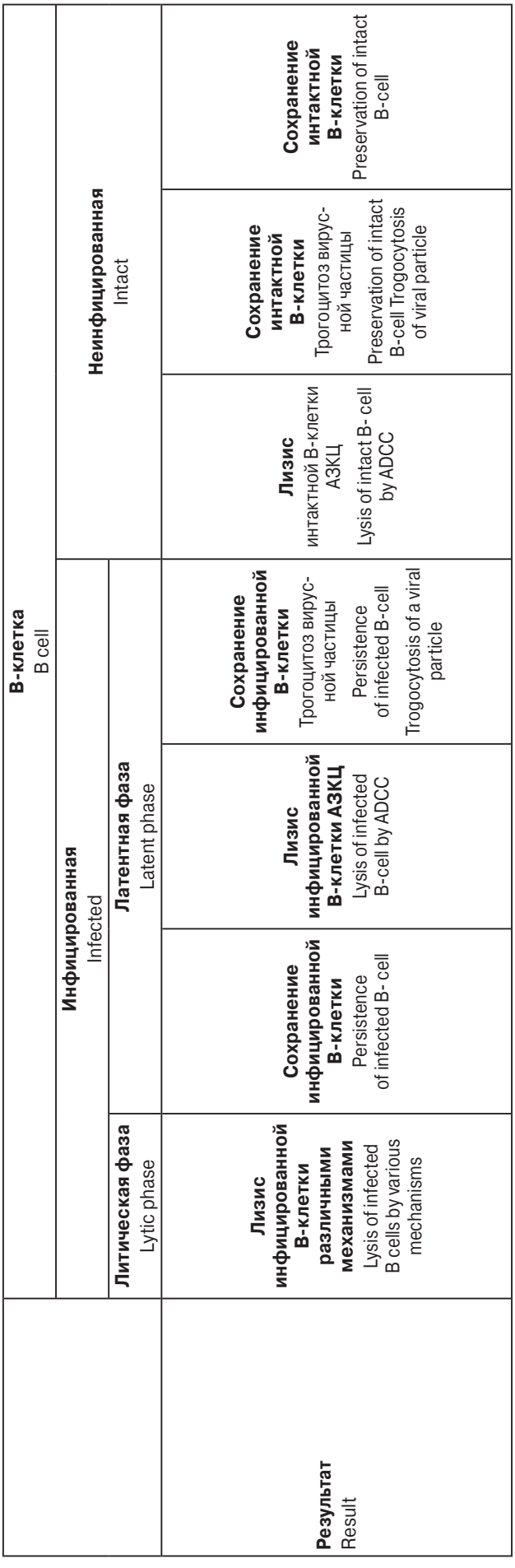
Распознавание NK-клеткой В-лимфоцита и итог межклеточного взаимодействия при ВЭБ-инфекции зависит от спектра молекул на поверхности клетки-эффектора и клетки-мишени, а также наличия и концентрации антител к белкам ВЭБ. В случае первичной ВЭБ-инфекции связывание gp350 вирусной частицы с CD21 на В-лимфоците приводит к его инфицированию. При активной репликации ВЭБ в литической фазе жизненного цикла вируса в В-клетке индуцируется синтез вирусных белков и стресс-индуцированных молекул ULBP1, которые являются лигандами для активирующего рецептора NK-клеток NKG2D, с дальнейшей реализацией программы гибели инфицированной клетки-мишени с помощью различных механизмов — естественной цитотоксичности, синтеза цитокинов, антителозависимой клеточной цитотоксичности [30]. В случае хронической ВЭБ-инфекции наличие нейтрализующих антител сдерживает инфекционный процесс, позволяя адаптивным NK-лимфоцитам распознавать $gp350^{+}$ В-клетки, опсонизированные вирусными частицами, но в остальном сохраняющие нормальную экспрессию поверхностных молекул. Итог такого взаимодействия зависит от концентрации высокоаффинных IgG к gp350: при высоком содержании более вероятен трогоцитоз фрагмента мембраны В-лимфоцита вместе с вирусной частицей с сохранением жизнеспособности В-клетки, при низком содержании — лизис В-клетки через развитие реакций АЗКЦ. Поскольку сведения о различии в результатах взаимодействия NK-клетки и В-лимфоцита в зависимости от наличия нейтрализующих антител и степени вовлечения В-клетки были получены в экспериментальных условиях в серии работ M. Lopez-Montañés, то остается открытым вопрос: касается ли это только интактных $gp350^{+}$ В-лимфоцитов или также и инфицированных В-клеток с ВЭБ в латентной фазе. Во втором случае сохранение жизнеспособности инфицированной В-клетки будет способствовать персистенции вируса. Отсутствие экспрессии вирусных, а также стресс-индуцированных белков на мембране В-лимфоцита препятствует его распознаванию NK-клеткой, как это отмечается для инфицированных В-лимфоцитов в латентной фазе ВЭБ, или интактных В-клеток (табл. 4).

Следовательно, можно предположить, что на ранних сроках ВЭБ-инфекции или при недостаточном синтезе специфических IgG в результате нарушения гуморального иммунного ответа более вероятно участие адаптивных NK-клеток в противовирусном иммунитете с развитием АЗКЦ и лизисом интактных

Таблица 4. Возможный исход взаимодействия NK- и B-клеток при инфекции вирусом Эпштейна–Барр

Table 4. Possible outcome of the interaction of NK and B cells during Epstein–Barr virus infection

<table>
<tr><td rowspan="3"></td><td colspan="6">B-клетка
B cell</td></tr>
<tr><td colspan="3">Инфицированная
Infected</td><td colspan="3" rowspan="2">Неинфицированная
Intact</td></tr>
<tr><td>Литическая фаза
Lytic phase</td><td colspan="2">Латентная фаза
Latent phase</td></tr>
<tr><td></td><td></td><td>Нет опсонизации вирусной частицей
No opsonization by viral particle</td><td colspan="2">Есть опсонизация вирусной частицей
There is opsonization by a viral particle</td><td colspan="2">Есть опсонизация вирусной частицей
There is opsonization by a viral particle</td><td>Нет опсонизации вирусной частицей
No opsonization by viral particle</td></tr>
<tr><td>Экспрессия на мембране B-клетки gp350
Expression of gp350 on B cell membrane</td><td>+</td><td>–</td><td colspan="2">+</td><td colspan="2">+</td><td>–</td></tr>
<tr><td>Экспрессия на мембране B-клетки стресс-индуцированных молекул
Expression of stress-induced molecules on the B cell membrane</td><td>+</td><td>–</td><td colspan="2">–</td><td colspan="2">–</td><td>–</td></tr>
<tr><td>IgG к белкам gp350
IgG to gp350 proteins</td><td>+/–</td><td>+/–</td><td>Низкий титр
Low titer</td><td>Высокий титр
High titer</td><td>Низкий титр
Low titer</td><td>Высокий титр
High titer</td><td>+/–</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Взаимодействие NK- и B-клеток
Interaction between NK and B cells</td><td>Стабилизация контакта CD2/CD58
Stabilization of the CD2/CD58 bond</td><td rowspan="2">Нет
No</td><td colspan="4">Стабилизация контакта CD2/CD58
Stabilization of the CD2/CD58 bond</td><td rowspan="2">Нет
No</td></tr>
<tr><td>Активация NKG2D; синтез IFNγ, перфоринов, гранзимов; усиление сигнала с участием CD16, NKp46, 2B4
NKG2D activation; synthesis of IFN , pepforins, granzymes; signal amplification involving CD16, NKp46, 2B4</td><td>Выраженное взаимодействие CD2/CD16
Significant interaction CD2/CD16</td><td>Слабое взаимодействие CD2/CD16
Weak interaction CD2/CD16</td><td>Выраженное взаимодействие CD2/CD16
Significant interaction CD2/CD16</td><td>Слабое взаимодействие CD2/CD16
Weak interaction CD2/CD16</td></tr>
</table>



В-лимфоцитов, опсонизированных gp350$^+$ вирусными частицами. Возможно, одной из причин отсутствия субпопуляции CD19$^+$ NK-клеток как маркера трогоцитоза в крови пациентов с сочетанной герпетической инфекцией из второй группы является низкий титр нейтрализующих IgG к gp350 или их отсутствие. Это может быть связано как с нарушениями в гуморальном звене иммунитета, обусловленными сопутствующими заболеваниями пациентов, так и с небольшой длительностью хронической ВЭБ-инфекции. При высоком титре IgG к gp350 возможен процесс трогоцитоза, направленный на элиминацию ВЭБ с сохранением жизнеспособности В-лимфоцитов, что показано у пациентов группы 1, у которых в периферической крови была определена популяция адаптивных NK-клеток с коэкспрессией CD19. При этом в случае сохранения жизнеспособности В-лимфоцита с ВЭБ в латентной фазе, опсонизированного gp350$^+$ вирусной частицей, трогоцитоз способствует персистенции вируса.

Особый интерес к изучению механизмов трогоцитоза появился в связи с широким использованием биологической терапии для лечения пациентов с онкологическими и аутоиммунными заболеваниями. Известно, что трогоцитоз значительно снижает эффективность ритуксимаба, даратумумаба и других терапевтических моноклональных антител [22, 28], способствуя сохранению опухолевого клона. Замечено, что процессы трогоцитоза протекают тем активнее, чем выше концентрация используемых препаратов. И, напротив, изменение дозирования терапевтических МКАТ с длительным введением низких концентраций приводит к снижению трогоцитоза и эффективной элиминации опухолевых клеток [28]. Таким образом, преимущественный исход взаимодействия иммунных клеток-эффекторов и опухолевых клеток-мишеней зависит от соотношения количества антигена (например, CD20) к антителу (например, ритуксимаб). Вероятно, при противовирусном ответе имеют место сходные механизмы, когда при высокой концентрации специфических антител преобладают процессы трогоцитоза, тогда как низкая концентрация приводит к развитию АЗКЦ.

Одной из немаловажных функциональных особенностей адаптивных NK-лимфоцитов является индуцибельная экспрессии трансактиватора основного комплекса гистосовместимости (CIITA) и последующая HLA-DR-опосредованная презентации антигенов Т-лимфоцитам [12]. Повышение экспрессии HLA-DR отмечается при взаимодействии молекул CD2 и CD58 [25], а также при связывании

CD16 с вирусными частицами, опсонизированными специфическими IgG [10]. Адаптивные NK способны осуществлять процессинг и презентацию вирусных белков некоторым популяциям Т-хелперов с цитотоксическим потенциалом [9]. В нашем предыдущем исследовании была отмечена вариабельная экспрессия HLA-DR на $CD19^{+}$NK-лимфоцитах [3], причем увеличение экспрессии HLA-DR совпадало с ростом субпопуляции и клиническими обострениями ВЭБ-инфекции (данные не представлены). Не исключено, что CD16-опосредованный трогоцитоз опсонизированных частиц ВЭБ с поверхности В-клеток также может способствовать презентации вирусных антигенов специфическим Т-клеткам памяти и последующей эффективной элиминации вируса.

Некоторым ограничением нашего исследования явилось отсутствие данных о содержании специфических антител к gp350 вируса Эпштейна–Барр. Для рассмотрения возможных исходов взаимодействия NK-клетки и В-лимфоцита при этой инфекции в представленную нами схему включены данные о влиянии титра антител на возможность АЗКЦ и трогоцитоза из открытых литературных источников.

Заключение

В результате проведенного исследования выявлен ряд факторов, способствующих появлению в периферической крови субпопуляции $CD56^{+}CD19^{+dim}$ NK-лимфоцитов, а именно относительно недавно перенесенная ЦМВ-инфекция, стимулирующая дифференцировку адаптивных NK-клеток; наличие хронической ВЭБ-инфекции со стажем заболевания, обеспечивающим высокий титр нейтрализующих антител к gp350 ВЭБ; наличие активной репликации ВЭБ на момент исследования; сохранный гуморальный иммунный ответ. Особенно высокое относительное количество $CD56^{+}CD19^{+dim}$ NK-лимфоцитов наблюдалось при активной сочетанной герпетической инфекции (ВЭБ+ЦМВ).

Субпопуляция $CD56^{+}CD19^{+dim}$ не была определена у лиц без ЦМВ-инфекции в анамнезе, при отсутствии активной репликации ВЭБ и у пациентов с заболеваниями, приводящими к нарушению гуморального иммунного ответа.

Появление в периферической крови $CD56^{+}CD19^{+dim}$ NK-клеток является следствием участия адаптивных NK-лимфоцитов в противовирусном ответе и маркером трогоцитоза мембран В-лимфоцитов, связавших частицы ВЭБ.

Возможность присутствия в периферической крови субпопуляции NK-лимфоцитов с коэкспрессией CD19 необходимо учитывать при проведении исследований по фенотипированию В-лимфоцитов, поскольку ее наличие может приводить к некорректному подсчету В-клеток при использовании CD19 в качестве единственного линейного В-лимфоцитарного маркера или отсутствии в пробе антител к CD56 и некоторым другим NK-клеточным антигенам.

Список литературы/References

1. Дубоносова Е.Ю., Намазова-Баранова Л.С., Вишнева Е.А., Маянский Н.А., Куличенко Т.В., Солошенко М.А. Распространенность цитомегаловирусной инфекции среди подростков в Российской Федерации: результаты одномоментного популяционного анализа серопревалентности // Педиатрическая фармакология. 2021. Т. 18, № 6. С. 451–459. [Dubonosova E.Y., Namazova-Baranova L.S., Vishneva E.A., Mayanskiy N.A., Kulichenko T.V., Soloshenko M.A. Cytomegalovirus infection in adolescents of Russian Federation: results of cross-sectional population analysis of seroprevalence. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology, 2021, vol. 18, no. 6, pp. 451–459. (In Russ.)*] *doi: 10.15690/pf.v18i6.2297*
2. Жебрун А.Б., Куляшова Л.Б., Ермоленко К.Д., Закревская А.В. Распространенность герпесвирусных инфекций у детей и взрослых в С.-Петербурге по данным сероэпидемиологического исследования // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2013. № 6. С. 30–36. [Zhebrun A.B., Kulyashova L.B., Ermolenko K.D., Zakrevskaya A.V. Spread of herpesvirus infections in children and adults in St. Petersburg according to seroepidemiologic study data. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology, 2013, no. 6, pp. 30–36. (In Russ.)*]
3. Калашникова А.А., Бычкова Н.В. Минорная популяция NK-лимфоцитов с коэкспрессией CD19 // Медицинская иммунология. 2024. Т. 26, № 3. С. 513–522. [Kalashnikova A.A., Bychkova N.V. Minor population of NK lymphocytes with CD19 coexpression. *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2024, vol. 26, no. 3, pp. 513–522. (In Russ.)*] *doi: 10.15789/1563-0625-MPO-2920*
4. Alari-Pahissa E., Ataya M., Moraitis I., Campos-Ruiz M., Altadill M., Muntasell A., Moles A., López-Botet M. NK cells eliminate Epstein–Barr virus bound to B cells through a specific antibody-mediated uptake. *PLoS Pathog., 2021, vol. 17, no. 8: e1009868. doi: 10.1371/journal.ppat.1009868*
5. Binder C., Cvetkovski F., Sellberg F., Berg S., Paternina Visbal H., Sachs D.H., Berglund E., Berglund D. CD2 Immunobiology. *Front. Immunol., 2020, vol. 11: 1090. doi: 10.3389/fimmu.2020.01090*
6. Bu W., Hayes G.M., Liu H., Gemmell L., Schmeling D.O., Radecki P., Aguilar F., Burbelo P.D., Woo J., Balfour H.H. Jr., Cohen J.I. Kinetics of Epstein–Barr Virus (EBV) Neutralizing and Virus-Specific Antibodies after Primary Infection with EBV. *Clin. Vaccine Immunol., 2016, vol. 23, no. 4, pp. 363–369. doi: 10.1128/CVI.00674-15*

7. Chatterjee G., Sriram H., Ghogale S., Deshpande N., Khanka T., Girase K., Verma S., Arolkar G., Dasgupta N., Narula G., Shetty D., Dhamne C., Moulik N.R., Rajpal S., Patkar N.V., Banavali S., Gujral S., Subramanian P.G., Tembhare P.R. Mimics and artefacts of measurable residual disease in a highly sensitive multicolour flow cytometry assay for B-lymphoblastic leukaemia/lymphoma: critical consideration for analysis of measurable residual disease. *Br. J. Haematol., 2022, vol. 196, no. 2, pp. 374–379. doi: 10.1111/bjh.17801*
8. Coënon L., Villalba M. From CD16a Biology to Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity Improvement. *Front. Immunol., 2022, vol. 13: 913215. doi: 10.3389/fimmu.2022.913215*
9. Costa-García M., Ataya M., Moraru M., Vilches C., López-Botet M., Muntasell A. Human Cytomegalovirus antigen presentation by HLA-DR+NKG2C+ adaptive NK cells specifically activates polyfunctional effector memory CD4+ T lymphocytes. *Front. Immunol., 2019, vol. 10: 687. doi: 10.3389/fimmu.2019.00687*
10. Davis D.M. Intercellular transfer of cell-surface proteins is common and can affect many stages of an immune response. *Nat. Rev. Immunol., 2007, vol. 7, no. 3, pp. 238–243. doi: 10.1038/nri2020*
11. Erdem G., Cua C.L., Basu A., Lee S., Leber A., Abraham R.S. Asymptomatic COVID-19 Reinfection in a Pediatric Patient with Heterotaxy Syndrome. *Viral. Immunol., 2023, vol. 36, no. 2, pp. 144–148. doi: 10.1089/vim.2022.0131*
12. Erokhina S.A., Streltsova M.A., Kanevskiy M.L., Grechikhina M.V., Sapozhnikov A.M., Kovalenko E.I. HLA-DR-expressing NK cells: Effective killers suspected for antigen presentation. *J. Leucoc. Biol., 2021, vol. 109, no. 2, pp. 327–337. doi: 10.1002/JLB.3RU0420-668RR*
13. Gao F., Zhou Z., Lin Y., Shu G., Yin G., Zhang T. Biology and Clinical Relevance of HCMV-Associated Adaptive NK Cells. *Front. Immunol., 2022, vol. 13: 830396. doi: 10.3389/fimmu.2022.830396*
14. HoWangYin K.-Y.C., Edgardo D., LeMaoult J. Trogocytosis and NK Cells in Mouse and Man. *Natural Killer Cells: Springer, 2010, pp. 109–123. doi: 10.1007/978-3-642-02309-5_5*
15. Korol C., Rossi J., Sanz M., Bernasconi A. NK cells expressing the B cell antigen CD19: Expanding the phenotypical characterization and the potential consequences from misinterpretation of this subset population. *Cytometry B Clin. Cytom., 2015, vol. 88, no. 2, pp. 358–360. doi: 10.1002/cyto.b.21257*
16. Larsen M.D., de Graaf E.L., Sonneveld M.E., Plomp H.R., Nouta J., Hoepel W., Chen H.J., Linty F., Visser R., Brinkhaus M., Šuštić T., de Taeye S.W., Bentlage A.E.H., Toivonen S., Koeleman C.A.M., Sainio S., Kootstra N.A., Brouwer P.J.M., Geyer C.E., Derksen N.I.L., Wolbink G., de Winther M., Sanders R.W., van Gils M.J., de Bruin S., Vlaar A.P.J., Rispens T., den Dunnen J., Zaaijer H.L., Wuhrer M., Ellen van der Schoot C., Vidarsson G. Afucosylated IgG characterizes enveloped viral responses and correlates with COVID-19 severity. *Science, 2021, vol. 371, no. 6532: eabc8378. doi: 10.1126/science.abc8378*
17. Li W., Morgan R., Nieder R., Truong S., Habeebu S.S.M., Ahmed A.A. Normal or reactive minor cell populations in bone marrow and peripheral blood mimic minimal residual leukemia by flow cytometry. *Cytometry B Clin. Cytom., 2021, vol. 100, no. 5, pp. 531–608. doi: 10.1002/cyto.b.21968*
18. Liu L.L., Landskron J., Ask E.H., Enqvist M., Sohlberg E., Traherne J.A., Hammer Q., Goodridge J.P., Larsson S., Jayaraman J., Oei V.Y.S., Schaffer M., Taskén K., Ljunggren H.-G., Romagnani C., Trowsdale J., Malmberg K.-J., Béziat V. Critical Role of CD2 Co-stimulation in Adaptive Natural Killer Cell Responses Revealed in NKG2C-Deficient Humans. *Cell Rep., 2016, vol. 15, no. 5, pp. 1088–1099. doi: 10.1016/j.celrep.2016.04.005*
19. Liu W., Scott J.M., Langguth E., Chang H., Park P.H., Kim S. FcRγ Gene editing reprograms conventional NK cells to display key features of adaptive human NK cells. *iScience, 2020, vol. 23, no. 11: 101709. doi: 10.1016/j.isci.2020.101709*
20. Lopes-Verges S., Milush J.M., Schwartz B.S., Pando M.J., Jarioura J., York V.A., Houchins J.P., Miller S., Kang S.M., Norris P.J., Nixon D.F., Lanier L.L. Expansion of a unique CD57+NKG2C+ natural killer cell subset during acute human cytomegalovirus infection. *Proc. Natl Acad. Sci. USA, 2011, vol. 108, no. 36, pp. 14725–14732. doi: 10.1073/pnas.1110900108*
21. Lopez-Montañés M., Alari-Pahissa E., Sintes 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*
22. Miyake K., Karasuyama H. The Role of Trogocytosis in the Modulation of Immune Cell Functions. *Cells, 2021, vol. 10, no. 5: 1255. doi: 10.3390/cells10051255*
23. Orange J.S., Harris K.E., Andzelm M.M., Valter M.M., Geha R.S., Strominger J.L. The mature activation natural killer cell immunologic synapse is formed in distinct stages. *Proc. Natl Acad. Sci. USA, 2003, vol. 100, no. 24, pp. 14151–14156. doi: 10.1073/pnas.1835830100*
24. Quatrini L., Della Chiesa M., Sivori S., Mingari M.C., Pende D., Moretta L. Human NK cells, their receptors and function. *Eur. J. Immunol., 2021, vol. 51, no. 7, pp. 1566–1579. doi: 10.1002/eji.202049028*
25. Rölle A., Halenius A., Ewen E.M., Cerwenka A., Hengel H., Momburg F. CD2–CD58 interactions are pivotal for the activation and function of adaptive natural killer cells in human cytomegalovirus infection. *Eur. J. Immunol., 2016, vol. 46, no. 10, pp. 2420–2425. doi: 10.1002/eji.201646492*
26. Soma L., Wu D., Chen X., Edlefsen K., Fromm J.R., Wood B. Apparent CD19 expression by natural killers cells: a potential confounder for minimal residual disease detection by flow cytometry in B lymphoblastic leukemia. *Cytometry B Clin. Cytom., 2015, vol. 88, no. 2, pp. 145–147. doi: 10.1002/cytob.21179*
27. Sun J.C., Beilke J.N., Lewis L.L. Adaptive immune feature of natural killer cells. *Nature, 2009, vol. 457, no. 7229, pp. 557–561. doi: 10.1038/nature07665*
28. Taylor R.P., Lindorfer M.A. Fcγ-receptor-mediated trogocytosis impacts mAb-based therapies: historical precedence and recent developments. *Blood, 2015, vol. 125, no. 5, pp. 762–766. doi: 10.1182/blood-2014-10-569244*
29. Weiss E.R., Alter G., Ogembo J.G., Henderson J.L., Tabak B., Bakiş Y., Somasundaran M., Garber M., Selin L., Luzuriaga K. High Epstein–Barr Virus Load and Genomic Diversity Are Associated with Generation of gp350-Specific Neutralizing Antibodies following Acute Infectious Mononucleosis. *J. Virol., 2016, vol. 91, no. 1: e01562-16. doi: 10.1128/JVI.01562-16*

30. Wensveen F.M., Jelenčić V., Polić B. NKG2D: A Master Regulator of Immune Cell Responsiveness. *Front. Immunol., 2018, vol. 9: 441. doi: 10.3389/fimmu.2018.00441*
31. Zhang T., Scott J.M., Hwang I., Kim S. Cutting Edge: Antibody-Dependent Memory-Like NK Cells Distinguished by Fcrgamma Deficiency. *J. Immunol., 2013, vol. 190, no. 4, pp. 1402–1406. doi: 10.4049/jimmunol.1203034*

Авторы:
Калашникова А.А., к.б.н., старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела лабораторной диагностики научно-исследовательского центра ФГБУ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, Россия;
Бычкова Н.В., д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии ФГБУ НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Минздрава России, Москва, Россия;
Ракитянская И.А., д.м.н., профессор, клинический иммунолог, консультант отделения аллергологии-иммунологии и клинической трансфузиологии СПбГБУЗ Городская поликлиника № 112, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:
Kalashnikova A.A., PhD (Biology), Senior Researcher, Research Department of Laboratory Diagnostics, The Nikiforov All-Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russian Federation;
Bychkova N.V., DSc (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Clinical Immunology, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakov, Moscow, Russian Federation;
Rakityanskaya I.A., DSc (Medicine), Professor, Clinical Immunologist, Consultant of the Department of Allergology-Immunology and Clinical Transfusiology, Municipal Outpatient Hospital no. 112, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 17.01.2025
Принята к печати 18.05.2025

Received 17.01.2025
Accepted 18.05.2025

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 505–516

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 505–516

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ БАКТЕРИЙ СЕМЕЙСТВА *WEEKSELLACEAE*

К.В. Зубова[1], В.А. Кузнецова[2], М.В. Каневский[1], О.В. Кондратенко[3], Е.В. Глинская[1], О.В. Нечаева[2,4], А.Г. Афиногенова[5]

[1] ФГБОУ ВО Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского Минобрнауки РФ, г. Саратов, Россия
[2] ФГБУ НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Минздрава России, Москва, Россия
[3] ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Самара, Россия
[4] ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования МЗ РФ, Москва, Россия
[5] ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. В последние годы вопрос о роли бактерий, ранее являвшихся сапрофитами, в этиологии инфекционных заболеваний человека стоит крайне остро. Особый интерес вызывают неферментирующие грамотрицательные бактерии, многие из которых являются представителями ризобиома ряда растений, почвенного и водного микробиома. Все чаще в научной литературе освещают случаи инфекций, которые вызваны представителями порядка *Flavobacteriales*, а именно родов *Chryseobacterium, Elizabethkingia* и *Empedobacter* семейства *Weeksellaceae*. Микроорганизмы этого семейства являются возбудителями ряда заболеваний человека, в том числе инфекций мочевыводящих и дыхательных путей. Целью нашего исследования являлось изучение биологических свойств бактерий родов *Chryseobacterium, Elizabethkingia* и *Empedobacter* семейства *Weeksellaceae*, выделенных от пациентов с муковисцидозом, и оценка их патогенетического потенциала. Для оценки биологических свойств и патогенетического потенциала в исследование отобраны 32 клинических штамма бактерий, относящихся к семейству *Weeksellaceae*, выделенных из образцов биологического материала респираторного тракта пациентов с муковисцидозом. Использовали дифференциально-диагностические среды и планшетные тест-системы. ДНК выделяли с 5X ScreenMix (ЗАО «Евроген») и проводили ПЦР с гель-электрофорезом. Бактерии семейства *Weeksellaceae* характеризуются широким набором ферментов, особенно *C. arthrosphaerae* и *E. meningoseptica*. Установлено, что штаммы родов *Chryseobacterium, Elizabethkingia*, и *Empedobacter* являются носителями генов вирулентности, проявляют патогенность и участвуют в хронических респираторных инфекциях у больных муковисцидозом. Фенотипические методы исследования ферментативной активности показали, что все исследуемые штаммы бактерий семейства *Weeksellaceae* характеризуются желатиназной активностью, а представители рода *Chryseobacterium* spp. — еще и способностью к синтезу плазмокоагулазы. Способность к продукции других ферментов агрессии менее выражена и носила штаммовую специфичность. Анализ генетического профиля факторов вирулентности исследуемых бактерий показал, что в составе генома исследуемых штаммов чаще всего обнаруживали гены, кодирующие ферменты лецитиназу, гиалуронидазу, эластазу и гемолизин, а у бактерий родоа *Chryseobacterium* spp. и *Empedobacter* spp. — нейроаминидазу, которые

Адрес для переписки:
Афиногенова Анна Геннадьевна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 (812) 232-86-31 (служебн.); 8 921 557-88-94 (моб.).
E-mail: spbtestcenter@mail.ru

Contacts:
Anna G. Afinogenova
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 (812) 232-86-31 (office); +7 921 557-88-94 (mobile).
E-mail: spbtestcenter@mail.ru

Для цитирования:
Зубова К.В., Кузнецова В.А., Каневский М.В., Кондратенко О.В., Глинская Е.В., Нечаева О.В., Афиногенова А.Г. Биологические свойства и патогенетический потенциал бактерий семейства Weeksellaceae // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 505–516. doi: 10.15789/2220-7619-BPA-17859

Citation:
Zubova K.V., Kuznetsova V.A., Kanevsky M.V., Kondratenko O.V., Glinskaya E.V., Nechaeva O.V., Afinogenova A.G. Biological properties and pathogenetic potential of Weeksellaceae family bacteria // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 505–516. doi: 10.15789/2220-7619-BPA-17859

© Зубова К.В. и соавт., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-BPA-17859

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

способствуют преодолению тканевых барьеров, инвазии и распространению возбудителя по макроорганизму. Полученные результаты и научные литературные данные указывают на особую клиническую роль бактерий семейства *Weeksellaceae*, что определяет значимость глубокого изучения биологических свойств и факторов вирулентности представителей родов *Chryseobacterium* spp., *Elizabethkingia* spp. и *Empedobacter* spp.

Ключевые слова: *сапрофитные бактерии, муковисцидоз, гены вирулентности, ферментативная активность бактерий, Weeksellaceae, Flavobacteriales.*

BIOLOGICAL PROPERTIES AND PATHOGENETIC POTENTIAL OF *WEEKSELLACEAE* FAMILY BACTERIA

Zubova K.V.[a], Kuznetsova V.A.[b], Kanevsky M.V.[a], Kondratenko O.V.[c], Glinskaya E.V.[a], Nechaeva O.V.[b,d], Afinogenova A.G.[e]

[a] *Saratov State University, Saratov, Russian Federation*
[b] *National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakov, Moscow, Russian Federation*
[c] *Samara State Medical University of Ministry of Healthcare of Russian Federation, Samara, Russian Federation*
[d] *Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russian Federation*
[e] *St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation*

Abstract. In recent years, the role of former saprophyte bacteria in the etiology of human infectious diseases has become an increasingly pressing issue. Of particular interest are non-fermenting gram-negative bacteria, many of which are members of the rhizobiome in some plants, soil and water microbiome. Increasingly, scientific literature covers cases of infections caused by members of the order *Flavobacteriales*, namely the genus *Chryseobacterium, Elizabethkingia* and *Empedobacter* of the *Weeksellaceae* family. Microorganisms of the latter are causative agents in several human diseases, including urinary tract and respiratory tract infections. The aim of our study was to investigate the biological properties of bacteria of the genus *Chryseobacterium, Elizabethkingia* and *Empedobacter* of the *Weeksellaceae* family isolated from patients with cystic fibrosis and to assess their pathogenetic potential. To analyze the biological properties and pathogenetic potential, 32 clinical strains of bacteria belonging to the *Weeksellaceae* family, isolated from biological material samples of the respiratory tract from cystic fibrosis patients, were selected for the study. Differential diagnostic media and plate test systems were used. DNA was isolated using 5X ScreenMix (ZAO Evrogen) and PCR with gel electrophoresis was performed. Bacteria of the *Weeksellaceae* family are characterized by a wide range of enzymes, especially *C. arthrosphaerae* and *E. meningoseptica*. It was found that strains of the *Chryseobacterium, Elizabethkingia* and *Empedobacter* genus are carriers of virulence genes, exhibit pathogenicity and participate in chronic respiratory infections in patients with cystic fibrosis. Phenotypic methods for studying enzymatic activity showed that all the examined strains of bacteria of the *Weeksellaceae* family are characterized by gelatinase activity, and representatives of the genus *Chryseobacterium* spp. — also by the ability to synthesize plasma coagulase. The potential to produce other enzymes of aggression is less pronounced and was strain specific. Analysis of the genetic profile of virulence factors in the studied bacteria showed that in their genome, genes encoding the enzymes lecithinase, hyaluronidase, elastase and hemolysin were most often found, and in bacteria of the genus *Chryseobacterium* spp. and *Empedobacter* spp. — neuroaminidase, which contribute to overcoming tissue barriers, pathogen invasion and spread throughout host tissues. The obtained results and scientific literature data indicate a special clinical role for bacteria of the *Weeksellaceae* family, which determines the importance of a deep study of the biological properties and virulence factors in members of the genus *Chryseobacterium* spp., *Elizabethkingia* spp. and *Empedobacter* spp.

Key words: *saprophytic bacteria, cystic fibrosis, virulence genes, enzymatic activity of bacteria, Weeksellaceae, Flavobacteriales.*

Введение

В последние годы вопрос о роли бактерий, ранее являвшихся сапрофитами, в этиологии инфекционных заболеваний человека стоит крайне остро. Особый интерес вызывают неферментирующие грамотрицательные бактерии, многие из которых являются представителями ризобиома ряда растений, почвенного и водного микробиома. Все чаще в научной литературе освещают случаи инфекций, которые вызваны представителями порядка *Flavobacteriales*, а именно родов *Chryseobacterium, Elizabethkingia* и *Empedobacter* семейства *Weeksellaceae* [2, 15, 25]. Микроорганизмы этого семейства являются возбудителями ряда заболеваний человека, в том числе инфекций мочевыводящих и дыхательных путей.

Chryseobacterium spp. могут вызывать бактериемию, пневмонию, менингит, пиомиозит, кератит, хирургические инфекции и инфекции ожоговых ран, в том числе и у детей [6, 7]. Описаны случаи внутрибольничных инфекций, вызванных *C. indologenes*, которые возникали у госпитализированных пациентов при использовании различных медицинских устройств (респираторы, эндотрахеальные трубки, инкубаторы для новорожденных и др.) [13]. *Elizabethkingia* spp. являются этиологическим фактором развития менингита, кератита и сепсиса [12, 24,

27]. *Empedobacter* spp. выделяли из патологического материала при абсцессах, инфекционных поражениях дыхательных и мочевыделительных путей, из каловых масс больного, а также при бактериемии [17, 18, 22, 30].

Особую опасность данные инфекционные агенты представляют для иммунокомпрометированных лиц, пациентов с хроническими заболеваниями или находящихся на длительной внутривенной антибиотикотерапии, а также для недоношенных детей [11]. Бактерии семейства *Weeksellaceae* характеризуются высокой адаптивностью к факторам внешней среды, а также природной мультирезистентностью по отношению к широкому спектру антимикробных препаратов (АМП) [10, 19, 23, 29]. Так, например, *Elizabethkingia* spp. содержат различные типы β-лактамаз: β-лактамазы расширенного спектра действия класса А и металло-β-лактамазы класса В, что определяет их устойчивость, в том числе и к широко используемым карбапенемам [29]. В геноме *Empedobacter* spp. содержатся гены, которые обуславливают устойчивость бактерий к цефалоспоринам и карбапенемам [30]. Кроме того, встречаются штаммы *Empedobacter* spp., устойчивые к колистину [29].

Chryseobacterium spp. характеризуются природной устойчивостью не только к аминогликозидам, тетрациклинам, хлорамфениколу, макролидам, аминопенициллинам, клиндамицину, тейкопланину, но и к цефалоспоринам нового поколения, а также азтреонаму, тикарциллин-клавуланату и карбапенемам [14]. Среди применяемых АМП наиболее эффективными в отношении хризиобактерий являются хинолоны (гатифлоксацин и левофлоксацин), миноциклин и триметоприм-сульфаметоксазол, однако в последнее время появляется все больше публикаций, отмечающих тревожную тенденцию к росту устойчивости к ним [14, 15, 26, 31].

Представители семейства *Weeksellaceae* обладают широким набором факторов вирулентности. Гены вирулентности детерминируют синтез различных компонентов, таких как липоолигосахариды, полисахариды капсулы, каталазы, протеазы и пероксидазы, также выявлено наличие двухкомпонентной регуляторной системы, супероксиддисмутазы, белка теплового шока [9, 28].

Отсутствие структурированных данных о клинической роли микроорганизмов семейства *Weeksellaceae*, факторах патогенности и механизмов инфицирования человека, а также методах лечения вызываемых ими инфекций диктует необходимость во всестороннем изучении этой многочисленной группы бактерий.

Целью нашего исследования являлось изучение биологических свойств бактерий родов *Chryseobacterium, Elizabethkingia* и *Empedobacter* семейства *Weeksellaceae*, выделенных от пациентов с муковисцидозом (МВ), и оценка их патогенетического потенциала.

Материалы и методы

Бактериальный материал для исследования получен от пациентов клиник Самарского государственного медицинского университета (Самара, Россия). Исследования проводили на базе кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского, кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии СамГМУ.

Для оценки биологических свойств и патогенетического потенциала в исследование отобраны 32 клинических штамма бактерий, относящихся к семейству *Weeksellaceae*, выделенных из образцов биологического материала респираторного тракта пациентов с муковисцидозом: *Chryseobacterium arthrosphaerae* (n = 8), *Chryseobacterium indolegens* (n = 4), *Chryseobacterium tructae* (n = 4), *Chryseobacterium gleum* (n = 2), *Elizabethkingia meningoseptica* (n = 3), *Elizabethkingia anopheles* (n = 3), *Empedobacter falsenii* (n = 5), *Empedobacter brevis* (n = 1), *Chryseobacterium oncorhynchi* (n = 1), *Chryseobacterium ureilyticum* (n = 1). *Chryseobacterium arthrosphaerae* (n = 8), *Chryseobacterium indolegens* (n = 4), *Chryseobacterium tructae* (n = 4), *Chryseobacterium gleum* (n = 2), *Elizabethkingia meningoseptica* (n = 3), *Elizabethkingia anopheles* (n = 3), *Empedobacter falsenii* (n = 5), *Empedobacter brevis* (n = 1), *Chryseobacterium oncorhynchi* (n = 1), *Chryseobacterium ureilyticum* (n = 1). Выбор этих микроорганизмов обусловлен их высокой частотой встречаемости при посевах биологического материала среди всех представителей изучаемого семейства бактерий [10].

Первичный посев биологического материала и идентификацию выделяемых бактерий осуществляли сотрудники микробиологического отдела клинико-диагностической лаборатории СамГМУ в соответствии с методикой, описанной в патенте РФ на изобретение № 2668406 «Способ первичного посева биоматериала, выделенного из нижних дыхательных путей пациентов с муковисцидозом» (патент РФ № 2668406). Идентификацию выделенных культур микроорганизмов проводили с использованием методики MALDI-ToF MS масс-спектрометрии (Bruker Daltonics, США) с использованием прибора «Microflex» и программного обеспечения MALDI Biotyper 3 RTC (Bruker Daltonics, Германия).

Биологические свойства. Морфологические свойства изучали при помощи микроскопа «Биомед-4» (ООО «Биомед», Россия) в мазках, окрашенных по Граму, и в нативных препаратах («раздавленная капля»). Культуральные свойства оценивали на ГРМ-агаре (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия), мясопептонном агаре (МПА) (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) и Колумбийском агаре (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) с добавлением 5% дефибрированной бараньей крови (Азимут, Россия). Бактерии выращивали при температуре 37°С в течение 1–5 суток.

Изучение ферментативной активности проводили с помощью планшетных тест-систем (ООО НПО «Диагностические системы», Россия). Для этого готовили взвесь суточных культур изучаемых штаммов, выращенных при температуре 37°С в течение 24 часов. Культуры разводили в 5 мл физиологического раствора до 10 единиц по оптическому стандарту мутности McFarland. Разведенные культуры раскапывали с помощью автоматического дозатора по 0,1 мл в лунки. Культивировали при температуре 37°С в течение 1–3 суток. Далее учитывали изменение цвета индикатора.

Проведены тесты на амилазную, лецитиназную и пептидазную активности [5]. Культуры засевали на чашки Петри со средой ГРМ (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) с добавлением крахмала, куриного желтка и стерильного обезжиренного молока и инкубировали в течение от 3-х до 7 суток в зависимости от теста. После окончания срока инкубации на поверхность чашки с крахмалом наливали раствор Люголя, на чашки с обезжиренным молоком — 10% раствор соляной кислоты. Во всех случаях положительным результатом считали образование вокруг культуры микроорганизма прозрачной зоны, свидетельствующей о действии фермента.

Патогенетический потенциал. Патогенетический потенциал изучали с помощью стандартных дифференциально-диагностических сред и планшетных тест-систем, а также молекулярно-генетических методов (табл. 1).

С помощью дифференциально-диагностических сред поставлены тесты на желатиназную (ГРМ-бульон (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) + 12% желатин (РЕАХИМ-ПЕНЗА, Россия)), гемолитическую Колумбийский агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) + 5% дефибрированной бараньей крови (Азимут, Россия)), плазмакоагулазную и фибринолитическую (плазма кролика (Эколаб, Россия) + физиологический раствор (ОАО Дальхимфарм, Россия)) активности. Тесты проводили согласно стандартным методикам [1].

Детекцию генов, кодирующих ферменты, которые являются факторами вирулентности, проводили с помощью ПЦР-тестов. Определяли наличие генов коллагеназы, эластазы, нейраминидазы, гиалуронидазы, уреазы, гемолизина и фосфолипазы у исследуемых бактерий. Анализ ДНК на наличие искомых генов проводили с помощью готовой реакционной смеси 5X ScreenMix (ЗАО «Евроген», Россия), предназначенной для проведения ПЦР с последующим анализом на гель-электрофорезе. Праймеры составлены с помощью сайта BLAST (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) и синтезированы компанией ЗАО «Евроген» (ЗАО «Евроген», Россия). В качестве маркера молекулярного веса выступал O'RangeRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific, США). Амплификацию осуществляли на ДНК-амплификаторе «BIO-RAD S1000» (Bio-Rad Laboratories, США) (табл. 2).

Визуализацию продуктов ПЦР осуществляли с помощью прибора горизонтального электрофореза серии ЕС 12–13 (Biocom, Россия), детекцию продуктов ПЦР-амплификации осуществляли с использованием трансиллюминатора UVT-1 (Biocom, Россия) в ультрафиолетовом диапазоне.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2003 (for Windows XP). Статистические результаты считались достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты

Биологические свойства

Все изученные представители семейства *Weeksellaceae* являлись грамотрицательными, аэробными, неподвижными, неспорообразующими бактериями, часто имеющими вид тонких, слегка изогнутых палочек.

Согласно данным литературы, исследуемые бактерии демонстрируют неприхотливость к питательным средам и успешно растут не только на кровяном и Колумбийском агаре, но и на мясо-пептонном агаре (МПА) и средах ГРМ [10]. Однако в ходе исследования в результате многочисленных пересевов на стандартных средах (ГРМ, МПА) рост бактерий отсутствовал, поэтому для дальнейшей работы бактерии культивировали на средах с витаминными добавками и Колумбийском агаре с добавлением крови.

На плотных средах исследуемые бактерии образовывали круглые колонии с желтым или белым пигментом и глянцевой поверхностью (рис.). Отличительной особенностью являлся интенсивный фруктовый запах, продуцируемый микроорганизмами в процессе роста.

Анализ биохимической активности представителей семейства *Weeksellaceae* показал ее значительное разнообразие, при этом у всех изученных бактерий выявлена протеолитическая активность.

Таблица 1. Спектр исследуемых ферментов

Table 1. Spectrum of the studied enzymes

Роль в инфекционном процессе Role in the infectious process	**Класс** Class	**Фермент** The enzyme
Фактор защиты и персистенции Protection and persistence factor	**Гидролаза, протеаза** Hydrolase, protease	**Плазмокоагулаза** Plasmocoagulase
Фактор инвазии и персистенции The factor of invasion and persistence	**Гидролаза, протеаза** Hydrolase, protease	**Фосфолипаза, желатиназа, фибринолизин, гемолизин, нейраминидаза, гиалуронидаза, коллагеназа, эластаза** Phospholipase, gelatinase, fibrinolysin, hemolysin, neuraminidase, hyaluronidase, collagenase, elastase
Фактор персистенции The persistence factor	**Гидролаза** Hydrolase	**Лизиндегидролаза, аргининдегидролаза** Lysine dehydrolase, arginine dehydrolase

Таблица 2. Характеристика ПЦР-праймеров для выявления ряда генов, кодирующих ферменты, которые являются факторами патогенности

Table 2. Characterization of PCR primers to identify a number of genes encoding enzymes that are pathogenicity factors

Фермент The enzyme	**Праймер** The primer	**Молекулярный вес** Molecular weight
Нейроминидаза Neuraminidase	F GAACATGTACCGCCTTCCCA	945
	R AGAGGCATTGAGTTCCACCG	
Гиалуронидаза Hyaluronidase	F AGCAATGAGCGTAAAACGCAA	985
	R TTCCGTGCCCTAACTCATGT	
Коллагеназа Collagenase	F ATCGAACTCATGTCTCCGGC	954
	R TGCCGATCCTGGAATATCGC	
Эластаза Elastase	F AGCAATGAGCGTAAAACGCAA	985
	R TTCCGTGCCCTAACTCATGT	
Уреаза Urease	F TTGGCGGTGGTAAAACCGTA	976
	R CTTCCCATCGCCTGAGAGTC	
Гемолизин Hemolysin	F AGCCGCCGAATTTTCAATCG	927
	R ATTCCCTCTGTACCCCCGAA	
Фосфолипаза Phospholipase	F AGATCCGGTAAGCGGAGAGA	987
	R GGCCCGAATACTTCCCAGTC	

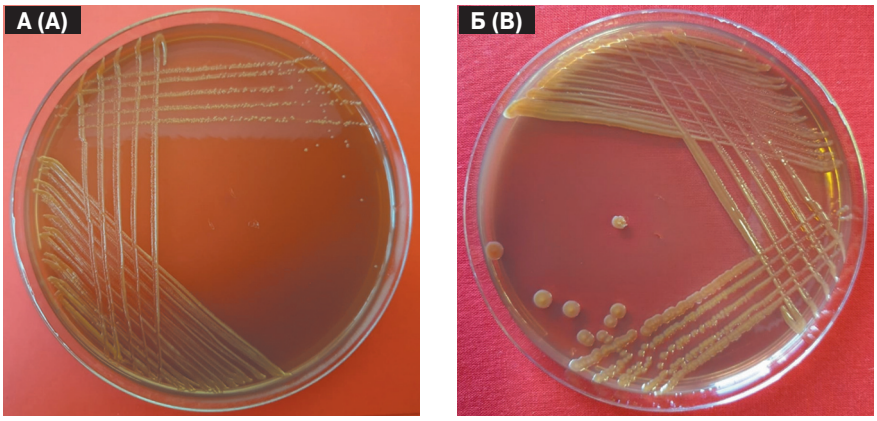


Рисунок. Стадии роста бактерий *C. indologenes* семейства *Weeksellaceae*, где изображения А) и Б) соответствуют культивированию на 1 и на 5 сутки

Figure. The growth stages of *C. indologenes* bacteria of the *Weeksellaceae* family, where the photos A) and B) correspond to cultivation on days 1 and 5

Примечание. На плотных средах исследуемые бактерии образовывали круглые колонии с желтым или белым пигментом и глянцевой поверхностью. Отличительной особенностью являлся интенсивный фруктовый запах, продуцируемый микроорганизмами в процессе роста.

Note. On solid media, the studied bacteria formed round colonies with a yellow or white pigment and a glossy surface. A distinctive feature was the intense fruity smell produced by the microorganisms during the growth process.

Все исследуемые штаммы бактерий рода *Chryseobacterium* оказались способны к индолообразованию, продуцировали фермент фосфатазу и не были способны к редукции нитратов и нитритов (табл. 3). Гидролиз эскулина вызывали 70% изучаемых штаммов. Оценка сахаролитической активности показала, что все штаммы бактерий рода *Chryseobacterium* расщепляли фруктозу, глюкозу, лецитин и триптофан, у 55% штаммов обнаружена способность к расщеплению β-глюкозы. Как известно, β-глюкоза представляет собой аномер глюкозы, который может быть использована только некоторыми бактериями в качестве источника углерода и энергии, а также для синтеза клеточных стенок и других структур клетки [16]. Среди изучаемых штаммов рода *Chryseobacterium* 55% используют галактозу и β-галактозу в качестве источника энергии (табл. 3).

Также, как и бактерии рода *Chryseobacterium* spp., все исследуемые штаммы бактерий родов

Таблица 3. Биохимическая активность бактерий рода *Chryseobacterium*

Table 3. Biochemical activity of bacteria of the genus *Chryseobacterium*

Субстрат The substrate	**Виды**/Species					
	C. arthrosphaerae	***C. gleum***	***C. indologenes***	***C. ureilyticum***	***C. tructae***	***C. oncorhynchi***
	Количество штаммов с положительным результатом (абс./%) The number of strains with a positive result (abs./%)					
Фруктоза Fructose	8/100,0	2/100,0	4/100,0	1/100,0	4/100,0	1/100,0
Глюкоза Glucose	8/100,0	1/50,0	4/100,0	1/100,0	4/100,0	1/100,0
Галактоза Galactose	3/37,5	0	3/75,0	1/100,0	3/75,0	1/100,0
Ксилоза Xylose	5/62,5	2/100,0	3/75,0	1/100,0	3/75,0	1/100,0
N-ацетил-β-D-глюкозаминидаза N-acetyl-β-D-glucosaminidase	6/75,0	1/50,0	3/75,0	1/100,0	4/100,0	0
β-глюкоза β-glucose	6/75,0	2/100,0	1/25,1	1/100,0	1/25,0	0
β-галактоза β-galactose	3/37,5	1/50,0	1/25,1	0	0	0
Целлобиоза Cellobiosis	0	0	0	0	1/25,0	0
Трегалоза Trehalose	3/37,5	1/50,0	3/75,0	1/100,0	4/100,0	1/100,0
Мальтоза Maltose	1/12,5	0	1/25,1	0	0	0
Лактоза Lactose	2/25,0	0	0	0	0	1/100,0
Сахароза Sucrose	2/25,0	0	0	0	0	0
Лецитин Lecithin	8/100,0	2/100,0	4/100,0	1/100,0	4/100,0	1/100,0
γ-глутамилтранспептидаза γ-glutamyltranspeptidase	4/50,0	2/100,0	1/25,1	0	0	0
Глюкозид Glucoside	7/87,5	2/100,0	2/50,0	0	0	0
Триптофан Tryptophan	8/100,0	2/100,0	4/100,0	1/100,0	4/100,0	1/100,0
Маннит Mannitol	1/12,5	1/50,0	1/25,1	0	2/50,0	0
Инозитол Inositol	4/50,0	0	0	0	0	1/100,0
Цитрат Citrate	2/25,0	0	4/100,0	1/100,0	3/75,0	1/100,0
Нитриты Nitrites	0	0	0	0	0	0
Нитраты Nitrates	0	0	0	0	0	0

Elizabethkingia spp. и *Empedobacter* spp. расщепляли пептон с образованием индола, не редуцировали нитраты и нитриты, фермент фосфатаза присутствовал у 90% исследуемых штаммов, а к гидролизу эскулина оказались способны 50% штаммов (табл. 4). Большинство штаммов *Elizabethkingia* spp. и *Empedobacter* spp. в качестве источника энергии использовали глюкозу, β-глюкозу, галактозу и β-галактозу. Самая низкая ферментативная активность выявлена у *E. brevis*, поскольку данный штамм способен утилизировать ограниченное количество субстратов. Высокой ферментативной активностью характеризовались штаммы *E. meningoseptica*, которые обладали выраженной сахаролитической активностью, но из всех углеродсодержащих субстратов не расщепляли галактозу и инозитол.

Патогенетический потенциал

Все исследованные штаммы бактерий рода *Chryseobacterium* оказались способны к протеолизу желатина и продукции плазмокоагулазы

Таблица 4. Ферментативная активность штаммов бактерий родов *Elizabethkingia* и *Empedobacter*
Table 4. Biochemical activity of bacteria of the genus *Elizabethkingia* and *Empedobacter*

Субстрат The substrate	**Виды**/Species			
	E. meningoseptica	***E. anophelis***	***E. falsenii***	***E. brevis***
	Количество штаммов с положительным результатом (абс./%) The number of strains with a positive result (abs./%)			
Фруктоза Fructose	3/100,0	1/33,3	5/100,0	1/100,0
Глюкоза Glucose	3/100,0	1/33,3	5/100,0	1/100,0
Галактоза Galactose	0	1/33,3	4/80,0	1/100,0
Ксилоза Xylose	2/66,6	3/100,0	5/100,0	1/100,0
N-ацетил-β-D-глюкозаминидаза N-acetyl-β-D-glucosaminidase	2/66,6	1/33,3	0	0
β-глюкоза β-glucose	3/100,0	3/100,0	2/40,0	0
β-галактоза β-galactose	1/33,3	1/33,3	2/40,0	0
Целлобиоза Cellobiosis	1/33,3	1/33,3	2/40,0	0
Трегалоза Trehalose	1/33,3	1/33,3	3/60,0	0
Мальтоза Maltose	1/33,3	0	3/60,0	0
Лактоза Lactose	1/33,3	0	1/20,0	0
Сахароза Sucrose	1/33,3	0	0	0
Лецитин Lecithin	3/100,0	1/33,3	5/100,0	1/100,0
γ-глутамилтранспептидаза γ-glutamyltranspeptidase	2/66,6	3/100,0	2/40,0	0
Глюкозид Glucoside	3/100,0	3/100,0	0	0
Триптофан Tryptophan	3/100,0	3/100,0	5/100,0	1/100,0
Маннит Mannitol	2/66,6	0	2/40,0	0
Инозитол Inositol	0	0	2/40,0	0
Цитрат Citrate	3/100,0	3/100,0	1/20,0	1/100,0
Нитриты Nitrites	0	0	0	0
Нитраты Nitrates	0	0	0	0

(табл. 5). Большинство видов характеризовались лецитиназной активностью, однако данный фермент обнаружен только у 62,5% штаммов *C. arthrosphaerae*, а у *C. oncorhynchi* — отсутствовал.

Среди исследуемых бактерий фибринолитической активностью обладали 75% штаммов *C. arthrosphaerae* и 50% штаммов *C. gleum*, а 12,5% штаммов *C. arthrosphaerae* и 50% штаммов *C. indologenes* обладали способностью к гемолизу. Лизиндегидролаза обнаружена у всех штаммов *C. gleum* и у 25% штаммов *C. arthrosphaerae* и *C. indologenes*, а аргининдегидролаза — только у 50% штаммов *C. arthrosphaerae*. От 50 до 100% штаммов бактерий рода *Chryseobacterium* spp. продуцировали пептидазу.

Все исследованные штаммы бактерий родов *Elizabethkingia* и *Empedobacter* разжижали желатин, не продуцировали фибринолизин, лецитиназная активность установлена для всех штаммов *E. meningoseptica* и *E. anopheles* и для 60% штаммов *E. falsenii* (табл. 6). К продукции плазмокоагулазы способен *E. brevis*, 33,3% штаммов *E. anopheles* и 20% *E. falsenii*. У всех штаммов родов *Elizabethkingia* и *Empedobacter* фермент фибринолизин не был активен. Способностью к гемолизу обладали 60% штаммов *E. falsenii* и 33,3% штаммов *E. meningoseptica*, лизиндегидролаза обнаружена у всех штаммов *E. meningoseptica* и у 40% штаммов *E. falsenii*, аргининдегидролаза — у 33,3% штаммов *E. meningoseptica* и у 20% штаммов *E. falsenii*, пептидаза — у всех штаммов *E. brevis* и *E. anopheles*, у 33,3% штаммов *E. meningoseptica*, у 60% штаммов *E. anopheles*.

Анализ полученных результатов показал, что представители семейства *Weeksellaceae* характеризуются широким набором ферментативных систем, наиболее выраженных для *C. arthrosphaerae* и *E. meningoseptica*, благодаря которым реализуется их патогенетический потенциал.

Таблица 5. Ферментативная активность штаммов бактерий рода *Chryseobacterium* spp.

Table 5. Enzymatic activity of bacteria *Chryseobacterium* spp.

Фермент The enzyme	**Виды**/Species					
	C. arthrosphaerae	***C. gleum***	***C. indologenes***	***C. ureilyticum***	***C. tructae***	***C. oncorhynchi***
	Количество штаммов с положительным результатом (абс./%) The number of strains with a positive result (abs./%)					
Желатиназа Gelatinase	8/100,0	2/100,0	4/100,0	1/100,0	4/100,0	1/100,0
Плазмокоагулаза Plasmocoagulase	8/100,0	2/100,0	4/100,0	1/100,0	4/100,0	1/100,0
Фибринолизин Fibrinolysin	6/75,0	1/50,0	0	0	0	0
Лецитиназа Lecithinase	5/62,5	2/100,0	4/100,0	1/100,0	4/100,0	0
Гемолизин Hemolysin	1/12,5	0	2/50.0	0	0	0
Лизиндегидролаза Lysine Dehydrolase	2/25,0	2/100,0	1/25,0	0	0	0
Аргининдегидролаза Arginine Dehydrolase	4/50,0	0	0	0	0	0
Пептидаза Peptidase	4/50,0	2/100,0	2/50,0	1/100,0	3/75,0	1/100,0

Таблица 6. Ферментативная активность штаммов бактерий родов *Elizabethkingia* spp. и *Empedobacter* spp.

Table 6. Enzymatic activity of bacteria *Elizabethkingia* spp. and *Empedobacter* spp.

Фермент The enzyme	**Виды**/Species			
	E. meningoseptica	***E. anophelis***	***E. falsenii***	***E. brevis***
	Количество штаммов с положительным результатом (абс./%) The number of strains with a positive result (abs./%)			
Желатиназа/Gelatinase	3/100,0	3/100,0	5/100,0	1/100,0
Плазмокоагулаза/Plasmocoagulase	0	1/33,3	1/20,0	1/100,0
Фибринолизин/Fibrinolysin	0	0	0	0
Лецитиназа/Lecithinase	3/100,0	3/100,0	3/60,0	0
Гемолизин/Hemolysin	1/33,3	0	3/60,0	0
Лизиндегидролаза/Lysine Dehydrolase	3/100,0	0	2/40,0	0
Аргининдегидролаза/Arginine Dehydrolase	1/33,3	0	1/20,0	0
Пептидаза/Peptidase	1/33,3	3/100,0	3/60,0	1/100,0

По результатам ПЦР показано, что все изученные штаммы бактерий рода *Chryseobacterium* имели ген, кодирующий синтез фермента коллагеназы (табл. 7). В геноме 37,5–87,5% штаммов бактерий *C. arthrosphaerae* обнаружены гены ферментов нейраминидазы, гиалуронидазы, эластазы, уреазы, гемолизина и фосфолипазы, у всех штаммов *C. gleum* — гены, детерминирующие синтез эластазы, уреазы, гемолизина и фосфолипазы, а у 50% штаммов бактерий *C. arthrosphaerae* и *C. gleum* — нейраминидазы и гиалуронидазы. Генетические детерминанты нейраминидазы и эластазы выявлены у всех штаммов *C. indologenes*, у 75% штаммов — гиалуронидазы и 50% этих штаммов — уреазы, гемолизина и фосфолипазы. У штамма *C. ureilyticum* не обнаружены гены, детерминирующие синтез уреазы и гемолизина. В геноме штамма *C. oncorhynchi* обнаружен ген нейраминидазы, у 75% штаммов *C. tructae* — гены нейраминидазы, эластазы, уреазы, гемолизина, а 50% этих штаммов — гиалуронидазы и фосфолипазы.

В составе генома всех штаммов бактерий *Elizabethkingia* spp. и *Empedobacter* spp. также присутствовал ген, кодирующий синтез фермента коллагеназы (табл. 8). У 66,6% штаммов *E. meningoseptica* обнаружены гены, детерминирующие синтез эластазы и фосфолипазы, у 33,3% штаммов — нейраминидазы, гиалуронидазы, уреазы и гемолизина. Генетические детерминанты синтеза гиалуронидазы, эластазы, уреазы, гемолизина и фосфолипазы обнаружены у 66,6% штаммов *E. anopheles*, нейраминидазы — у 33,3% этих штаммов. У всех штаммов *E. falsenii* обнаружены гены гиалуронидазы и гемолизина, у 80% этих штаммов — ген нейраминидазы, у 60% штаммов — ген эластазы и у 20% — ген фосфолипазы; у штамма *E. brevis* обнаружены гены нераминидазы и уреазы.

Обсуждение

В настоящее время в инфекционной патологии человека возрастает роль некогда сапрофитных бактерий. Особую настороженность в этом отношении вызывают представители семейства *Weeksellaceae*. Несмотря на то что первое упоминание о них относится к 1923 г. [11], данные об их клинической роли в патогенезе инфекционных заболеваний появились в последние два десятилетия. Чаще всего они являются причиной возникновения бактериемий, менингитов, заболеваний респираторного тракта и мочевыводящих путей, а наиболее уязвимыми для них становятся пациенты с ослабленным иммунитетом, хроническими заболеваниями, а также находящиеся на длительном госпитальном лечении [3, 4, 21]. Согласно данным литературы большинство представителей семейства *Weeksellaceae* характеризуется природной устойчивостью к широкому спектру противомикробных препаратов и обладают значитель-

Таблица 7. Детекция генов, ответственных за продукцию ферментов — факторов вирулентности бактерий рода *Chryseobacterium*

Table 7. Detection of genes responsible for the production of enzymes — virulence factors of bacteria of the genus *Chryseobacterium*

Ген/Кодируемый фермент Gene/Encoded enzyme	**Виды**/Species					
	C. arthrosphaerae	***C. gleum***	***C. indologenes***	***C. ureilyticum***	***C. tructae***	***C. oncorhynchi***
	Количество штаммов с положительным результатом (абс./%) The number of strains with a positive result (abs./%)					
***f2z28_rs08635*/ Нейраминидаза** Neuraminidase	6/75,0	1/50,0	4/100,0	1/100,0	3/75,0	1/100,0
***bstab16_rs23140*/ Гиалуронидаза** Hyaluronidase	3/37,5	1/50,0	3/75,0	1/100,0	2/50,0	0
***e5165_rs04885*/ Коллагеназа** Collagenase	8/100,0	2/100,0	4/100,0	1/100,0	4/100,0	1/100,0
***lasB*/Эластаза** Elastase	4/50,0	2/100,0	4/100,0	1/100,0	3/75,0	0
***ureC*/Уреаза** Urease	5/62,5	2/100,0	2/50,0	0	3/75,0	0
***bbd35-rs01550*/ Гемолизин** Hemolysin	7/87,5	2/100,0	2/50,0	0	3/75,0	0
***bbd35_rs12855*/ Фосфолипаза** Phospholipase	6/75,0	2/100,0	2/50,0	1/100,0	2/50,0	0

Таблица 8. Детекция генов, ответственных за продукцию ферментов — факторов вирулентности бактерий рода *Elizabethkingia* и *Empedobacter*

Table 8. Detection of genes responsible for the production of enzymes — virulence factors of bacteria of the genus *Elizabethkingia* and *Empedobacter*

Ген/Кодируемый фермент Gene/Encoded enzyme	**Виды**/Species			
	E. meningoseptica	***E. anophelis***	***E. falsenii***	***E. brevis***
	Количество штаммов с положительным результатом (абс./%) The number of strains with a positive result (abs./%)			
***f2z28_rs08635*/Нейраминидаза** Neuraminidase	1/33,3	1/33,3	4/80,0	1/100,0
***bstab16_rs23140*/Гиалуронидаза** Hyaluronidase	1/33,3	2/66,6	5/100,0	0
***e5165_rs04885*/Коллагеназа** Collagenase	3/100,0	3/100,0	5/100,0	1/100,0
***lasB*/Эластаза** Elastase	2/66,6	2/66,6	3/60,0	0
***ureC*/Уреаза** Urease	1/33,3	2/66,6	2/40,0	1/100,0
***bbd35-rs01550*/Гемолизин** Hemolysin	1/33,3	2/66,6	5/100,0	0
***bbd35_rs12855*/Фосфолипаза** Phospholipase	2/66,6	2/66,6	1/20,0	0

ным набором разнообразных факторов вирулентности, в том числе отвечающих за инвазию и персистенцию бактерий, что позволяет им успешно участвовать в развитии инфекционного процесса [18, 22]. Это и определяет актуальность изучения данной группы бактерий.

Проведенные нами исследования показали, что морфологические свойства и биохимическая активность бактерий родов *Chryseobacterium, Elizabethkingia* и *Empedobacter* согласуются с данными, представленными в работах отечественных и зарубежных авторов [8, 22].

По данным ряда авторов, важнейшими факторами вирулентности представителей семейства *Weeksellaceae* являются протеазы и способность к образованию биопленки [22]. Однако до настоящего времени спектр факторов, детерминирующий их патогенетический потенциал, остается малоизученным. Фенотипические методы исследования ферментативной активности показали, что все исследуемые штаммы бактерий семейства *Weeksellaceae* характеризуются желатиназной активностью, а представители рода *Chryseobacterium* spp. — еще и способностью к синтезу плазмокоагулазы. Способность к продукции других ферментов агрессии менее выражена и носила штаммовую специфичность. Анализ генетического профиля факторов вирулентности исследуемых бактерий показал, что в составе генома исследуемых штаммов чаще всего обнаруживали гены, кодирующие ферменты лецитиназу, гиалуронидазу, эластазу и гемолизин, а у бактерий рода *Chryseobacterium* spp. и *Empedobacter* spp. — нейроаминидазу, которые способствуют преодолению тканевых барьеров, инвазии и распространению возбудителя по макроорганизму. Полученные результаты согласуются с опубликованными ранее данными, в которых приведена характеристика генетических детерминант условно-патогенных представителей семейства *Weeksellaceae*, в частности, описание 44 генов, кодирующих разные факторы патогенности бактерий рода *Elizabethkingia* и консервативные факторы вирулентности микроорганизмов рода *Chryseobacterium* spp. [4, 8, 22]

Таким образом, анализ современной литературы и полученные результаты указывают на особую клиническую роль бактерий семейства *Weeksellaceae*, что определяет значимость глубокого изучения биологических свойств и факторов вирулентности представителей родов *Chryseobacterium* spp., *Elizabethkingia* spp. и *Empedobacter* spp.

Благодарности

Авторы выражают сердечную признательность коллективам кафедр микробиологии и физиологии растений и биохимии и биофизики Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского и сотрудникам микробиологического отдела КДЛ клиник ФГБОУ СамГМУ Минздрава России за помощь в проведении научного исследования и ценным рекомендациям.

Список литературы/References

1. Боронина Л.Г., Кукушкина М.П., Крутова К.В., Блинова С.М. Род Chryseobacterium (Flavobacterium): клиническое значение, идентификация, чувствительность к антибиотикам // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2003. Т. 5, № 3. С. 243–250. [Boronina L.G., Kukushkina M.P., Krutova K.V., Blinova S.M. Chryseobacterium (Flavobacterium): Clinical Significance, Identification, Antimicrobial Susceptibility. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy, 2003, vol. 5, no. 3, pp. 243–250. (In Russ.)*]
2. Канашенко М.Е., Карцев Н.Н., Мицевич И.П., Храмов М.В., Светоч Е.А. Elizabethkingia meningoseptica как значимый клинический патоген // Бактериология. 2019. Т. 4, № 1. С. 58–63. [Kanashenko M.E., Kartsev N.N., Mitsevich I.P., Khramov M.V., Svetoch E.A. Elizabethkingia meningoseptica as a significant clinical pathogene. *Bakteriologiya = Bacteriology, 2019, vol. 4, no. 1, pp. 58–63. (In Russ.)*] *doi: 10.20953/2500-1027-2019-1-58-63*
3. Кондратенко О.В., Зубова К.В., Бочкарева П.В., Исматуллин Д.Д. Распространенность представителей порядка Flavobacteriales у пациентов с муковисцидозом в Российской Федерации // Проблемы медицинской микологии. 2023. № 1. С. 55–59. [Kondratenko O.V., Zubova K.V., Bochkareva P.V., Ismatullin D.D. Prevalence of representatives of the order Flavobacterales in patients with cysistic fibriosis in the Russian Federation. *Problemy meditsinskoi mikologii = Problems of Medical Mycology, 2023, vol. 25, no. 1, pp. 55–59. (In Russ.)*] *doi: 10.24412/1999-6780-2023-1-55-59*
4. Лабинская А.С., Блинкова Л.П., Ещина А.С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований: Учебное пособие. М.: Медицина, 2004. 576 с. [Labinskaya A.S., Blinkova L.P, Yeshina A.S. General and Sanitary Microbiology with Microbiological Research Techniques: A Textbook. *Moscow: Meditsina, 2004. 576 p. (In Russ.)*]
5. Петерсон А.М., Чиров П.А. Практические рекомендации для идентификации сапрофитных и условно-патогенных бактерий по фенотипическим признакам. Саратов: Изд-во Саратовского университета, 2005. 23 с. [Peterson A.M., Chirov P.A. Practical recommendations for the identification of saprophytic and opportunistic bacteria by phenotypic characteristics. *Saratov: Izdatel'stvo Saratovskogo universiteta, 2005. 23 p. (In Russ.)*]
6. Abdalhamid B., Elhadi N., Alsamman K., Aljindan R. Chryseobacterium gleum pneumonia in an infant with nephritic syndrome. *ID Case, 2016, vol. 5, pp. 34–36. doi: 10.1016/j.idcr.2016.06.004*
7. Ahsan M.J., Ahmad S., Latif A., Reddy J.T. Chryseobacterium spp-associated bacteraemia in a haemodialysis patient: a diagnostic challenge. *BMJ Case Rep., 2019, vol. 12: e232000. doi: 10.1136/bcr-2019-232000*
8. Alon D., Karniel E., Zohar I., Stein G.Y. Chryseobacterium indologenes bacteremia: clinical and microbiological characteristics of an emerging infection. *Int. J. Clin. Med., 2018, vol. 9, pp. 520–527. doi: 10.4236/ijcm.2018.96045*
9. Andriyanov P.A., Zhurilov P.A., Kashina D.D., Tutrina A.I., Liskova E.A., Razheva I.V., Kolbasov D.V., Ermolaeva S.V. Antimicrobial resistance and comparative genomic analysis of Elizabethkingia anophelis subsp. Endophytica isolated from raw milk. *Antibiot. (Basel), 2022, vol. 11, no. 5: 648. doi: 10.3390/antibiotics11050648*
10. Bernardet J.F. Order I. Flavobacteriales ord. nov. *Bergey's Manual Syst. Bacteriol., 2010, vol. 2, no. 4, pp. 105–106. doi: 10.1002/9781118960608.obm00033*
11. Bernardet J.F., Nakagawa Y. An introduction to the family Flavobacteriaceae. *New York: Springer, 2006, pp. 455–480. doi: 10.1007/0-387-30747-8_16*
12. Chiang M.H., Chang F.J., Kesavan D.K., Vasudevan A., Xu H., Lan K.L., Huang S.W., Shang H.S., Chuang Y.P., Yang Y.S., Chen T.L. Proteomic network of antibiotic-induced outer membrane vesicles released by extensively drug-resistant Elizabethkingia anopheles. *Microbiol. Spectr., 2022: e0026222. doi: 10.1128/spectrum.00262-22*
13. Choi M.H., Kim M., Jeong S.J., Choi J.Y., Lee I.Y., Yong T.S., Yong D., Jeong S.H., Lee K. Risk factors for Elizabethkingia acquisition and clinical characteristics of patients, South Korea. *Emerg. Infect. Dis., 2019, vol. 25, no. 1, pp. 42–51. doi: 10.3201/eid2501.171985*
14. Corbella M., Brandolini M., Cambieri P., Decambrino N., Pagani M., Bottazzi A., Muzzi A., Zecca M., Mariani B., Marone P. A catheter-related bloodstream infection caused by Chryseobacterium indologenes successfully treated with antibiotic-lock rescue therapy. *New Microbiol., 2017, vol. 40, pp. 223–225.*
15. Damas M.S.F., Ferreira R.L., Campanini E.B., Soares G.G., Campos L.C., Laprega P.M., Soares da Costa A., Freire C.C.M., Pitondo-Silva A., Cerdeira L.T., da Cunha A.F., da Silva Pranchevicius M.C. Whole genome sequencing of the multidrug-resistant Chryseobacterium indologenes isolated from a patient in Brazil. *Front. Med., 2022, vol. 9: 931379. doi: 10.3389/fmed.2022.931379*
16. Izaguirre-Anariba D.E., Sivapalan V. Chryseobacterium indologenes, an emerging bacteria: a case report and review of literature. *Cureus, 2020, vol. 12, no. 1: e6720. doi: 10.7759/cureus.6720*
17. Lim H.G., Seo S.W., Jung G.Y. Engineered Escherichia coli for simultaneous utilization of galactose and glucose. *Bioresour. Technol., 2013, vol. 135, pp. 564–567. doi: 10.1016/j.biortech.2012.10.124*
18. Maaroufi R., Dziri O., Hadjadj L., Diene S.M., Rolain J.M., Chouchani C. Detection by whole-genome sequencing of a novel metallo-β-lactamase produced by Wautersiella falsenii causing urinary tract infection in Tunisia. *Pol. J. Microbiol., 2022, vol. 71, no. 1, pp. 73–81. doi: 10.33073/pjm-2022-010*
19. Martinez V., Matabang M.A., Miller D., Aggarwal R., LaFortune A. First case report on Empedobacter falsenii bacteremia. *IDCases, 2023, vol. 33: e01814. doi: 10.1016/j.idcr.2023.e01814*
20. McBride M.J. The Family Flavobacteriaceae. *The Prokaryotes, 2014, pp. 643–667. doi: 10.1007/978-3-642-38954-2_130*
21. Mirza H.C., Tuncer Ö., Ölmez S., Şener B., Tuğcu G.D., Özçelik U., Gürsoy N.C., Otlu B., Büyükçam A., Kara A., Sancak B. Clinical strains of Chryseobacterium and Elizabethkingia spp. isolated from pediatric patients in a university hospital: Performance of MALDI-TOF MS-based identification, antimicrobial susceptibilities, and baseline patient characteristics. *Microb. Drug Resist., 2018, vol. 24, no. 6, pp. 816–821. doi: 10.1089/mdr.2017.0206*
22. Mwanza E.P., Hugo A., Charimba G., Hugo C.J. Pathogenic potential and control of Chryseobacterium species from clinical, fish, food and environmental sources. *Microorganisms, 2022, vol. 25, no. 5: 895. doi: 10.3390/microorganisms10050895*

23. Olowo-Okere A., Ibrahim Y.K.E., Olayinka B.O., Mohammed Y., Nabti L.Z., Lupande-Mwenebitu D., Rolain J.M., Diene S.M. Genomic features of an isolate of Empedobacter falsenii harbouring a novel variant of metallo-β-lactamase, blaEBR-4 gene. *Infect. Genet. Evol., 2022, vol. 98: 105234. doi: 10.1016/j.meegid.2022.105234*
24. Pickett M.J. Methods for identification of Flavobacteria. *J. Clin. Microbiol., 1989, vol. 27, pp. 2309–2315. doi: 10.1128/jcm.27.10.2309-2315.1989*
25. Reed T.A.N., Watson G., Kheng C., Tan P., Roberts T., Ling C.L., Miliya T., Turner P. Elizabethkingia anophelis infection in infants, Cambodia, 2012–2018. *Emerg. Infect. Dis., 2020, vol. 26, no. 2, pp. 320–322. doi: 10.3201/eid2602.190345*
26. Snesrud E., McGann P., Walsh E. Clinical and genomic features of the first cases of Elizabethkingia anophelis infection in New York, including the first case in a healthy infant without previous nosocomial exposure. *J. Pediatr. Infect. Dis. Soc., 2019, vol. 8, no. 3, pp. 269–271. doi: 10.1093/jpids/piy071*
27. Sud A., Chaudhary M., Baveja C.P., Pandey P.N. Rare case of meningitis due to an emerging pathogen Chryseobacterium indologenes. *SAGE Open Med. Case Rep., 2020, vol. 8, pp. 1–4. doi: 10.1177/2050313X20936098*
28. Swami M., Mude P., Kar S., Sarathi S., Mohapatra A., Devi U., Mohanty P.K., Som T.K., Bijayini B., Sahoo T. Elizabethkingia meningoseptica Outbreak in NICU: An Observational Study on a Debilitating Neuroinfection in Neonates. *Pediatr. Infect. Dis. J., 2024, vol. 43, no. 1, pp. 63–68. doi: 10.1097/INF.0000000000004117*
29. Tang H.J., Lin Y.T., Chen C.C., Chen C.W., Lu Y.C., Ko W.C., Chen H.J., Su B.A., Chang P.C., Chuang Y.C., Lai C.C. Molecular characteristics and *in vitro* effects of antimicrobial combinations on planktonic and biofilm forms of Elizabethkingia anophelis. *J. Antimicrob. Chemother., 2021, vol. 76, no. 5, pp. 1205–1214. doi: 10.1093/jac/dkab018*
30. Wu C., Xiong L., Liao Q., Zhang W., Xiao Y., Xie Y. Clinical manifestations, antimicrobial resistance and genomic feature analysis of multidrug-resistant Elizabethkingia strains. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob., 2024, vol. 23, no. 32, pp. 23–32. doi: 10.1186/s12941-024-00691-6*
31. Zeng Y., Dong N., Zhang R., Liu C., Sun Q., Lu J., Shu L., Cheng Q., Chan E.W., Chen S. Emergence of an Empedobacter falsenii strain harbouring a tet(X)-variant-bearing novel plasmid conferring resistance to tigecycline. *J. Antimicrob. Chemother., 2020, vol. 75, no. 3, pp. 531–536. doi: 10.1093/jac/dkz489*
32. Zhang Y., Li D., Yang Y., Su J., Xu X., Wang M., Chen Y., Li Y. Clinical and molecular characteristics of Chryseobacterium indologenes isolates at a teaching hospital in Shanghai, China. *Ann. Transl. Med., 2021, vol. 9: 668. doi: 10.21037/atm-21-933*

Авторы:

Зубова К.В., ассистент кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, Россия;
Кузнецова В.А., специалист лаборатории по сбору и хранению биоматериалов ФГБУ НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Минздрава России, Москва, Россия;
Каневский М.В., к.б.н., доцент кафедры биохимии и биофизики, зав. учебно-научной лабораторией молекулярной биологии ФГБОУ ВО Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского Минобрнауки РФ, г. Саратов, Россия;
Кондратенко О.В., д.м.н., доцент, и.о. зав. кафедрой медицинской микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Самара, Россия;
Глинская Е.В., к.б.н., доцент, доцент кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов, Россия;
Нечаева О.В., д.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии отдела молекулярной микробиологии и биоинформатики Института микробиологии, антимикробной терапии и эпидемиологии, ФГБУ НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова Минздрава России, Москва, Россия; профессор кафедры медицинской микробиологии им. акад. З.В. Ермольевой ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования МЗ РФ, Москва, Россия;
Афиногенова А.Г., д.б.н., ведущий научный сотрудник, руководитель испытательного лабораторного центра ФБУН НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Zubova K.V., Assistant Professor, Department of Microbiology and Plant Physiology, Saratov State University, Saratov, Russian Federation;
Kuznetsova V.A., Specialist of the Laboratory for the Collection and Storage of Biomaterials, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakov, Moscow, Russian Federation;
Kanevsky M.V., PhD (Biology), Associate Professor of the Department of Biochemistry and Biophysics, Head of the Educational and Scientific Laboratory of Molecular Biology, aratov State University, Saratov, Russian Federation;
Kondratenko O.V., DSc (Medicine), Associate Professor, Acting Head of the Department of Medical Microbiology and Immunology, Samara State Medical University of Ministry of Healthcare of Russian Federation, Samara, Russian Federation;
Glinskaya E.V., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology and Plant Physiology, Biological Faculty, Saratov State University, Saratov, Russian Federation;
Nechaeva O.V., DSc (Biology), Associate Professor, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, Department of Molecular Microbiology and Bioinformatics, Institute of Microbiology, Antimicrobial Therapy and Epidemiology, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakov, Moscow, Russian Federation; Professor of the Department of Medical Microbiology named after Academician Z.V. Ermolyeva, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russian Federation;
Afinogenova A.G., DSc (Biology), Leading Researcher, Head of Laboratory Testing Centre, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 04.02.2025
Принята к печати 18.05.2025

Received 04.02.2025
Accepted 18.05.2025

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 517–528

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 517–528

ОЦЕНКА ПОПУЛЯЦИОННОГО ИММУНИТЕТА К ВИРУСУ ГЕПАТИТА Е У НАСЕЛЕНИЯ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА И ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

А.Ю. Попова[1], А.Ю. Горбунова[2], Ю.В. Останкова[2], С.А. Егорова[2], Д.Э. Рейнгардт[2], А.Р. Иванова[2], А.Н. Щемелев[2], И.В. Дрозд[2], О.Б. Жимбаева[2], Е.М. Данилова[2], А.М. Миличкина[2], Е.Б. Ежлова[1], А.А. Мельникова[1], Н.С. Башкетова[3], Л.В. Буц[2], А.А. Тотолян[2]

[1] Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия
[2] ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
[3] Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по городу Санкт-Петербургу и Ленинградской области, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Вирус гепатита Е (ВГЕ) представляет собой значимую медико-социальную проблему, характеризующуюся высокой распространенностью и серьезными клиническими последствиями, особенно среди уязвимых категорий населения, включая беременных женщин и индивидуумов с иммунодефицитными состояниями. Существующая недостаточная информированность населения о клинической картине заболевания в сочетании с ограниченной частотой тестирования на маркеры гепатита Е приводят к значительной доле недиагностированных случаев инфицирования. На территории Российской Федерации отмечаются спорадические вспышки заболеваемости, однако полная эпидемиологическая картина остается недостаточно изученной вследствие объективных сложностей в диагностике и ограниченной доступности специализированных лабораторных исследований. Целью нашей работы было проведение оценки истинной распространенности антител к ВГЕ в популяции Санкт-Петербурга и Ленинградской области в зависимости от инфекционного статуса и социо-демографических характеристик. Методология исследования включала проведение популяционного скрининга, в рамках которого было обследовано 6773 добровольца в возрастном диапазоне от 1 года до 70+ лет. Определение специфических антител класса IgG к ВГЕ осуществляли методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы «Вектогеп-Е IgG». *Результаты.* Полученные результаты продемонстрировали наличие антител к ВГЕ у 5,1% обследованных лиц (343 из 6773), что эквивалентно показателю распространенности 5064,2 на 100 тыс. населения. Выявлена статистически значимая корреляционная зависимость между возрастом обследованных и частотой обнаружения серопозитивных результатов, при этом максимальную частоту обнаружения антител отмечали в старшей возрастной группе (70+ лет). Среди лиц, отрицавших наличие заболевания в анамнезе, частота обнаружения антител составила 5,0%, в то время как среди лиц, которые были не уверены в наличии или отсутствии заболевания в анамнезе, данный показатель достигал 8,1%. Значимое превышение частоты об-

Адрес для переписки:
Останкова Юлия Владимировна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 921 353-81-73.
E-mail: shenna1@yandex.ru

Contacts:
Yuliia V. Ostankova
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 921 353-81-73.
E-mail: shenna1@yandex.ru

Для цитирования:
Попова А.Ю., Горбунова А.Ю., Останкова Ю.В., Егорова С.А., Рейнгардт Д.Э., Иванова А.Р., Щемелев А.Н., Дрозд И.В., Жимбаева О.Б., Данилова Е.М., Миличкина А.М., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Башкетова Н.С., Буц Л.В., Тотолян А.А. Оценка популяционного иммунитета к вирусу гепатита Е у населения Санкт-Петербурга и Ленинградской области // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 517–528. doi: 10.15789/2220-7619-AOS-17949

Citation:
Popova A.Yu., Gorbunova A.Yu., Ostankova Yu.V., Egorova S.A., Reingardt D.E., Ivanova A.R., Shchemelev A.N., Drozd I.V., Zhimbaeva O.B., Danilova E.M., Milichkina A.M., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Bashketova N.S., Buts L.V., Totolian A.A. Assessment of collective immunity to hepatitis E virus in the Saint Petersburg and Leningrad region // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 517–528. doi: 10.15789/2220-7619-AOS-17949

© Попова А.Ю. и др., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-AOS-17949

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

наружения антител к ВГЕ выявлено среди лиц, имеющих в анамнезе оперативные вмешательства или гемотрансфузии по сравнению с волонтерами без таковых. У пациентов с ранее перенесенным гепатитом А антитела к ВГЕ определялись с частотой 6,1%, что свидетельствует о возможности коинфицирования данными вирусными агентами. Для достижения эффективной профилактики ГЕ представляется необходимой разработка стратегии, включающей три основных этапа: популяризация методов неспецифической профилактики инфекционных заболеваний и повышения информированности населения о способах и путях передачи вирусного гепатита Е; изучение вопроса целесообразности и возможности внедрения вакцинопрофилактики к ГЕ по показаниям; проведение дальнейших исследований популяционного иммунитета к вирусу гепатита Е в различных регионах РФ для уточнения эпидемиологической ситуации и выявления потенциальных очагов распространения инфекции.

Ключевые слова: *вакциноуправляемые инфекции, популяционный иммунитет, вирусный гепатит Е, вирус гепатита Е, серопревалентность, антитела, Санкт-Петербург, Ленинградская область, население, когортное исследование.*

ASSESSMENT OF COLLECTIVE IMMUNITY TO HEPATITIS E VIRUS IN THE SAINT PETERSBURG AND LENINGRAD REGION

Popova A.Yu.[a], Gorbunova A.Yu.[b], Ostankova Yu.V.[b], Egorova S.A.[b], Reingardt D.E.[b], Ivanova A.R.[b], Shchemelev A.N.[b], Drozd I.V.[b], Zhimbaeva O.B.[b], Danilova E.M.[b], Milichkina A.M.[b], Ezhlova E.B.[a], Melnikova A.A.[a], Bashketova N.S.[c], Buts L.V.[b], Totolian A.A.[b]

[a] *Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation*
[b] *St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation*
[c] *Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in St. Petersburg and Leningrad Region, St. Petersburg, Russian Federation*

Abstract. Hepatitis E virus (HEV) represents a significant medical and social problem characterized by high prevalence and serious clinical consequences, particularly among vulnerable population groups including pregnant women and individuals with immunodeficiency conditions. The existing insufficient awareness of the disease's clinical picture combined with limited testing for hepatitis E markers leads to a substantial proportion of undiagnosed infection cases. In the Russian Federation, sporadic outbreaks of HEV infection are observed; however, the complete epidemiological situation remains poorly understood due to objective difficulties in diagnosis and limited availability of specialized laboratory tests. The aim of our study was to assess the true prevalence of anti-HEV antibodies in the population of St. Petersburg and Leningrad region depending on infectious status and socio-demographic characteristics. *Methodology.* A population-based screening was conducted involving 6773 volunteers aged from 1 year to over 70 years old. Specific IgG class antibodies against HEV were detected using an enzyme immunoassay method with the test system "Vectogep-E IgG". *Results.* The results demonstrated that anti-HEV antibodies were present in 5.1% of examined individuals (343 out of 6773), which corresponds to a prevalence rate of 5064.2 per 100 thousand population. There was a statistically significant correlation between age and seropositivity rates, with the highest frequency of antibody detection noted in the older age group (over 70 years). Among those who denied any history of the disease, the antibody detection rate was 5.0%; while among those uncertain about their past health status, this figure reached 8.1%. Significantly higher frequencies of anti-HEV antibody detection were found among individuals with prior surgical interventions or blood transfusions compared to volunteers without such histories. Patients with previously experienced hepatitis A had anti-HEV antibodies at a rate of 6.1%, suggesting possible co-infection by these viral agents. To achieve effective prevention of HEV infections, it is necessary to develop a strategy consisting of three main stages: promoting non-specific preventive measures and increasing public awareness regarding transmission routes and methods of hepatitis E prevention; studying the feasibility and potential benefits of introducing targeted vaccination programs against HEV; conducting further research into population immunity levels to HEV across different regions of Russia to clarify the epidemiological situation and identify potential foci of infection spread.

Key words: *vaccine-preventable infections, population immunity, viral hepatitis E, hepatitis E virus, seroprevalence, antibodies, Saint Petersburg, Leningrad region, population, cohort study.*

Введение

Вирус гепатита Е (ВГЕ) — небольшой безоболочечный РНК-вирус семейства *Hepeviridae*. Впервые он был обнаружен у военнослужащих, проходящих службу в Афганистане в 80-х гг. XX в. [25]. По данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно происходит около 20 млн случаев заражения ВГЕ, что приводит к развитию гепатита Е (ГЕ) и 70 000 смертей, связанных с заболеванием [23]. Наиболее распространен ВГЕ в Азии, Африке и Центральной Америке, особенно в регионах с низким и средним уровнем дохода (до 70% случаев спорадического гепатита у взрослых) [35]. Основной путь заражения в эндемичных районах — фекально-

оральный, что делает районы с плохой санитарией воды особенно уязвимыми [16]. Особую эпидемиологическую значимость имеют промежуточные хозяева — моллюски, которые аккумулируют вирус в своих тканях при обитании в водоемах с нарушенными санитарными показателями. Кроме того, алиментарный путь инфицирования реализуется также через контаминированные фрукты и листовые овощи (салаты), которые подвергаются поливу и/или гидрообработке водой ненадлежащего качества [34, 40]. Однако в развитых странах передача ВГЕ все чаще происходит алиментарным путем, например, при употреблении свинины без должной термической обработки [19]. Кроме того, вирус в такие страны может быть завезен посредством миграции (в том числе трудовой) лиц из эндемичных по указанному патогену регионов, а также за счет туристических поездок жителей в такие регионы [23].

Хотя инфекция, вызванная ВГЕ во многих случаях проходит сама по себе (саморазрешающийся острый желтушный гепатит), гепатит Е по-прежнему остается одной из глобальных проблем здравоохранения. Показатели смертности и частота возникновения фульминантной печеночной недостаточности значительны у пожилых пациентов мужского пола (смертность 6,5–10%), беременных женщин (смертность 25–30%) и пациентов с хроническими заболеваниями печени (смертность 22–43%) [31]. Лечение обычно поддерживающее, однако пациентам с ослабленным иммунитетом и хронической инфекцией, а также группам высокого риска может потребоваться противовирусное лечение для предотвращения прогрессирования заболевания печени и связанной с ним смертности. Последние исследования показали эффективность рибавирина у лиц с тяжелой или хронической инфекцией [32, 33]. Очевидно, что для пациентов из групп риска, включая лиц с ослабленным иммунитетом, необходим регулярный скрининг на маркеры ГЕ с целью своевременного выявления и начала терапии.

В Российской Федерации (РФ), начиная с 2013 г., в отчетные формы федерального статистического наблюдения введена регистрация случаев острого вирусного гепатита Е (ОГЕ). Следует отметить, что в частоте регистрации ГЕ существенную роль играет качество и доступность лабораторной диагностики, а также настороженность врачей в отношении данной инфекции. Фактически единственными доступными биомаркерами для выявления ГЕ являются IgG- и IgM-антитела. Всего в РФ за 2013 г. был зарегистрирован 91 случай заболевания этой инфекцией [3]. С момента введения в регистрацию (2013 г.) ОГЕ по 2016 г. показатель заболеваемости ежегодно составляет 0,7–0,8 на 100 тыс. населения [4]. Небольшой подъем заболеваемости наблюдался с 2017 по 2019 гг. Так в 2017 г. было зарегистрировано 158 случаев ОГЕ (в 2019 г. — 182, в 2018 г. — 156 случаев), что составило 0,11 случаев на 100 тыс. населения (0,12 случаев на 100 тыс. населения в 2019 г., 0,11 случаев на 100 тыс. населения — в 2018 г.) [5, 6]. С 2020 г., на фоне противоэпидемических мер в отношении новой коронавирусной инфекции (НКВИ), отмечается снижение частоты ОГЕ: в 2020 г. было выявлено 58 случаев, в 2021 г. — 57 случаев, а в 2022 г. — 76 случаев. Таким образом, в этот период заболеваемость ОГЕ составила 0,04–0,05 на 100 тыс. населения [5, 6, 7]. В 2023 г. зарегистрировано 111 случаев ОГЕ, показатель заболеваемости составил 0,08 на 100 тыс. населения. Удельный вес ОГЕ относительно всех острых гепатитов в 2023 г., как и в 2022 г., составил около 2% [8].

Исходя из данных регистрации ГЕ в Санкт-Петербурге за последние 10 лет, можно отметить рост заболеваемости с 2013 по 2018 г. с постепенным ростом показателя заболеваемости с 0,04 до 0,47 случаев на 100 тыс. населения соответственно, и последующее снижения к 2021 г. до 0,07 случаев на 100 тыс. населения. В 2023 г. было зарегистрировано всего 4 случая ГЕ, а заболеваемость регистрировалась на уровне 2021–2022 г. (0,07 случаев на 100 тыс. населения) и была ниже среднемноголетнего показателя в 2 раза. Показатель заболеваемости ОГЕ 2023 г. в Санкт-Петербурге оказался ниже показателя Российской Федерации на 12,5% [9].

Таким образом, целью нашего исследования стало проведение оценки истинной распространенности антител к ВГЕ в популяции г. Санкт-Петербурга и Ленинградской области в зависимости от инфекционного статуса и социо-демографических характеристик.

Материалы и методы

На проведение данного исследования было получено согласие локального Этического комитета ФБУН НИИЭМ имени Пастера (протокол № 166 от 01.08.2023). В рамках работы осуществляли поперечное рандомизированное исследование. Все обследованные дали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Для всех добровольцев было проведено анкетирование с последующей загрузкой собранной информации в базу данных. Анкета содержала вопросы о перенесенном заболевании, его дате и ряде социо-демографических параметров.

Общий объем репрезентативной выборки рассчитывали с помощью специального online калькулятора [30], созданного на основе предельной теоремы Муавра–Лапласа, согласно описанной ранее методологии [12, 13].

Материалом исследования служили образцы плазмы крови, полученные в период с 4 по 29 сентября 2023 г. Когорта обследуемых составила 6773 условно здоровых лиц (волонтеров), проживающих на территории г. Санкт-Петербурга (СПб) (3300 человек) и Ленинградской области (ЛО) (3473 человека) [11]. Волонтеров стратифицировали на 9 возрастных групп: 1–5 лет (n = 370), 6–11 лет (n = 511), 12–17 лет (n = 538), 18–29 лет (n = 792), 30–39 лет (n = 838), 40–49 лет (n = 914), 50–59 лет (n = 900), 69–69 лет (n = 930) и 70+ лет (n = 980). Мужская часть когорты обследованных волонтеров составила 26,4% (n = 1789), а женская — 73,6% (n = 4984).

В настоящем исследовании определяли анти-ВГЕ IgG антитела (маркер перенесенного вирусного гепатита Е) в образцах плазмы периферической крови с использованием диагностического набора «Вектогеп-Е IgG» (АО «Вектор-Бест», Россия), согласно инструкции производителя. Чувствительность составляет 1 мМЕ/мл.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ MS Excel, GraphPad Prizm 9.3 (GraphPad Software Inc., https://www.graphpad.com/support/prism-5-updates).

Таблица 1. Серопревалентность антител анти-ВГЕ IgG среди лиц разных возрастных групп

Table 1. Seroprevalence of anti-HEV IgG antibodies among individuals of different age groups

Возрастные группы, лет Age group, years	**Количество волонтеров, N** Number of volunteers, N	**Наличие анти-ВГЕ IgG** Presence of anti-HEV IgG	
		абс., n abs., n	**%, 95% ДИ** %, 95% CI
1–17 лет 1–17 years	1419	13	0,9% (0,5–1,6)
1–5 лет 1–5 years	370	0	0%
6–11 лет 6–11 years	511	7	1,4% (0,6–2,8)
12–17 лет 12–17 years	538	6	1,1% (0,4–2,4%)
18–29 лет 18–29 years	792	24	3% (2,0–4,5%)
30–39 лет 30–39 years	838	29	3,5% (2,3–4,9%)
40–49 лет 40–49 years	914	49	5,4% (4,0–7,0%)
50–59 лет 50–59 years	900	58	6,4% (4,9–8,3%)
60–69 лет 60–69 years	930	56	6,0% (4,6–7,8%)
70+ лет 70+ years	980	114	11,6% (9,7–13,8%)
Всего Total	6773	343	5,1% (4,6–5,6%)

При оценке статистической погрешности использовали «точный» интервал Клоппера–Пирсона. Результаты представлены с указанием 95% доверительного интервала (95% ДИ). Для оценки достоверности различий численных данных, полученных при парных сравнениях, использовали, в зависимости от характеристик выборок, точный критерий Фишера или критерий Хи-квадрат с поправкой Йейтса. В качестве порога достоверности отличий было определено значение вероятности $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводился в зависимости от соответствия параметрического распределения с использованием коэффициента ранговой корреляции r_S Спирмена. Достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты

В обследуемой группе анти-ВГЕ IgG антитела были выявлены у 343 лиц из 6773 условно здоровых добровольцев, что составило 5,1% (95% ДИ: 4,6–5,6%). Распространенность антител к ВГЕ среди мужчин не отличалась от таковой среди женщин. При анализе распространенности антител в зависимости от возраста наблюдалась тенденция к повышению встречаемости с увеличением возраста (табл. 1).

При последовательном сравнении серопревалентности по возрастным группам достоверные различия были выявлены только между группами 12–17 лет и 18–29 лет — $\chi^2 = 4,496$ при $p = 0,034$, df = 1, OR = 2,771 (95% ДИ: 1,1–6,8), а также между группами 60–69 лет и 70 лет и более — $\chi^2 = 17,843$ при $p < 0,0001$, df = 1, OR = 2,055 (95% ДИ: 1,5–2,9).

В то же время ВГЕ относится к энтеральным гепатитам, следовательно заболеваемость ГЕ протекает волнообразно. Исходя из этого, были объединены близковозрастные группы, не отличающиеся друг от друга по распространенности анализируемого маркера. Не было выявлено различий между группами детей 1–5 лет, 6–11 лет и 12–17 лет ($p > 0,05$), между группами 18–29 лет и 30–39 лет ($p > 0,05$), а также между группами 40–49 лет, 50–59 лет, 60–69 лет ($p > 0,05$), в связи с чем в дальнейшем сравнительный анализ проводили относительно объединенных групп 1–17 лет, 18–39 лет, 40–69 лет и группы 70 лет и более. Показано, что антитела в группе 1–17 лет встречались реже (n = 13; 0,9%, 95% ДИ: 0,5–1,6%), чем в группе 18–39 лет (n = 53; 3,3%, 95% ДИ: 2,4–4,2%) — $\chi^2 = 18,450$ при $p < 0,0001$, df = 1, OR = 3,635 (95% ДИ: 2,0–6,7), в группе 40–69 лет (n = 163; 5,9%, 95% ДИ: 5,1–6,9%) — $\chi^2 = 57,074$ при $p < 0,0001$, df = 1, OR = 6,8 (95% ДИ: 3,9–12,1), и в группе 70 лет и более (n = 114; 11,6%, 95% ДИ: 9,7–13,8%) — $\chi^2 = 130,65$ при $p < 0,0001$, df = 1, OR = 14,2 (95% ДИ: 8,0–25,4).

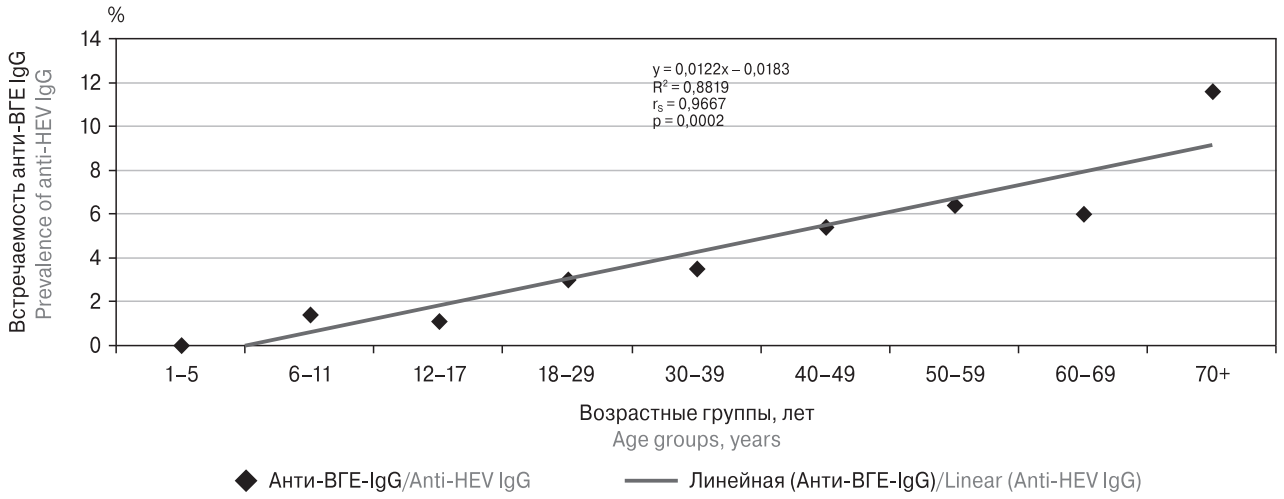


Рисунок 1. Частота встречаемости анти-ВГЕ IgG в возрастных группах в СПб и ЛО
Figure 1. Frequency of anti-HEV IgG occurrence in different age groups in St. Petersburg and Leningrad Oblast

Серопревалентность в группе 18–39 лет отличалась от таковой в группах 40–69 лет и 70 лет и более — $\chi^2 = 15{,}179$ при $p < 0{,}0001$, df = 1, OR = 1,9 (95% ДИ: 1,4–2,6) и $\chi^2 = 70{,}39$ при $p < 0{,}0001$, df = 1, OR = 3,9 (95% ДИ: 2,8–5,5), соответственно. Встречаемость анти-ВГЕ IgG между группами 40–69 лет и 70 лет и более — $\chi^2 = 33{,}164$ при $p < 0{,}0001$, df = 1, OR = 2,1 (95% ДИ: 1,6–2,7). В большинстве возрастных групп не выявлено отличий встречаемости анти-ВГЕ IgG антител между мужчинами и женщинами, однако в группе 70 лет и старше в ЛО частота анти-ВГЕ IgG у мужчин (n = 18, 23,1%, 95% ДИ: 14,3–34,0%) достоверно выше, чем у женщин (n = 35, 10,7%, 95% ДИ: 7,6–14,6%) — $\chi^2 = 7{,}425$ при $p = 0{,}0064$, df = 1, OR = 2,5 (95% ДИ: 1,3–4,7).

Определена линейная корреляция распространенности антител анти-ВГЕ IgG с возрастом (рис. 1). Линейная модель хорошо отражает эпидемическую картину, что подтверждает коэффициент детерминации R2 = 0,8819 и, множественный коэффициент корреляции R = 0,94. Коэффициент ранговой корреляции Спирмена $r_S = 0{,}9667$, df = 7, критическое значение критерия Спирмена = 0,7, p = 0,0002, теснота связи по шкале Чеддока — весьма высокая.

Полученные результаты свидетельствуют о контактах жителей Санкт-Петербурга и Ленинградской области с ВГЕ, что приводит к накоплению антител с возрастом.

Следует отметить, что ни один из опрошенных не сообщил, что перенес ГЕ, большинство указали, что не болели, однако некоторые респонденты не были уверены в своем ответе (табл. 2).

Тем не менее распространенность анти-ВГЕ IgG-антител в этих группах очевидно опровергает слова обследованных (рис. 2).

Таким образом, среди лиц, уверенно утверждавших, что не болели ГЕ, встречаемость антител анти-ВГЕ IgG составила 5,0% (n = 332 из 6637; 95% ДИ: 4,5–5,6%), а среди неуверенных — 8,1% (n = 11 из 136; 95% ДИ: 4,1–14,0%).

При оценке серопревалентности относительно сфер деятельности волонтеров, высокая частота антител была определена в группе работников туристической сферы (n = 2 из 20 условно здоровых волонтеров; 10,0%, 95% ДИ: 0,01–31,7%), однако эта группа относительно малочисленна, как и группы военнослужащих (n = 1 из 19; 5,3%, 95% ДИ: 0,1–26,0%) и работников сельского хозяйства (n = 1 из 23; 4,4%, 95% ДИ: 0,1–22,0%), поэтому достоверной разницы частот по сравнению с другими сферами деятельности не обнаружено.

При сравнении групп по сферам деятельности, наиболее представленных среди взрослых волонтеров, были полученные следующие данные: для представителей искусства и творчества (n = 7 из 101 человек) — 6,9%, при 95% ДИ: 2,8–13,8%, у работников государственной службы (n = 17 из 252 человек) — 6,8%, при 95% ДИ: 4,0–10,6%, в сфере производства (n = 17 из 274 человек) — 6,2%, при 95% ДИ: 3,7–9,8%, бизнес-сфере (n = 10 из 167 человек) — 6,0%, при 95% ДИ: 2,9–10,7%, среди медицинских работников (n = 77 из 1423 человек) — 5,4%, при 95% ДИ: 4,3–6,7%, в сфере образования (n = 34 из 651 человек) — 5,2%, при 95% ДИ: 3,6–7,2%, транспортной сфере (n = 5 из 101 человек) — 5,0%, при 95% ДИ: 1,6–11,2%, сфере науки (n = 5 из 118 человек) — 4,2%, при 95% ДИ: 1,4–9,6%, среди работников офиса и IT-сферы (n = 21 из 654 человек) — 3,2%, при 95% ДИ: 2,0–4,9%. Достоверных различий между указанными группами выявлено не было (p > 0,05).

При учете остальных групп наибольшая встречаемость анти-ВГЕ IgG определена среди пенсионеров — 98 из 1158 человек (8,5%, 95% ДИ:

Таблица 2. Информация о перенесенном заболевании ГЕ со слов волонтеров

Table 2. Информация о перенесенном заболевании ГЕ со слов волонтеров

Возрастные группы, лет Age group, years	**Количество волонтеров, N** Number of volunteers, N	**Не болел ГЕ** No HE illness			**Не известно** Unknown		
		абс., n abs., n	**%**	**%, 95%ДИ** %, 95%CI	**абс., n** abs., n	**%**	**%, 95%ДИ** %, 95%CI
1–17 лет 1–17 years	1419	1417	99,9	99,5–100,0	2	0,1	0,02–0,5
1–5 лет 1–5 years	370	370	100	99,0–100,0	0	0	0,0–1,0
6–11 лет 6–11 years	511	511	100	99,3–100,0	0	0	0,0–0,7
12–17 лет 12–17 years	538	536	99,6	98,7–99,95	2	0,4	0,05–1,3
18–29 лет 18–29 years	792	787	99,4	98,5–99,8	5	0,6	0,2–1,5
30–39 лет 30–39 years	838	817	97,5	96,2–9,84	21	2,5	1,6–3,8
40–49 лет 40–49 years	914	893	97,7	96,5–98,6	21	2,3	1,4–3,5
50–59 лет 50–59 years	900	883	98,1	97,0–98,9	17	1,9	1,1–3,0
60–69 лет 60–69 years	930	903	97,1	95,8–98,1	27	2,9	1,9–4,2
70+ лет 70+ years	980	937	95,6	94,1–96,8	43	4,4	3,2–5,9
Всего Total	6773	6637	98,0	97,6–98,3	136	2,0	1,7–2,4

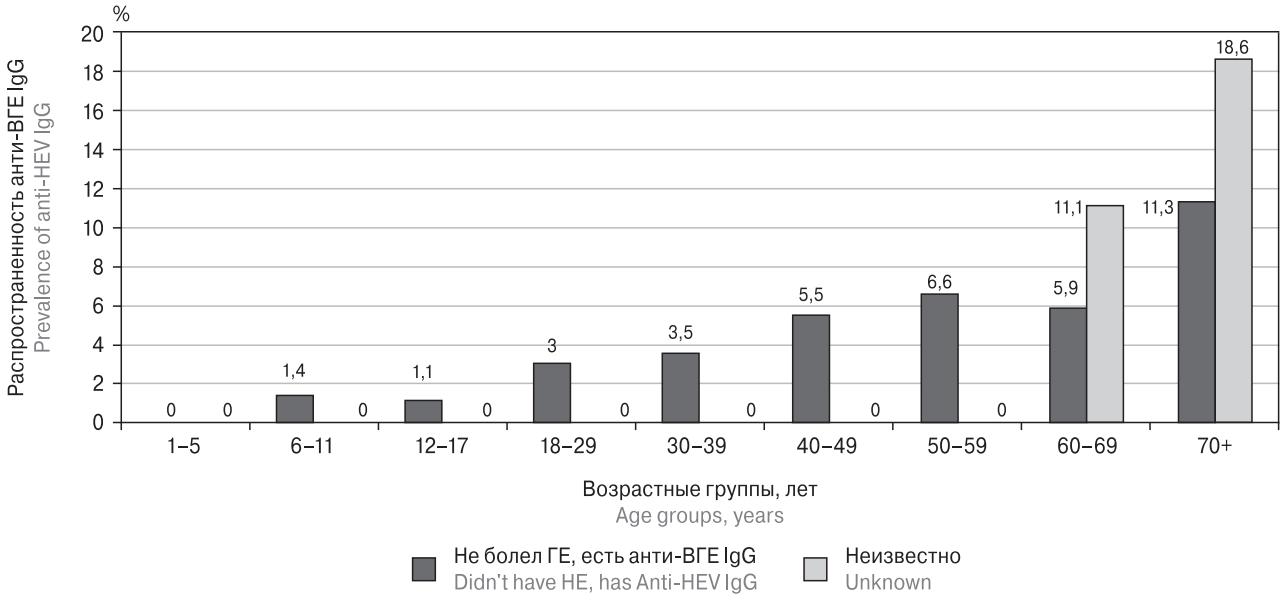


Рисунок 2. Представленность анти-ВГЕ IgG антител среди лиц разных возрастных групп в зависимости от известного инфекционного статуса по ГЕ

Figure 2. Distribution of anti-HEV IgG antibodies among individuals of different age groups depending on known hepatitis E infection status

6,9–9,2%), а самая низкая среди детей ясельного возраста (1 из 370 человек, 0,3%, 95% ДИ: 0,0–1,5%), однако очевидно, что выявленные различия связаны не со сферой деятельности, а с возрастом лиц в указанных группах.

В целом влияние сферы деятельности на частоту встречаемости анти-ВГЕ IgG невелико, однако показано, что частота анти-ВГЕ IgG в объединяющей работников производства и государственных служащих группе (n = 34 из 526 человек; 6,5%, 95% ДИ: 4,5–8,9%) достоверно выше, чем среди офисных работников и IT-сферы (n = 21 из 654 человек; 3,2%, 95% ДИ: 0,2–4,9%) — $\chi^2 = 6,229$ при p = 0,0126, df = 1.

Проанализирована распространенность анти-ВГЕ IgG антител в зависимости от оперативных вмешательств и гемотрансфузий в анамнезе (табл. 3).

При анализе распространенности анти-ВГЕ IgG-антител в зависимости от оперативных вмешательств и гемотрансфузий в анамнезе, показано достоверное превышение частоты встречаемости анти-ВГЕ IgG среди лиц с оперативными вмешательствами или гемотрансфузиями по сравнению с волонтерами без таковых — $\chi^2 = 17,896$ при $p < 0,0001$, df = 1, OR = 1,6 (95% ДИ: 1,3–2,0) (табл. 3).

В ходе исследования также была проведена расчетная оценка распространенности маркера ГЕ в популяции г. Санкт-Петербурга и Ленинградской области на 100 тыс. населения, составившая 5064,2 человека на 100 тыс. населения, что свидетельствует о контактах добровольцев с ВГЕ, а также возможных бессимптомных эпизодах ГЕ или наличия острого ГЕ в анамнезе.

Поскольку вирусы гепатитов А и Е имеют схожее клиническое проявление, а также общие пути проникновения в организм, был проведен анализ встречаемости анти-ВГА IgG и анти-ВГЕ IgG антител среди лиц, сообщивших о наличии гепатита А в анамнезе (табл. 4).

У семнадцати пациентов, переболевших гепатитом А, одновременно присутствовали анти-ВГЕ IgG и анти-ВГА IgG, что составило 6,1%. Следует отметить, что, хотя проявления острых вирусных гепатитов А и Е могут быть

Таблица 3. Серопревалентность анти-ВГЕ IgG антител в зависимости от оперативных вмешательств и гемотрансфузий в анамнезе

Table 3. Seroprevalence of anti-HEV IgG antibodies depending on surgical interventions and blood transfusions in medical history

Оперативные вмешательства и/или гемотрансфузии Surgery and/or blood transfusion	**Количество волонтеров, N** Number of volunteers, N	**Наличие анти-ВГЕ IgG** Presence of anti-HEV IgG	
		абс., n abs., n	**%, 95% ДИ** %, 95% CI
Да (были вмешательства) Yes (interventions were performed)	2632	171	6,5% (4,5–8,9%)
Нет No	4141	172	4,2% (3,6–4,8%)
Итого Total	6773	343	5,1% (4,6–5,6%)

сходными, антитела анти-ВГЕ IgG только в одном случае выявлены у волонтера, сообщившего о перенесенном гепатите А в анамнезе, не имеющего антител к ГА, что может быть как случайностью, так и отражением того, что острый ГЕ мог быть принят за ГА.

Обсуждение

Несмотря на то что для гепатита Е характерными являются частые случаи спонтанного выздоровления при отсутствии медикаментозной терапии, ВГЕ все еще представляет значительную угрозу для беременных женщин и групп населения с ослабленным иммунитетом [22]. Беременные женщины сталкиваются с повышенным риском осложнений с потенциальными неблагоприятными исходами, как для матери, так и для ребенка. Систематический обзор, проведенный в 2019 г. по Индии, Пакистану и Южному Судану выявил медианные показатели смертности от инфекции ВГЕ во время беременности: 26% (межквартильный размах: 17–41%) для матери, 33% (межквартильный размах: 19–37%) для плода и 8% (межквартильный

Таблица 4. Представленность анти-ВГЕ IgG антител среди лиц, переболевших гепатитом А

Table 4. Prevalence of anti-HEV IgG antibodies among individuals who have had hepatitis A

Количество волонтеров, N Number of volunteers, N	**IgG к ВГА есть/ IgG к ВГЕ есть** Anti-HAV IgG present/ Anti-HEV IgG present		**IgG к ВГА есть/ IgG к ВГЕ нет** Anti-HAV IgG present/ Anti-HEV IgG absent		**IgG к ВГА нет/ IgG к ВГЕ есть** Anti-HAV IgG absent/ Anti-HEV IgG present		**IgG к ВГА нет/ IgG к ВГЕ нет** Anti-HAV IgG absent/ Anti-HEV IgG absent	
	абс., n abs., n	**%, 95% ДИ** %, 95% CI	**абс., n** abs., n	**%, 95% ДИ** %, 95% CI	**абс., n** abs., n	**%, 95% ДИ** %, 95% CI	**абс., n** abs., n	**%, 95% ДИ** %, 95% CI
281	17	6,1%; 3,6–9,5%	239	85,1%; 80,3–89,0%	1	0,4%; 0,01–2,0%	24	8,5%; 5,6–12,4%

размах: 3–20%) для новорожденного [15]. У лиц с ослабленным иммунитетом, таких как пациенты с ВИЧ, особенно с очень низким количеством $CD4^+$ (< 200 клеток/мм^3), также может возникнуть хроническая инфекция ВГЕ, которая приведет к хроническому гепатиту, циррозу печени [18, 20]. У реципиентов трансплантатов солидных органов инфекция ГЕ также может стать хронической и привести к аналогичным осложнениям и даже возможному отторжению пересаженного органа [21, 26, 37, 39, 41].

В ходе настоящего исследования установлено, что 5,1% волонтеров, а следовательно каждый 20-й житель СПб и ЛО из обследованной выборки имел антитела к ВГЕ. Рассчитанная распространенность антител к ВГЕ в популяции Санкт-Петербурга и Ленинградской области составила 5064,2 человека на 100 тыс. населения, что свидетельствует о контактах добровольцев с ВГЕ, а также возможных бессимптомных эпизодах ГЕ или наличия острого ГЕ в анамнезе.

В 2015 г. исследовательской группой С.Л. Мукомолова было обследовано 960 условно здоровых лиц в возрасте от года до 60 лет на наличие антител к ВГЕ. Целью работы было изучение интенсивности циркуляции вируса в Санкт-Петербурге. Серопозитивными оказались 3% обследованных, при этом наблюдали достоверные различия показателей серопревалентности у детей (0,9%) по сравнению со взрослыми (5,0%), самые высокие показатели анти-ВГЕ (14,3%) были определены у взрослых старше 50 лет, то есть увеличение частоты антител к ВГЕ прямо коррелировало с возрастом [1]. В настоящем исследовании самый высокий показатель частоты встречаемости анти-ВГЕ антител составил 11,6% в группе 70 лет и более, а среди детей и взрослых — 0,9 и 6,2% соответственно. Таким образом полученные результаты, в целом, согласуются друг с другом, а отличия могут быть связаны с разным объемом выборок, особенностями сбора материала.

Российская Федерация относится к странам со спорадическим типом заболеваемости ГЕ. В схожем исследовании в Социалистической Республике Вьетнам при оценке распространенности антител к ВГЕ среди условно здоровых лиц в общей группе взрослого населения выявили анти-ВГЕ IgG в 36,2% случаев, что соответствует распространенности антител к ВГЕ в эндемичных регионах [10]. Следует отметить, что ни один из опрошенных волонтеров в настоящем исследовании не сообщил, что перенес вирусный гепатит Е, большинство указали, что не болели, однако некоторые респонденты не были уверены в своем ответе. При этом полученные данные (5,0% серопозитивных по ГЕ среди уверенно утверждавших, что не болели ГЕ и 8,1% — среди не уверенных в своем ответе) при сопоставлении с результатами анкетирования свидетельствуют о том, что все 5,1% волонтеров с выявленными анти-ВГЕ IgG антителами перенесли инфекцию в недиагностированной форме.

При анализе встречаемости антител в зависимости от возраста наблюдали тенденцию к повышению встречаемости с 1,4% в группе 6–11 лет до 11,6% в группе 70 лет и более. Однако при последовательном сравнении серопревалентности по возрастным группам достоверные различия были выявлены только между группами 12–17 лет и 18–29 лет и между группами: 60–69 лет и 70 лет и более. Исследование 2018 г. показало, что анти-ВГЕ IgG-антитела после перенесенной инфекции не сохраняются пожизненно, а не детектируются (не определяются) со временем. Показано достоверное снижение доли серопозитивных лиц примерно на 10% за 10 лет в когортах ветеранов ограниченного контингента советских войск (ОКСВ), обследованных с десятилетним интервалом (через 20 и 30 лет после службы в гиперэндемичном по ВГЕ регионе). В то же время частота выявления анти-ВГЕ IgG антител среди ветеранов ОКСВ через 30 лет после пребывания в гиперэндемичном регионе, оказалась сходной с показателями, регистрируемыми в неэндемичных регионах в общей популяции [2, 14]. Несмотря на то что со временем антитела у переболевших гепатитом Е лиц перестают определяться? с возрастом происходит накопление у населения анти-ВГЕ IgG антител (отражено на рис. 1), что свидетельствует о накоплении числа встреч с ВГЕ.

Не удалось выявить зависимости встречаемости маркера ГЕ от пола или от сферы деятельность волонтеров, за исключением различий совмещенных групп офисных работников и IT-сферы и групп работников производства и государственных служащих. Предположительно, работники указанных сфер деятельности в меньшей и в большей степени, соответственно, сталкиваются с ВГЕ, однако причина такой разницы остается неясной. Можно предположить, что офисные работники преимущественно моложе, чем работники производства и государственные служащие. Еще одной причиной могут быть разные регионы проживания и/или места работы волонтеров, однако это предположение нуждается в дальнейшем исследовании.

В проведенном исследовании по г. Санкт-Петербургу и Ленинградской области у 6,1% лиц, переболевших гепатитом А, были найдены антитела к ВГЕ. Нельзя утверждать, что однозначно имела место коинфекция так как исследование проводили среди условно здоровых добровольцев и образование антител к ВГА и ВГЕ могло проходить независимо друг от дру-

га в разные периоды жизни обследованных. В то же время двойная инфекция может привести к серьезным осложнениям и повышению смертности из-за высокого риска острой печеночной недостаточности как у детей, так и у взрослых. Недавнее исследование, проведенное в Индии, показало, что частота коинфекции ВГА и ВГЕ составляет около 6% [24]. Другое исследование, проведенное в Бангладеш, показало, что частота двойной инфекции составляет около 5,3% [29].

Обращает на себя внимание достоверное повышение частоты встречаемости анти-ВГЕ IgG антител среди лиц с оперативными вмешательствами или гемотрансфузиями по сравнению с волонтерами без таковых, что свидетельствует о необходимости тщательного предупреждения развития инфекций у пациентов при госпитализации, переливании крови и проведении различных инвазивных процедур.

Основными принципами профилактики заражения ВГЕ являются предупреждение передачи через воду, включая надлежащую гигиену рук и отказ от употребления воды или льда неизвестной чистоты, а также предотвращение передачи заболевания алиментарным путем посредством употребления недостаточно термически обработанного мяса, в первую очередь свиней, но также диких животных переносчиков вируса, особенно у лиц с ослабленным иммунитетом и лиц с хроническими заболеваниями печени [42].

Кроме неспецифической профилактики, актуальным остается вопрос возможности вакцинопрофилактики. В настоящее время существует только одна вакцина против ВГЕ, одобренная в Китае и других эндемичных регионах, включая Пакистан и Бангладеш, которая впервые была зарегистрирована в Китае в 2011 г. — Helicon, разработанная на базе рекомбинантного пептида ВГЕ 239 [38]. Было показано, что эта вакцина эффективна в создании длительного иммунитета против 1 и 4 генотипов ВГЕ [28, 43]. При этом известно, что ВГЕ генотипа 1 распространен в развивающихся странах и передается преимущественно фекально-оральным путем, в то время как генотип 4 ограничен несколькими регионами, в первую очередь Китаем [22]. Тем не менее, исследовательские группы разных стран ведут многочисленные рандомизированные контролируемые исследования по оценке эффективности вышеуказанной вакцины. Еще одна вакцина, SaR 56 кДа (GlaxoSmithKline), недавно успешно прошла вторую фазу клинических испытаний. Указанная вакцина разработана путем инокуляции ВГЕ в клетки насекомых, которые затем подвергались протеолитической посттрансляционной модификации для создания вакцины [17, 27, 36]. Вопрос широкого применения данной вакцины на настоящий момент остается открытым.

Заключение

Несмотря на сравнительно меньшую распространенность вирусного гепатита Е в сравнении с другими гепатитами в РФ, вопрос ВГЕ по-прежнему остается актуальным. В силу того, что заболевание зачастую проходит незамеченным, патоген продолжает неконтролируемо циркулировать в популяции. Как следствие, в силу отсутствия специфических лечения и профилактики, ВГЕ представляет угрозу для отдельных групп населения, в том числе для беременных женщин и лиц с ослабленным иммунитетом в силу заболеваний или проводимой терапии.

Проблема гепатита Е требует внимания и дальнейшего исследования, совершенствования лабораторной диагностики ОГЕ, в том числе с применением молекулярно-биологических методов исследования.

Для достижения эффективной профилактики ГЕ представляется необходимой разработка стратегии, включающей три основных этапа, осуществляемых параллельно. Во-первых, популяризация методов неспецифической профилактики инфекционных заболеваний и повышения информированности населения о способах и путях передачи вирусного гепатита Е. Во-вторых, изучение вопроса внедрения вакцинопрофилактики по показаниям. В-третьих, исследование популяционного иммунитета к вирусу гепатита Е необходимо проводить в различных регионах для получения более четкой картины его распространения в РФ, а также для выявления скрытых очагов.

Список литературы/References

1. Болсун Д.Д., Мукомолов С.Л. Иммунологическая структура населения Санкт-Петербурга к вирусу гепатита Е // Инфекционные болезни. 2015-03-30. С. 51. [Bol'sun D.D., Mukomolov S.L. Immunological Structure of the Population of St. Petersburg to Hepatitis E Virus. *Infektsionnye bolezni = Infectious Diseases, 2015, March 30, p. 51. (In Russ.)*]
2. Кюрегян К.К., Потёмкин И.А., Лопатухина М.А., Попова О.Е., Исаева О.В., Малинникова Е.Ю., Романенко В.В., Поляков А.Д., Михайлов М.И. Длительность сохранения анамнестических антител к вирусу гепатита Е // Клиническая лабораторная диагностика. 2018. Т. 63, № 5. С. 310–314. [Kyuregyan K.K., Potemkin I.A., Lopatukhina M.A., Popova O.E., Isaeva O.V., Malinnikova E.Y., Romanemko V.V., Polyakov A.D., Mikhailov M.I. The Duration of Preservation of Anamnestic Antibodies to Hepatitis E Virus. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics, 2018, vol. 63, no. 5, pp. 310–314. (In Russ.)*] *doi: 10.18821/0869-2084-2018-63-5-310-314*

3. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2013 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2014. 191 с. [On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2013: State Report. *Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing g, 2014. 191 p. (In Russ.)*] *URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/3b8/gd_2013_dlya-sayta.pdf*
4. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017. 220 с. On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2016: State report. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2017. 220 p. *(In Russ.)*] *URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/0b3/gosudarstvennyy-doklad-2016.pdf*
5. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. 2020. 299 с. [On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2019: State report. *Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2020. 299 p. (In Russ.)*] *URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/8e4/gosdoklad-za-2019_seb_29_05.pdf*
6. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2021 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2022. 340 с. [On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2021: State Report. *Moscow: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2022. 340 p. (In Russ.)*] *URL: https://rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/594/sqywwl4tg5arqff6xvl5dss0l7vvuank/Gosudarstvennyy-doklad.-O-sostoyanii-sanitarno_epidemiologicheskogo-blagopoluchiya-naseleniya-v-Rossiyskoy-Federatsii-v-2021-godu.pdf*
7. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2022 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2023. 195 с. [On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2022: State report. *Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2023. 195 p. (In Russ.)*] *URL: https://rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/b50/t4kqksh4b12a2iwjnha29922vu7naki5/GD-SEB.pdf*
8. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2023 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2024. 364 с. On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2023: State report. *Moscow: Federal Service for Supervision in the Sphere of Protection of Consumer Rights and Human Welfare, 2024. 364 p. (In Russ.)*] *URL: https://rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/fbc/sd3prfszlc9c2r4xbmsb7o3us38nrvpk/Gosudarstvennyy-doklad-_O-sostoyanii-sanitarno_epidemiologicheskogo-blagopoluchiya-naseleniya-v-Rossiyskoy-Federatsii-v-2023-godu_.pdf*
9. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Санкт-Петербурге в 2023 году: Государственный доклад. СПб.: Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по городу Санкт-Петербургу, 2024. 246 с. On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in Saint Petersburg in 2023: State report. *St. Petersburg: Territorial Department of the Federal Service for Supervision in the Sphere of Protection of Consumer Rights and Human Welfare in Saint Petersburg, 2024. 246 p. (In Russ.)*] *URL: https://78.rospotrebnadzor.ru/upload/iblock_content/b77c2acacc037c825368266db7a4c482.pdf?ysclid=malfga6tmi249298133*
10. Останкова Ю.В., Семенов А.В., Валутите Д.Э., Зуева Е.Б., Серикова Е.Н., Щемелев А.Н., Хуйнх Х., Эсауленко Е.В., Тотолян А.А. Энтеральные вирусные гепатиты в южном регионе Социалистической Республики Вьетнам. // Журнал инфектологии. 2021. Т. 13, № 4. С. 72–78. [Ostankova Y.V., Semenov A.V., Valutite D.E., Zueva E.B., Serikova E.N., Shchemelev A.N., Huynh H., Esaulenko E.V., Totolian A.A. Enteric Viral Hepatitis in the Socialist Republic of Vietnam (Southern Vietnam). *Zhurnal infektologii = Journal Infectology, 2021, vol. 13, no. 4, pp. 72–78. (In Russ.)*] *doi: 10.22625/2072-6732-2021-13-4-72-78*
11. Попова А.Ю., Горбунова А.Ю., Останкова Ю.В., Егорова С.А., Рейнгардт Д.Э., Иванова А.Р., Щемелев А.Н., Дрозд И.В., Жимбаева О.Б., Данилова Е.М., Миличкина А.М., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Башкетова Н.С., Буц Л.В., Тотолян А.А. Популяционный иммунитет к вирусу гепатита А у населения Санкт-Петербурга и Ленинградской области // Медицинская иммунология. 2025, Т. 27, № 3. С 625-642. Popova A.Y., Gorbunova A.Y., Ostankova Y.V., Egorova S.A., Reingardt D.E., Ivanova A.R., Schemelev A.N., Drozd I.V., Zhimbaeva O.B., Danilova E.M., Milichkina A.M., Ezholova E.B., Melnikova A.A., Bashketova N.S., Buc L.V., Totolyan A.A. Herd Immunity to Hepatitis A Virus in the Saint Petersburg and Leningrad Region. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2025, vol. 27, no. 3, pp. 625–642. (In Russ.)*] *doi: 10.15789/1563-0625-HIT-3224*
12. Попова А.Ю., Егорова С.А., Смирнов В.С., Ежлова Е.Б., Миличкина А.М., Мельникова А.А., Башкетова Н.С., Историк О.А., Буц Л.В., Рэмзи Э.С., Дрозд И.В., Жимбаева О.Б., Дробышевская В.Г., Данилова Е.М., Иванов В.А., Тотолян А.А. Популяционный иммунитет к вакциноуправляемым инфекциям (кори, краснухе, эпидемическому паротиту) у населения Санкт-Петербурга и Ленинградской области // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 6. С. 1187-1208. [Popova A.Y., Egorova S.A., Smirnov V.S., Ezhlova E.B., Milichkina A.M., Melnikova A.A., Bashketova N.S., Istorik O.A., Buts L.V., Ramsay E.S., Drozd I.V., Zhimbaeva O.B., Drobyshevskaya V.G., Danilova E.M., Ivanov V.A., Totolian A.A. Herd Immunity to Vaccine Preventable Infections in Saint Petersburg and the Leningrad Region: Serological Status of Measles, Mumps, and Rubella. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2024, vol. 14, no. 6, pp. 1187–1208. (In Russ.)*] *doi: 10.15789/2220-7619-HIT-17797*
13. Попова А.Ю., Тотолян А.А. Методология оценки популяционного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 в условиях пандемии COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 4. С. 609–616. [Popova A.Yu., Totolian A.A. Methodology for assessing herd immunity to the SARS-CoV-2 virus in the context of the COVID-19 pandemic. *Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 4, pp. 609–616. (In Russ.)*] *doi: 10.15789/2220-7619-MFA-1770*

14. Bendall R., Ellis V., Ijaz S., Ali R., Dalton H. A Comparison of Two Commercially Available Anti-HEV IgG Kits and a Re-Evaluation of Anti-HEV IgG Seroprevalence Data in Developed Countries. *J. Med. Virol., 2010, vol. 82, no. 11, pp. 799–805. doi: 10.1002/jmv.21656*
15. Bergløv A., Hallager S., Weis N. Hepatitis E During Pregnancy: Maternal and Foetal Case-Fatality Rates and Adverse Outcomes — A Systematic Review. *J. Viral Hepat., 2019, vol. 26, no. 11, pp. 1240–1248. doi: 10.1111/jvh.13129*
16. Boxman I.L.A., Verhoef L., Dop P.Y., Vennema H., Dirks R.A.M., Opsteegh M. High Prevalence of Acute Hepatitis E Virus Infection in Pigs in Dutch Slaughterhouses. *Int. J. Food Microbiol., 2022, vol. 379: 109830. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109830*
17. Clinical Trial of Recombinant Hepatitis E Vaccine. *Clin. Trials.gov. Updated 2020, NCT01014845. Accessed January 30, 2024.*
18. Colson P., Kaba M., Moreau J., Brouqui P. Hepatitis E in an HIV-Infected Patient. *J. Clin. Virol., 2009, vol. 45, no. 4, pp. 269–271. doi: 10.1016/j.jcv.2009.06.002*
19. Crotta M., Pellicioli L., Gaffuri A., Trogu T., Formenti N., Tranquillo V., Luzzago C., Ferrari N., Lanfranchi P. Analysis of Seroprevalence Data on Hepatitis E Virus and Toxoplasma Gondii in Wild Ungulates for the Assessment of Human Exposure to Zoonotic Meat-Borne Pathogens. *Food Microbiol., 2022, vol. 101: 103890. doi: 10.1016/j.fm.2021.103890*
20. Dalton H.R., Bendall R.P., Keane F.E., Tedder R.S., Ijaz S. Persistent Carriage of Hepatitis E Virus in Patients with HIV Infection. *N. Engl. J. Med., 2009, vol. 361, no. 10, pp. 1025–1027. doi: 10.1056/NEJMc0903778*
21. Dalton H.R., Bendall R., Ijaz S., Banks M. Hepatitis E: An Emerging Infection in Developed Countries. *Lancet Infect. Dis., 2008, vol. 8, no. 11, pp. 698–709. doi: 10.1016/S1473-3099(08)70255-X*
22. Hartley C., Wasuwanich P., Van T., Karnsakul W. Hepatitis E Vaccines Updates. *Vaccines, 2024, vol. 12, no. 7: 722. doi: 10.3390/vaccines12070722*
23. Hepatitis E. World Health Organization. *URL: www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-e (19.07.2023)*
24. Kalita D., Paul M., Deka S., Badoni G., Gupta P. Simultaneous Infection of Hepatitis A and Hepatitis E Viruses Amongst Acute Viral Hepatitis Patients: A Hospital-Based Study From Uttarakhand. *J. Family Med. Prim. Care, 2020, vol. 9, no. 12, pp. 6130–6134. doi: 10.4103/jfmpc.jfmpc_1373_20*
25. Kamar N., Bendall R., Legrand-Abravanel F., Xia N.S., Ijaz S., Izopet J., Dalton H.R. Hepatitis E. *Lancet, 2012, vol. 379, no. 9835, pp. 2477–2488. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61849-7*
26. Kamar N., Selves J., Mansuy J.M., Ouezzani L., Péron J.M., Guitard J., Cointault O., Esposito L., Abravanel F., Danjoux M., Durand D., Vinel J.P., Izopet J., Rostaing L. Hepatitis E Virus and Chronic Hepatitis in Organ-Transplant Recipients. *N. Engl. J. Med., 2008, vol. 358, no. 8, pp. 811–817. doi: 10.1056/NEJMoa0706992*
27. Li T.C., Yamakawa Y., Suzuki K., Tatsumi M., Razak M.A., Uchida T., Takeda N., Miyamura T. Expression and Self-Assembly of Empty Virus-Like Particles of Hepatitis E Virus. *J. Virol., 1997, vol. 71, no. 10, pp. 7207–7213. doi: 10.1128/JVI.71.10.7207-7213.1997*
28. Ma Z., de Man R.A., Kamar N., Pan Q. Chronic Hepatitis E: Advancing Research and Patient Care. *J. Hepatol., 2022, vol. 77, no. 4, pp. 1109–1123. doi: 10.1016/j.jhep.2022.05.006*
29. Marciano S., Arufe D., Haddad L., Mendizabal M., Gadano A., Gaite L., Anders M., Garrido L., Martinez A.A., Conte D., Barrabino M., Rovey L., Aubone M.D.V., Ratusnu N., Tanno H., Fainboim H., Oyervide A., de Labra L., Ruf A., Dirchwolf M. Outbreak of Hepatitis A in a Post-Vaccination Era: High Rate of Co-Infection with Sexually Transmitted Diseases. *Ann. Hepatol., 2020, vol. 19, no. 6, pp. 641–644. doi: 10.1016/j.aohep.2020.07.005*
30. Medical Statistics. *URL: https://medstatistic.ru (15.04.2024)*
31. Meng X.J. Hepatitis E Virus. *Viral Infect. Hum.: Epidemiol. Control, 2023, pp. 1–37. doi: 10.1007/978-1-4939-9544-8_18-2*
32. Péron J.M., Dalton H., Izopet J., Kamar N. Acute Autochthonous Hepatitis E in Western Patients With Underlying Chronic Liver Disease: A Role for Ribavirin? *J. Hepatol., 2011, vol. 54, no. 6, pp. 1323–1325. doi: 10.1016/j.jhep.2011.01.009*
33. Pischke S., Hardtke S., Bode U., Birkner S., Chatzikyrkou C., Kauffmann W., Bara C.L., Gottlib J., Wenzel J., Manns M.P., Wedemeyer H. Ribavirin Treatment of Acute and Chronic Hepatitis E: A Single-Centre Experience. *Liver Int., 2013, vol. 33, no. 5, pp. 722–726. doi: 10.1111/liv.12114*
34. Prpić J., Baymakova M. Hepatitis E Virus (ВГЕ) Infection Among Humans and Animals: Epidemiology, Clinical Characteristics, Treatment, and Prevention. *Pathogens, 2023, vol. 12, no. 7: 931. doi: 10.3390/pathogens12070931*
35. Rein D.B., Stevens G.A., Theaker J., Wittenborn J.S., Wiersma S.T. The Global Burden of Hepatitis E Virus Genotypes 1 and 2 in 2005. *Hepatology, 2012, vol. 55, no. 4, pp. 988–997. doi: 10.1002/hep.25505*
36. Robinson R.A., Burgess W.H., Emerson S.U., Leibowitz R.S., Sosnovtseva S.A., Tsarev S., Purcell R.H. Structural Characterization of Recombinant Hepatitis E Virus ORF2 Proteins in Baculovirus-Infected Insect Cells. *Protein Expr. Purif., 1998, vol. 12, no. 1, pp. 75–84. doi: 10.1006/prep.1997.0817*
37. Sakulsaengprapha V., Wasuwanich P., Thawilarp S., Ingviya T., Phimphilai P., Sue P.K., Jackson A.M., Kraus E.S., Teshale E.H., Kamili S., Karnsakul W. Risk Factors Associated with Hepatitis E Virus Infection in Kidney Transplant Recipients in a Single Tertiary Center in the United States. *Transpl. Immunol., 2023, vol. 78: 101809. doi: 10.1016/j.trim.2023.101809*
38. Schulz M., Papp C.P., Bock C.T., Hofmann J., Gerlach U.A., Maurer M.M., Eurich D., Mueller T. Combination Therapy of Sofosbuvir and Ribavirin Fails to Clear Chronic Hepatitis E Infection in a Multivisceral Transplanted Patient. *J. Hepatol., 2019, vol. 71, no. 1, pp. 225–227. doi: 10.1016/j.jhep.2019.03.029*
39. Sue P.K., Pisanic N., Heaney C.D., Forman M., Valsamakis A., Jackson A.M., Ticehurst J.R., Montgomery R.A., Schwarz K.B., Nelson K.E., Karnsakul W. Hepatitis E Virus Infection Among Solid Organ Transplant Recipients at a North American Transplant Center. *Open Forum Infect. Dis., 2016, vol. 3, no. 1: ofw006. doi: 10.1093/ofid/ofw006*
40. Terio V., Bottaro M., Pavoni E., Losio M.N., Serraino A., Giacometti F., Martella V., Mottola A., Di Pinto A., Tantillo G. Occurrence of Hepatitis A and E and Norovirus GI and GII in Ready-to-Eat Vegetables in Italy. *Int. J. Food Microbiol., 2017, vol. 249, pp. 61–65. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.03.008*
41. Wasuwanich P., Sirisreetreerux P., Ingviya T., Kraus E.S., Brennan D.C., Sue P.K., Jackson A.M., Oshima K., Philosophe B., Montgomery R.A., Karnsakul W. Hepatitis E Virus Infection and Rejection in Kidney Transplant Recipients. *Transpl. Immunol., 2022, vol. 70: 101517. doi: 10.1016/j.trim.2021.101517*

42. Willauer A.N., Sherman K.E. Hepatitis E Virus: Has Anything Changed? *Curr. Opin. Gastroenterol., 2023, vol. 39, no. 3, pp. 169–174. doi: 10.1097/MOG.0000000000000918*
43. Zhang J., Zhang X.F., Huang S.J., Wu T., Hu Y.M., Wang Z.Z., Wang H., Jiang H.M., Wang Y.J., Yan Q., Guo M., Liu X.H., Li J.X., Yang C.L., Tang Q., Jiang R.J., Pan H.R., Li Y.M., Shih J.W., Ng M.H., Xia N.S. Long-Term Efficacy of a Hepatitis E Vaccine. *N. Engl. J. Med., 2015, vol. 372, no. 10, pp. 914–922. doi: 10.1056/NEJMoa1406011*

Авторы:
Попова А.Ю., д.м.н., профессор, руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия;
Горбунова А.Ю., лаборант-исследователь лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Останкова Ю.В., к.б.н., зав. лабораторией иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции; старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Егорова С.А., д.м.н., зам. директора по инновациям ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Рейнгардт Д.Э., врач клинико-лабораторной диагностики отделения диагностики ВИЧ-инфекции и СПИД-ассоциированных заболеваний ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Иванова А.Р., лаборант отделения диагностики ВИЧ-инфекции и СПИД-ассоциированных заболеваний ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Щемелев А.Н., к.б.н., младший научный сотрудник лаборатории иммунологии и вирусологии ВИЧ-инфекции ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Дрозд И.В., к.б.н., зав. центральной клинико-диагностической лабораторией ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Жимбаева О.Б., зав. лабораторией молекулярно-генетической диагностики медицинского центра ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Данилова Е.М., врач-педиатр высшей категории, зав. диспансерно-поликлиническим отделением медицинского центра ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Миличкина А.М., к.м.н., главный врач медицинского центра ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Ежлова Е.Б., к.м.н., заместитель руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия;
Мельникова А.А., к.м.н., заместитель начальника управления эпидемиологического надзора Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия;
Башкетова Н.С., руководитель управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по городу Санкт-Петербургу и Ленинградской области, Санкт-Петербург, Россия;
Буц Л.В., к.м.н., специалист 1-й категории, ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Тотолян А.А., д.м.н., профессор, академик РАН, зав. лабораторией молекулярной иммунологии, директор ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:
Popova A.Yu., DSc (Medicine), Professor, Head of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation;
Gorbunova A.Yu., Laboratory Research Assistant, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Ostankova Yu.V., PhD (Biology), Head of the Laboratory of Immunology and Virology HIV-Infection; Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Egorova S.A., DSc (Medicine), Deputy Director for Innovation, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Reingardt D.E., Clinical Laboratory Diagnostics Doctor, Department of Diagnostics of HIV Infection and AIDS-Associated Diseases Infection, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Ivanova A.R., Laboratory Assistant, Department of Diagnostics of HIV Infection and AIDS-Associated Diseases Infection, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Shchemelev A.N., PhD (Biology), Junior Researcher, Laboratory of Immunology and Virology of HIV Infection, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Drozd I.V., PhD (Biology), Head of the Central Clinical Diagnostic Laboratory, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Zhimbaeva O.B., Head of the Laboratory of Molecular Genetic Diagnostics of the Medical Center, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Danilova E.M., Pediatrician, Head of the Outpatient Department of the Medical Center, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Milichkina A.M., PhD (Medicine), Head Physician of the Medical Center of St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Ezhlova E.B., PhD (Medicine), Deputy Head of the Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation;
Melnikova A.A., PhD (Medicine), Deputy Head of the Epidemiological Surveillance Department, Federal Service for Surveillance of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation;
Bashketova N.S., Head of the Department of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in St. Petersburg and Leningrad Region, St. Petersburg, Russian Federation;
Buts L.V., PhD (Medicine), 1st Category Specialist at the St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Totolian A.A., RAS Full Member, DSc (Medicine), Professor, Head at the Laboratory of Molecular Immunology, Director, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 12.06.2025
Принята к печати 19.06.2025

Received 12.06.2025
Accepted 19.06.2025

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 529–535

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 529–535

PERIPHERAL BLOOD B-CELLS AND CXCR3 EXPRESSION IN CHRONIC HEPATITIS C VIRUS INFECTION

N.A. Arsentieva[a,b], D.S. Elezov[a], I.V. Kudryavtsev[b,c], Z.R. Korobova[a,b], A.A. Totolian[a,b]

[a] *St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation*
[b] *Pavlov First State Medical University of St. Petersburg, St. Petersburg, Russian Federation*
[c] *Institute of Experimental Medicine, St.Petersburg, Russian Federation*

Abstract. Hepatitis C virus (HCV) infection remains a serious global healthcare challenge, often leading to chronic disease with complications such as liver cirrhosis, hepatocellular carcinoma, and extrahepatic manifestations. According to the World Health Organization (WHO), an estimated about 50 million people lived with chronic HCV infection in 2022, highlighting the ongoing need to understand the immune mechanisms driving disease progression. HCV may evade of immunosurveillance, so that disease progression is linked to specific immune response, whereas reactivation risk after antiviral therapy exists, which together account for a need to gain understanding of underlying immune mechanisms. HCV may infect lymphocytes primarily B-cells serving as a virus reservoir and result in diverse systemic complications. The current study focused on analyzing peripheral blood $CXCR3^+$ B-cells at various differentiation stages in patients with chronic HCV infection to assess a potential link to clinical and laboratory markers of disease progression. Blood samples collected from 58 patients with chronic HCV infection and 27 healthy controls were examined. When analyzing flow cytometry data, we noted a significant B-cell redistribution in HCV infection compared to control samples presented as a shift towards activated mature, resting memory and 'double negative' B-cells characterized by increased expression of chemokine receptor CXCR3. Flow cytometry analysis revealed no significant difference in total B-cell ($CD19^+$) but elevated memory B-cells ($CD27^+CD19^+$) ($p = 0.037$). CXCR3 expression peaked on memory B-cells and increased across all B-cell subsets in HCV patients ($p < 0.001$). Redistribution toward differentiated B-cell subsets — double-negative ($CD38^-CD27^-$), resting memory ($CD38^-CD27^+$), and activated mature ($CD38^+CD27^+$) B-cells was observed, with elevated $CXCR3^+$ percentage in the latter two subsets ($p = 0.017$ and $p = 0.001$, respectively). HCV viral load correlated positively with $CD38^+$ B-cells and $CXCR3^+$ naïve/activated mature subset counts but inversely with $CD38^+$ B1/B2/memory cell levels. Genotype 1 and advanced fibrosis (F3/cirrhosis) were associated with reduced B2 cells and increased $CXCR3^+$ B1/B2 subset levels. These findings suggest that chronic HCV infection drives B-cell differentiation and CXCR3-mediated recruitment to the liver, implicating CXCR3 in disease progression.

Key words: *B-cells, CXCR3, hepatitis C, flow cytometry, viral load, liver fibrosis.*

Адрес для переписки:
Арсентьева Наталья Александровна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 (904) 646-57-58. E-mail: arsentieva_n.a@bk.ru

Contacts:
Natalia A. Arsentieva
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 (904) 646-57-58. E-mail: arsentieva_n.a@bk.ru

Для цитирования:
Арсентьева Н.А., Елезов Д.С., Кудрявцев И.В., Коробова З.Р., Тотолян А.А. Субпопуляции CXCR3+ В-клеток периферической крови больных хроническим вирусным гепатитом С // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 529–535. doi: 10.15789/2220-7619-PBB-17939

Citation:
Arsentieva N.A., Elezov D.S., Kudryavtsev I.V., Korobova Z.R., Totolian A.A. Peripheral blood B-cells and CXCR3 expression in chronic hepatitis C virus infection // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 529–535. doi: 10.15789/2220-7619-PBB-17939

This research was funded by the government task of the Institute of Experimental Medicine FGWG-2025-0004 (registration No. 1022041101001-1) and the government task of the Pasteur Institute (registration No. 121021600217-1 from 16.02.2021).

© Arsentieva N.A. et al., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-PBB-17939

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

СУБПОПУЛЯЦИИ CXCR3$^+$ В-КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ С

Арсентьева Н.А.[1,2], Елезов Д.С.[1], Кудрявцев И.В.[2,3], Коробова З.Р.[1,2], Тотолян А.А.[1,2]

[1] ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия
[2] ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия
[3] ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Инфекция, вызванная вирусом гепатита С (ВГС), является серьезной глобальной проблемой здравоохранения. По данным Всемирной организации здравоохранения за 2022 год, в мире около 50 млн человек живут с хроническим вирусным гепатитом С. Инфицирование ВГС часто приводит к хроническому течению, сопровождающемуся такими осложнениями, как цирроз печени, гепатоцеллюлярная карцинома и внепеченочные проявления. ВГС способен уклоняться от иммунной системы, прогрессирование заболевания связывают с реализацией иммунного ответа, после противовирусной терапии существует риск реинфекции, эти причины обуславливает необходимость понимания иммунных механизмов, определяющих развитие заболевания. ВГС способен инфицировать лимфоциты, в частности В-клетки, приводя к различным системным осложнениям, кроме того В-клетки могут являться резервуаром для ВГС. Таким образом, целью исследования стало изучение субпопуляций CXCR3$^+$ В-клеток различных стадий дифференцировки в периферической крови пациентов с хроническим вирусным гепатитом С и связи субполпуляций В-клеток с клиническими и лабораторными маркерами прогрессирования заболевания. В исследовании использованы образцы крови от 58 пациентов с хроническим вирусным гепатитом С и от 27 условно здоровых лиц. Анализируя результаты проточной цитометрии, мы обнаружили значительное перераспределение субпопуляций В-лимфоцитов при хронической инфекции, вызванной ВГС по сравнению с контролем. Наблюдался сдвиг в сторону активированных зрелых, покоящихся клеток памяти и «двойных отрицательных» В-клеток. На этих клетках была повышена экспрессия хемокинового рецептора CXCR3. Не выявлено существенной разницы в общем количестве В-клеток (CD19$^+$) по сравнению с контролем, но количество В-клеток памяти (CD27$^+$CD19$^+$) было повышено ($p = 0{,}037$). Экспрессия CXCR3 была наиболее высокой на В-клетках памяти и повышена во всех субпопуляциях В-клеток у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С ($p < 0{,}001$). Установлено перераспределение в сторону дифференцированных субпопуляций — дважды негативных (CD38$^-$CD27$^-$), покоящихся клеток памяти (CD38$^-$CD27$^+$) и активированных зрелых (CD38$^+$CD27$^+$) В-клеток. Была продемонстрирована положительная корреляция между вирусной нагрузкой и уровнем CD38$^+$ В-лимфоцитов, а также CXCR3$^+$ наивных/активированных зрелых субпопуляций. Клетки памяти CD38$^+$ B1/B2 продемонстрировали отрицательную корреляцию с вирусной нагрузкой. Для генотипа 1, прогрессия фиброза (F3/цирроз была ассоциирована со снижением В2 клеток и повышенным содержанием CXCR3$^+$ B1/B2 субпопуляций. Данные результаты предполагают, что прогрессировании вирусного гепатита С задействован рецептор CXCR3.

Ключевые слова: *В-клетки, CXCR3, гепатит С, проточная цитометрия, вирусная нагрузка, фиброз печени.*

Introduction

Hepatitis C virus (HCV) infection remains a serious problem for global healthcare. The disease is often chronic, with the development of liver cirrhosis, hepatocellular carcinoma and/or extrahepatic complications. According to World Health Organization (WHO) data, in 2022 there were 50 million HCV patients worldwide [23].

Despite being known for tropism to liver tissues, HCV replicates not only in hepatocytes, but also in various types of immune cells. HCV infects the cell through interaction with CD81 receptor on the surface of hepatocytes and B lymphocytes. Some authors suggest that B-cell virus tropism leads to various systemic complications, such as mixed cryoglobulinemia [7], rheumatoid factor production [15], lymphoproliferative disorders [24], B-cellular lymphoma [20, 21]. In addition, it is likely that B-cells may act as an additional reservoir for HCV survival in the host [9]. Therefore, B lymphocytes can play a significant role in the immune aspects of chronic hepatitis C development and its complications.

Studying B-cell subsets and their role in development of infectious diseases is an object of high interest, correlating with clinical and laboratory markers of disease activity. However, subsets of peripheral B lymphocytes in chronic hepatitis C are poorly studies compared to other infections. In the classical way of B lymphocyte differentiation into subsets of B1, B2 and memory B-cells receptors CD5 and CD27 are used as markers. B2 cells (CD5$^-$ CD27$^-$) form the main subset of B lymphocytes and play a major role in the humoral immune response. Memory B-cells expressing CD27 are more sensitive to antigen stimulation, they proliferate quickly and form plasma cells [5]. CD5-expressing B1 cells are associated with production of autoantibodies; their increase considered to be related with autoimmune pathology [10].

Another B lymphocyte differentiation scheme according to the stages of maturation is based on co-expression of CD27 and CD38 [8]. The smallest subset is transitional B-cells ($CD38^{bright}CD27-$). This population migrates from bone marrow to secondary lymphoid organs as the earliest subset of B lymphocytes that appears in peripheral blood. The largest subset is "naïve" mature B-cells ($CD38^{+}CD27^{-}$) with signs both of "naïve" and mature B-cells. A subset of activated mature B-cells ($CD38^{+}CD27^{+}$) can be differentiated into a subset of resting memory B-cells ($CD38^{-}CD27^{+}$) or plasma cells ($CD38^{bright}CD27^{+}$). The final subset is "double negative" B-cells ($CD38^{-}CD27^{-}$) with no clearly described features [12].

This classification allows to better characterize both stages of maturation and B-cellular immune responses in chronic hepatitis C.

One of the most well studied chemokine receptors in HCV infection is CXCR3. The expression of this chemokine receptor increases significantly on B lymphocytes and, especially, on memory B-cells during chronic infection [16]. This reflects migration and involvement of these cells in damaged liver tissue and their participation in immunopathogenesis of chronic hepatitis C [13]. We, too, previously published data on B-cellular subsets and CXCR3 expression [1]. Within our previous study, we explored B1, B2 and B memory subsets between HCV infected individuals and controls. We noted no statistically significant differences between these groups. However, the percentage of $CXCR3^{+}$ cells was higher in patients with HCV infection. To further investigate these finding, we improved the gating strategy by adding CD38. The use of current gating strategy based on CD27 and CD38 expression allows to determinate all main peripheral blood B lymphocyte subsets and measure CXCR3 expression. Moreover, we added severity of liver fibrosis and the viral load into analysis.

The purpose of this study is to investigate changes in the peripheral B and $CXCR3^{+}$ B-cell subsets in chronic HCV patients and explore a relationship between clinical and laboratory markers of disease activity.

Materials and methods

For this study, we used blood samples from 58 patients with chronic hepatitis C infection. All patients were positive for HCV RNA, had not received antiviral therapy, and were not infected with HBV and/or HIV.

The control group included 27 healthy donors not infected with HCV, HBV and/or HIV. All participants lived in the North-West region of Russia.

Data acquisition was performed with flow cytometer Navios™ (Beckman Coulter, USA) equipped with 488 and 638 nm diode lasers. The following monoclonal antibodies (mAbs) were used with corresponding mouse IgG isotypes: CD5-FITC (clone BL1A), CD38-PE (clone LS198-4-3), CD3-ECD (clone UCHT1), CD27-PE/Cy7 (clone 1A4CD27), CXCR3-APC (clone G025H7), CD19-APC-Alexa Fluor 700 (clone J3–119).

All above-mentioned mAbs were manufactured by Beckman Coulter (USA), except for CXCR3-APC (by BioLegend, USA). Sample preparation was performed according to the standard procedure [2]. The gating strategy for the main B-cell subsets was described previously [11]. We used VersaLyse lysing solution (Beckman Coulter, USA) for erythrocyte lysis. At least 50 000 lymphocytes were analyzed in each sample. The absolute number of cells was determined using FlowCount™ reagent (Beckman Coulter, USA).

For a study of B-cell subsets content and CXCR3 expression depending on HCV genotype all patients were divided into two groups — genotype 1 ($n = 35$) and "non-1" genotype ($n = 23$). The stage of liver fibrosis was assessed via METAVIR scale (F0 — absence of fibrosis, F1 — weak fibrosis, F2 — moderate fibrosis, F3 — severe fibrosis and F4 — cirrhosis) [22]. Based on fibrosis stage, patients were divided into three groups: F0–F1 ($n = 27$), F2 ($n = 12$) and F3-F4 ($n = 10$). All patients were tested for viral load. Data were analyzed using Navios Software v.1.2 and Kaluza™ v.1.2 (Beckman Coulter, USA). Statistical analysis was performed using GraphPad Prizm 6 (GraphPad Software, USA). Data are presented as median, interquartile range (25; 75%), minimum and maximum values. Statistical significance between groups was determined by Mann–Whitney test, differences were considered significant at $p < 0.05$. Correlations between parameters were assessed using Spearman correlation analysis.

Results

The strategy of peripheral B lymphocyte subset analysis included separation of B-cells from other lymphocyte subsets based on CD19 expression. Then, using dot plot for a distribution of B-lymphocytes numbers of B1 ($CD5^{+}$), B2 ($CD5^{-}CD27^{-}$) and B memory ($CD27^{+}$) cells were determined by expression levels of CD5 and CD27. Based on co-expression of CD38 and CD27, we analyzed transitional cells ($CD38^{bright}CD27^{-}$), "naïve" mature cells ($CD38^{+}CD27^{-}$), resting memory cells ($CD38^{-}CD27^{+}$), activated mature cells ($CD27^{+}CD38^{+}$) and "double negative" cells ($CD38^{-}CD27^{-}$) (Fig. 1). Expression of the chemokine receptor CXCR3 was determined on a separate histogram for each subset of B-cells.

The total number of B-cell subsets ($CD19^{+}$) in peripheral blood of HCV patients was not significantly different ($p = 0.68$) from the control group. When B lymphocytes were divided into B1 ($CD5^{+}CD19^{+}$), B2 ($CD5^{-}CD27^{-}CD19^{+}$) and B memory cells ($CD27^{+}CD19^{+}$), elevated numbers of memory B-cells

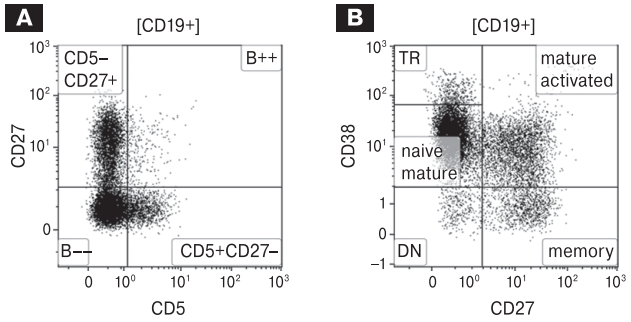


Figure 1. A distribution of the main B cell subsets by expression levels of CD27/CD5 (A) and CD38/CD27 (B)

were seen in HCV patients ($p = 0.037$). CXCR3 expression was different among B-cell subsets in both groups (Fig. 2). Memory B-cells expressed CXCR3 at high levels, whereas the expression for B1 and B2 cells was comparatively less. In HCV patients, an increased number of all three subsets of B-cells expressing CXCR3 ($p < 0.001$) was noted.

Numbers and percentages of transitional ($CD38^{bright}CD27^{-}$), "naïve" mature ($CD38^{+}CD27^{-}$), resting memory ($CD38^{-}CD27^{+}$), activated mature ($CD38^{+}CD27^{+}$), "double negative" B-cells ($CD38^{-}CD27^{-}$) and subsets of these cells expressing CXCR3 were determined. In HCV patients, a redistribution

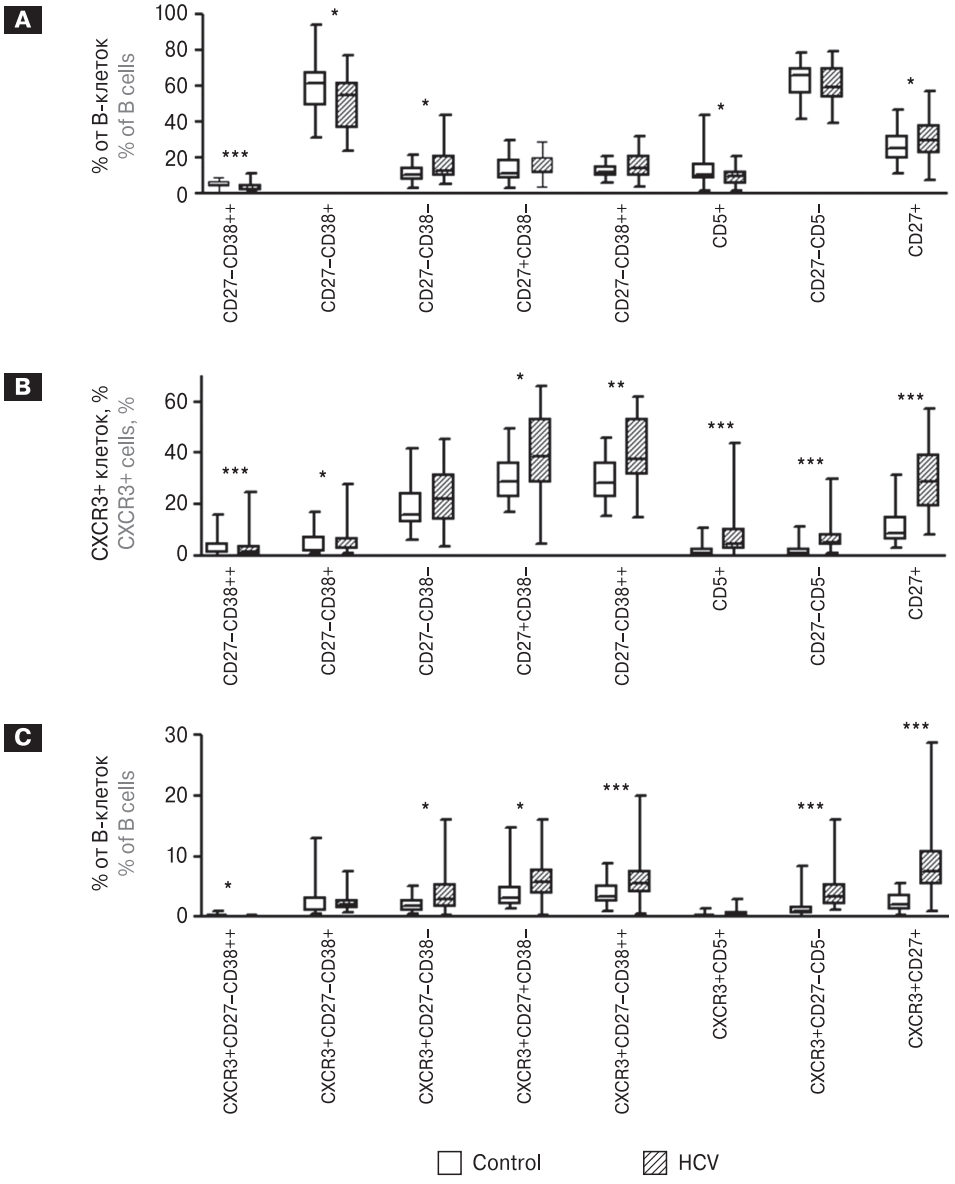


Figure 2. B lymphocyte subsets in peripheral blood of chronic HCV patients and healthy donors [Me (Q_{25}–Q_{75})]

Note. A: The percentage of B cell subsets of total B lymphocytes ($CD19^{+}$); B: The percentage of $CXCR3^{+}$ cells of B cell subsets; C: The percentage of $CXCR3^{+}$ B cell subsets of total B lymphocytes ($CD19^{+}$). *$p < 0.05$; **$p < 0.01$; ***$p < 0.001$.

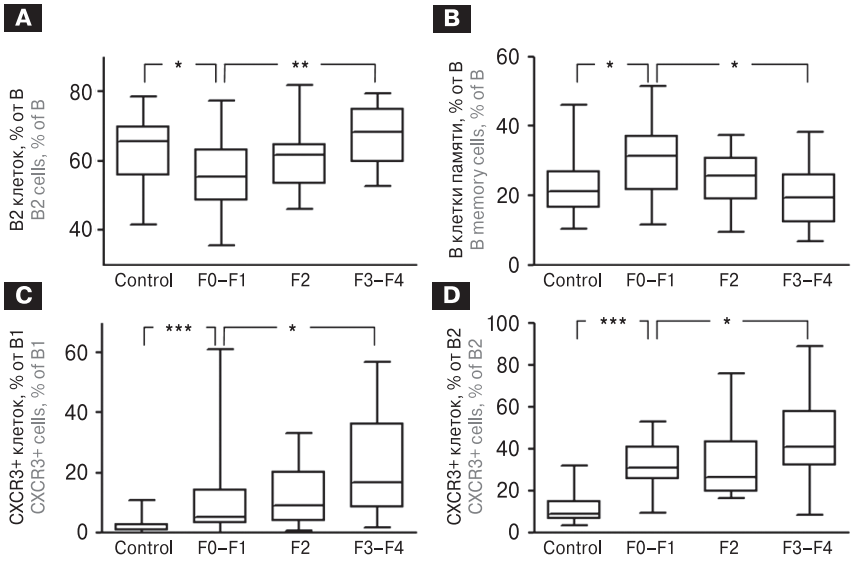


Figure 3. The composition of lymphocyte subsets in peripheral blood of chronic HCV patients with various stages of fibrosis (F0–F1, F2, F3–F4) and healthy donors [Me (Q_{25}–Q_{75})]

Note. A: The percentage of B2 cells ($CD5^-CD27^-$) of total B lymphocytes; B: The percentage of memory B cells ($CD27^+$) of total B lymphocytes; C: The percentage of $CXCR3^+$ B cell of B1 lymphocytes ($CD5^+CD19^+$); D: The percentage of $CXCR3^+$ B cells of B2 lymphocytes ($CD5^-CD27^-$). *p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001; F0–F1, F2, F3–F4 — groups of HCV patients at different stages of liver fibrosis.

of B lymphocyte subset composition was seen, from "naïve» resting B-cells towards more differentiated subsets of "double negative", resting memory and activated mature B-cells. The percentage of $CXCR3^+$ cells was also elevated among resting memory B-cells (p = 0.017) and activated mature B-cells (p = 0.001).

The content of $CD38^+$ cells of B lymphocytes (this subset includes transitional, "naïve» and activated mature B-cells) correlated with HCV viral load (r = 0.453; p = 0.014), and the content of $CD38^+$ cells of B1 (r = –0.401; p = 0.031), B2 (r = –0.538; p = 0.003) and memory B-cells (r = –0.403; p = 0.030) inversely correlated with HCV viral load. Correlations were observed also between HCV viral load and the content of "double negative" B lymphocytes ($CD38^-$ $CD27^-$) (r = 0.453; p = 0.014), $CXCR3^+$ B lymphocyte subsets: $CXCR3^+$ "naïve" mature B-cells (r = 0.394; p = 0.034) and $CXCR3^+$ active mature B-cells (r = 0.477; p = 0.009).

Based on the HCV genotype, the group with genotype 1 there demonstrated a reduced (p = 0.009) percentage of B2 cells 55.57% (48.44; 59.32) compared with the group of healthy donors 68.96% (59.6; 72.43).

In the group of HCV patients with fibrosis F0 and F1, there were increased numbers of memory B subset (p = 0.015) and a reduction of B2 subset (p = 0.012) compared with the control group. In the group of HCV patients with F3 fibrosis and liver cirrhosis, an elevation of memory B-cell subset (p = 0.015) and reduction of B2 cell subset (p = 0.004) were seen compared to the HCV patients with F0 and F1 fibrosis. The numbers of $CXCR3^+$ B1 and $CXCR3^+$ B2 subsets in the group of patients with F3 fibrosis and liver cirrhosis were elevated compared with the group with F0 and F1 fibrosis (p = 0.050; p = 0.027). There was a trend towards a rise in the numbers of $CXCR3^+$ B1 and $CXCR3^+$ B2 cells as the fibrosis progressed (Fig. 3).

Discussion

The available studies on memory B-cells in HCV patients are contradictory. Our results are most consistent with the results of Rosa et al., 2005 and show an increased percentage of memory B-cells in peripheral blood of HCV patients compared to the control group [16]. This is also consistent with the fact that $CD27^+$ B-cells are less prone to apoptosis than $CD27^-$ B-cells [14] which explains their elevation in the peripheral blood. Memory B-cells are quickly activated by antigen stimulation.

In the group of HCV patients a reduced percentage of B1 cells was noted when compared to the total number of B lymphocytes. This finding, we believe, is most likely due to the increase in memory B-cells. Other studies either unchanged [18] or increased numbers of B1 cells [25] in peripheral blood of HCV patients. This could occur if the group included patients with systemic complications associated with the dysregulation of B-cellular immunity. In the meantime, HCV patients demonstrated a reduced number of less differentiated B-cell subsets (e.g., transitional and "naïve» mature) and an increase in more differentiated (activated mature, "double negative" B-cells). Our results demonstrate that chronic hepatitis C is associated with the redistribution (or an imbalance) in B-cellular fractions towards more differentiated cells.

CXCR3 expression is higher on more differentiated B-cell subsets, and our findings on CXCR3 expression suggest that these B-cell subsets are attracted to the infected liver tissues. Their presence in tissues and the degree of attraction varies: resting memory B-cells, activated mature B-cells, less "double negative" B-cells, and least CXCR3-expressing cells are transitional and "naïve» mature B-cells.

CXCR3 is involved in B lymphocyte transmigration through the endothelium of sinusoidal capillaries of liver [4]. Our results on the expression of CXCR3 on B lymphocytes and memory B-cells confirm already existing studies [14, 19].

Previously, we have published a review article on CXCR3 expression in various infections, and although it focuses mostly on CXCR3 expression in T cells, there are some points to be made concerning HCV [17]. For HCV infection, CXCL9, CXCL10, and CXCL11 are key ligands for CXCR3 that are elevated [6]. The persistent inflammation driven by CXCR3 ligands in HCV could influence B-cell activation, antibody production, and possibly autoantibody formation. High serum levels of CXCL10 are associated with advanced liver fibrosis and extrahepatic manifestations like vasculitis and autoimmune thyroiditis in HCV patients [3]. CXCL10 levels correlate with liver fibrosis scores and enzyme concentrations, suggesting a role in disease progression. Targeting CXCR3 or its ligands could be a potential therapeutic approach to modulate B-cell responses in HCV.

We believe that B lymphocytes, specifically their more differentiated subsets, are either constantly present, or migrate into the infected liver tissues during HCV infection.

Conclusions

We discovered that CD38 and CXCR3 expression on B-cells is dependent on viral load. In addition, we have demonstrated that the late stages of liver fibrosis are followed by the depletion of memory cells and an upsurge in $CXCR3^+$ B1 and B 2 cells. When taking HCV genotype into account, patients with HCV genotype 1 demonstrated higher levels of B2 subsets. These relationships require further investigation and we encourage our readers and fellow colleagues to join the research of this topic.

References

1. Арсентьева Н.А., Кудрявцев И.В., Елезов Д.С., Семенов А.В., Басина В.В., Эсауленко Е.В., Тотолян Арег А. Экспрессия хемокинового рецептора CXCR3 на субпопуляциях В-лимфоцитов периферической крови больных хроническим вирусным гепатитом // Медицинская иммунология. 2013. Т. 15, № 5. С. 471–476. [Arsentyeva N.A., Kudryavtsev I.V., Elezov D.S., Semenov A.V., Basina V.V., Esaulenko E.V., Totolian A.A. Expression of chemokine receptor CXCR3 on subpopulations of peripheral blood B-lymphocytes in patients with chronic viral hepatitis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2013, vol. 15, no. 5, pp. 471–476. (In Russ.)*] *doi: 10.15789/1563-0625-2013-5-471-476*
2. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян Арег А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлюориметров-анализаторов» (Проект) // Медицинская иммунология. 2012. Т. 14, № 3. С. 255–268. [Khaydukov S.V., Baydun L.A., Zurochka A.V., Totolian Areg A. Standardized technology «Research of lymphocytes subpopulation composition in peripheral blood using flow cytometry analyzers» (Draft). *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2012, vol. 14, no. 3, pp. 255–268. (In Russ.)*] *doi: 10.15789/1563-0625-2012-3-255-268*
3. Butera D., Marukian S., Iwamaye A.E., Hembrador E., Chambers T.J., Di Bisceglie A.M., Charles E.D., Talal A.H., Jacobson I.M., Rice C.M., Dustin L.B. Plasma chemokine levels correlate with the outcome of antiviral therapy in patients with hepatitis C. *Blood, 2005, vol. 106, no. 4, pp. 1175–1182. doi: 10.1182/blood-2005-01-0126*
4. Curbishley S.M., Eksteen B., Gladue R.P., Lalor P., Adams D.H. CXCR3 activation promotes lymphocyte transendothelial migration across human hepatic endothelium under fluid flow. *Am. J. Pathol., 2005, vol. 167, pp. 887–899. doi: 10.1016/S0002-9440(10)62060-3*
5. Fecteau J.F., Roy A., Néron S. Peripheral blood CD27+ IgG+ B-cells rapidly proliferate and differentiate into immunoglobulin-secreting cells after exposure to low CD154 interaction. *Immunology, 2009, vol. 128, no. 1, pp. 353–365. doi: 10.1111/j.1365-2567.2008.02976.x*
6. Ferrari S.M., Fallahi P., Ruffilli I., Elia G., Ragusa F., Paparo S.R., Patrizio A., Mazzi V., Colaci M., Giuggioli D., Ferri C., Antonelli A. Immunomodulation of CXCL10 secretion by hepatitis C virus: could CXCL10 be a prognostic marker of chronic hepatitis C? *J. Immunol. Res., 2019, vol. 2019: 5878960. doi: 10.1155/2019/5878960*
7. Ferri C., Antonelli A., Mascia M.T., Sebastiani M., Fallahi P., Ferrari D., Giunti M., Pileri S.A., Zignego A.L. B-cells and mixed cryoglobulinemia. *Autoimmun. Rev., 2007, vol. 7, no. 2, pp. 114–120. doi: 10.1016/j.autrev.2007.02.019*
8. Hanley P., Sutter J.A., Goodman N.G., Du Y., Sekiguchi D.R., Meng W., Rickels M.R., Naji A., Prak E.T.L. Circulating B-cells in type 1 diabetics exhibit fewer maturation-associated phenotypes. *Clin. Immunol., 2017, vol. 183, pp. 336–343. doi: 10.1016/j.clim.2017.09.021*
9. Ito M., Masumi A., Mochida K., Kukihara H., Moriishi K., Matsuura Y., Yamaguchi K., Mizuochi T. Peripheral B-cells may serve as a reservoir for persistent hepatitis C virus infection. *J. Innate Immun., 2010, vol. 2, pp. 607–617. doi: 10.1159/000317690*
10. Kotb A., Ismail S., Kimito I., Mohamed W., Salman A., Mohammed A.A. Increased CD5+ B-cells are associated with autoimmune phenomena in lepromatous leprosy patients. *J. Infect. Public Health, 2019, vol. 12, no. 5, pp. 656–659. doi: 10.1016/j.jiph.2019.03.001*
11. Kudryavtsev I.V., Arsentieva N.A., Batsunov O.K., Korobova Z.R., Khamitova I.V., Isakov D.V., Kuznetsova R.N., Rubinstein A.A., Stanevich O.V., Lebedeva A.A., Vorobyov E.A., Vorobyova S.V., Kulikov A.N., Sharapova M.A., Pevtcov D.E., Totolian A.A. Alterations in B cell and follicular T-helper cell subsets in patients with acute COVID-19 and COVID-19 convalescents. *Curr. Issues Mol. Biol., 2021, vol. 44, no. 1, pp. 194–205. doi: 10.3390/cimb44010014*

12. Luning Prak E.T., Ross J., Sutter J., Sullivan K.E. Age-related trends in pediatric B-cell subsets. *Pediatr. Dev. Pathol., 2011, vol. 14, no. 1, pp. 45–52. doi: 10.2350/10-01-0785-OA*
13. Mizuochi T., Ito M., Saito K., Kasai M., Kunimura T., Morohoshi T., Momose H., Hamaguchi I., Takai K., Iino S., Suzuki M., Mochida S., Ikebuchi K., Yamaguchi K. Possible recruitment of peripheral blood CXCR3+CD27+CD19+ B-cells to the liver of chronic hepatitis C patients. *J. Interferon Cytokine Res., 2010, vol. 30, no. 4, pp. 243–252. doi: 10.1089/jir.2009.0047*
14. Mizuochi T., Ito M., Takai K., Yamaguchi K. Peripheral blood memory B-cells are resistant to apoptosis in chronic hepatitis C patients. *Virus Res., 2011, vol. 155, no. 1, pp. 349–351. doi: 10.1016/j.virusres.2010.09.017*
15. Reyes-Avilés E., Kostadinova L., Rusterholtz A., Cruz-Lebrón A., Falck-Ytter Y., Anthony D.D. Presence of rheumatoid factor during chronic HCV infection is associated with expansion of mature activated memory B-cells that are hypo-responsive to B-cell receptor stimulation and persist during early stage of IFN-free therapy. *PLoS One, 2015, vol. 10, no. 12: e0144629. doi: 10.1371/journal.pone.0144629*
16. Rosa D., Saletti G., De Gregorio E., Zorat F., Comar C., D'Oro U., Nuti S., Houghton M., Barnaba V., Pozzato G., Abrignani S. Activation of naive B lymphocytes via CD81, a pathogenetic mechanism for hepatitis C virus-associated B lymphocyte disorders. *Proc. Natl Acad. Sci. USA, 2005, vol. 102, no. 51, pp. 18544–18549. doi: 10.1073/pnas.0509402102*
17. Rubinstein A., Kudryavtsev I., Arsentieva N., Korobova Z.R., Isakov D., Totolian A.A. CXCR3-expressing T cells in infections and autoimmunity. *Front. Biosci. (Landmark Ed.), 2024, vol. 29, no. 8: 301. doi: 10.31083/j.fbl2908301*
18. Santer D.M., Hockman D., Landy A., Tyrrell D.L., Houghton M. Enhanced activation of memory, but not naïve, B-cells in chronic hepatitis C virus–infected patients with cryoglobulinemia and advanced liver fibrosis. *PLoS One, 2013, vol. 8, no. 6: e68308. doi: 10.1371/journal.pone.0068308*
19. Shetty S., Bruns T., Weston C.J., Stamataki Z., Oo Y.H., Long H.M., Reynolds G.M., Pratt G., Moss P., Jalkanen S., Hubscher S.J., Lalor P.F., Adams D.H. Recruitment mechanisms of primary and malignant B-cells to the human liver. *Hepatology, 2012, vol. 56, pp. 1521–1531. doi: 10.1002/hep.25790*
20. Tasleem S., Sood G.K. Hepatitis C–associated B-cell non-Hodgkin lymphoma: clinical features and the role of antiviral therapy. *J. Clin. Transl. Hepatol., 2015, vol. 3, no. 2, pp. 134–139. doi: 10.14218/JCTH.2015.00011*
21. Visco C., Finotto S. Hepatitis C virus and diffuse large B-cell lymphoma: pathogenesis, behavior and treatment. *World J. Gastroenterol., 2014, vol. 20, no. 32, pp. 11054–11061. doi: 10.3748/wjg.v20.i32.11054*
22. Weerakkody Y., Bell D., Rezaee A. METAVIR score. Reference article. *Radiopaedia.org, 2025. doi: 10.53347/rID-51855*
23. World Health Organization. Global Hepatitis Report 2024. *World Health Organization, Geneva, 2024, p. 19. doi: 10.9789240091672*
24. Zignego A.L., Giannini C., Ferri C. Hepatitis C virus-related lymphoproliferative disorders: an overview. *World J. Gastroenterol., 2007, vol. 13, no. 17, pp. 2467–2478. doi: 10.3748/wjg.v13.i17.2467*
25. Zuckerman E. Expansion of CD5+ B-cells overexpressing CD81 in HCV infection: towards better understanding the link between HCV infection, B-cell activation and lymphoproliferation. *J. Hepatol., 2003, vol. 38, no. 5, pp. 674–676. doi: 10.1016/S0168-8278(03)00122-3*

Авторы:

Арсентьева Н.А., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; доцент кафедры иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Елезов Д.С., к.м.н., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Кудрявцев И.В., к.б.н., доцент кафедры иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия; зав. лабораторией клеточной иммунологии отдела иммунологии ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;
Коробова З.Р., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; ассистент кафедры иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика Павлова Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия;
Тотолян А.А., академик РАН, д.м.н., профессор, директор ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; зав. кафедрой иммунологии ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Arsentieva N.A., PhD (Biology), Associate Professor of the Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation; Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Elezov D.S., PhD (Medicine), Junior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Kudryavtsev I.V., PhD (Biology), Associate Professor of the Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation; Head of the Cell Immunology Laboratory, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation;
Korobova Z.R., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Assistant Professor, Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;
Totolian A.A., RAS Full Member, DSc (Medicine), Professor, Director, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Head of the Department of Immunology, Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 29.05.2025
Принята к печати 08.06.2025

Received 29.05.2025
Accepted 08.06.2025

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 536–542

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 536–542

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *PGA* GENE TYPES A–D AMONG MULTI-DRUG RESISTANT STRAINS OF *ACINETOBACTER BAUMANNII*

M.S. Supreeta, K. Kannika Parameshwari, A.S. Smiline Girija, J. Vijayashree Priyadharsini

Saveetha Institute of Medical and Technical Sciences, Chennai, Tamil Nadu, India

Abstract. This study aimed to explore the prevalence of *Acinetobacter baumannii* in clinical settings, its antimicrobial resistance, and biofilm formation ability in ventilator-associated pneumonia (VAP) patients, with a particular focus on the *pgaABCD* gene locus responsible for biofilm formation. A total of 53 isolates were collected over a 5-month period from patients suffering from pneumonia and lower respiratory tract infections. The isolates were identified, and their drug resistance profiles were evaluated using the VITEK automated system. Biofilm formation ability was assessed using the crystal violet assay. The presence of the *pgaABCD* gene was confirmed through PCR, and the sequences were analyzed to investigate gene prevalence and mutations. Among the 53 clinical samples, 29 isolates (54.7%) were confirmed as *A. baumannii*. Biofilm formation was detected in 62.1% of the isolates, with varying levels of biofilm production. All 29 isolates (100%) encoded both the *pgaA* and *pgaD* genes, while the *pgaB* and *pgaC* genes were present in 93.10% and 89.66% of the isolates, respectively. Multidrug-resistant (MDR) strains were prevalent among the clinical isolates, with high biofilm production ability. Sequencing of the *pgaABCD* genes revealed mutations contributing to the diversity of biofilm formation. This study emphasizes the strong relationship between the *pgaABCD* locus and biofilm formation in MDR *A. baumannii* strains. The high prevalence of biofilm-forming isolates underscores the challenges in treating infections caused by *A. baumannii*, especially in VAP patients. These findings highlight the need for biofilm-targeted treatment strategies to improve patient outcomes in healthcare settings.

Key words: *pneumonia, ventilator-associated pneumonia, A. baumannii, pgaABCD, virulence.*

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОВ *PGA* ТИПА A–D СРЕДИ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ *ACINETOBACTER BAUMANNII*

Суприта М.С., Канника Парамешвар К., Смилине Гириджа А.С., Виджаяшри Приядхарсини Дж.

Институт медицинских и технических наук Савита, г. Ченнай, Тамил Наду, Индия

Резюме. Целью настоящего исследования было изучение в клинических условиях распространенности *Acinetobacter baumannii*, его устойчивости к противомикробным препаратам и способности к образованию биопленки у пациентов с ИВЛ-ассоциированной пневмонией (ИАП), основанное на исследовании локуса гена *pgaABCD*, ответственного за образование биопленки. Всего за 5 месяцев было собрано 53 изолята от пациентов, страдающих пневмонией и инфекциями нижних дыхательных путей. Изоляты были идентифици-

Адрес для переписки:
Асеерватам Селви Смилине Гириджа
Кафедра микробиологии, Институт медицинских и технических наук Савита [SIMATS], Университет Савита, Перамбур Хай Роуд, Ченнай-600077, Тамил Наду, Индия.
Тел.: 9841516172.
E-mail: smilinejames25@gmail.com

Contacts:
Aseervatham Selvi Smiline Girija
Department of Microbiology, Saveetha Dental College and Hospital, Saveetha Institute of Medical and Technical Sciences [SIMATS], Saveetha University, P.H.Road, Chennai-600077, Tamil Nadu, India.
Phone: 9841516172.
E-mail: smilinejames25@gmail.com

Для цитирования:
Суприта М.С., Канника Парамешвар К., Смилине Гириджа А.С., Виджаяшри Приядхарсини Дж. Молекулярная характеристика генов PGA типа A–D среди полирезистентных штаммов Acinetobacter baumannii // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 536–542. doi: 10.15789/2220-7619-MCO-17785

Citation:
Supreeta M.S., Kannika Parameshwari K., Smiline Girija A.S., Vijayashree Priyadharsini J. Molecular characterization of PGA gene types A–D among multi-drug resistant strains of Acinetobacter baumannii // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 536–542. doi: 10.15789/2220-7619-MCO-17785

© Supreeta M.S. et al., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-MCO-17785

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

рованы, а их профили лекарственной устойчивости были оценены с помощью автоматизированной системы VITEK. Способность к образованию биопленки была оценена с помощью теста с кристаллическим фиолетовым. Наличие гена *pgaABCD* было подтверждено с помощью ПЦР, а последовательности гена были проанализированы для оценки его распространенности и мутаций. Среди 53 клинических образцов в 29 изолятах (54,7%) было подтверждено наличие *A. baumannii*. Образование биопленки разной выраженности было обнаружено в 62,1% изолятах. Все 29 изолятов (100%) *A. baumannii* кодировали как гены *pgaA*, так и *pgaD*, тогда как гены *pgaB* и *pgaC* обнаружены в 93,10 и 89,66% изолятов соответственно. Среди клинических изолятов преобладали штаммы с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) с высокой способностью к образованию биопленки. Секвенирование генов *pgaABCD* выявило мутации, способствующие различным типам образования биопленки. Настоящее исследование подчеркивает тесную связь между локусом *pgaABCD* и образованием биопленки в штаммах *A. baumannii* с МЛУ. Высокая распространенность изолятов, образующих биопленку, подчеркивает трудности в лечении инфекций, вызванных *A. baumannii*, особенно у пациентов с ИАП. Полученные результаты подчеркивают необходимость разработки стратегий терапии, воздействующей на биопленку, для улучшения результатов лечения пациентов в медицинских учреждениях.

Ключевые слова: *пневмония, ИВЛ-ассоциированная пневмония, A. baumannii, pgaABCD, вирулентность.*

Introduction

Acinetobacter baumannii is a gram-negative coccobacillus that has been spotlighted as a formidable opportunistic pathogen in healthcare settings worldwide [9]. The Centers for Disease Control and Prevention (CDC) documented *A. baumannii* as a critical pathogen due to its resistance to various classes of antibiotics [29]. The organism is tremendously robust, can survive in harsh environments, and readily acquired antibiotic resistance, which makes it a persistent threat in hospital settings [11, 26].

One of the most critical challenges posed by *A. baumannii* is its association with ventilator-associated pneumonia (VAP), a common nosocomial infection in intensive care units (ICUs). VAP, often caused by drug-resistant *A. baumannii*, is linked to higher mortality rates and increased healthcare costs, particularly when there are delays in its recognition and treatment [21]. This pathogen is notorious for its rapid development of resistance to most antimicrobials, making it a frequent cause of lower respiratory tract infections in critically ill patients [10].

Recently, the effectiveness of first-line antibiotics against clinical isolates of *A. baumannii* has drastically decreased. The pathogen developed robust defense mechanisms against various antimicrobial agents, including cephems, aminoglycosides, fluoroquinolones, and carbapenems [15]. Presently, polymyxins, tigecycline, and ampicillin/sulbactam are often considered last-resort treatments for infections caused by *A. baumannii* [30]. The emergence of pandrug-resistant (PDR), extensively drug-resistant (XDR), and multidrug-resistant (MDR) strains underscores the growing concern in antimicrobial resistance stewardship [20].

A key factor contributing to the threat of *A. baumannii* in healthcare environments is its ability to form biofilms on various surfaces [28]. Biofilms significantly enhance antibiotic resistance through mechanisms such as impaired drug diffusion due to microbial aggregation and shields of exopolymeric substance (EPS) matrix [22]. Moreover, stress responses modify bacterial phenotypes and genotypes and physiological heterogeneity within the biofilm [32]. *A. baumannii* harbors the *pgaABCD* locus, which encodes proteins involved in synthesizing cell-associated poly-β-(1-6)-N-acetylglucosamine (PNAG), a critical virulence factor that protects the bacteria against innate host defenses [7, 19]. The *pgaB* gene, in particular, plays a crucial role in the exportation of PNAG, while *pgaC* and *pgaD* are essential for its biosynthesis [5, 16].

Recent studies have generated significant interest in understanding the relationship between virulence factors like PNAG and antibiotic resistance. Evidence suggests a strong correlation between the presence of such factors and increased drug resistance [18]. However, uncertainties remain regarding the risk factors and prognosis associated with *A. baumannii* infections. This study aimed to compare cases of VAP caused by *A. baumannii* and explore the relationship between drug resistance and biofilm formation, focusing on mutations in the *pgaABCD* locus among the isolates.

Materials and methods

Bacterial strains and phenotypic tests. This prospective observational study was conducted for a period of five months from January 2024 to May 2024, at the Department of Microbiology, Saveetha Dental College and Hospitals. A total of 53 (N) ICU patients with pneumonia and lower respiratory tract infections were included for this study for the characterisation of clinical isolates of *A. baumannii*. Clinical samples such as sputum, bronchoalveolar lavage (BAL) fluid, and endotracheal aspirates (ETA), collected under strict aseptic conditions were immediately sent to the microbiology laboratory. The samples were cultured on 5% blood agar and MacConkey agar, then incubated at 37°C for 16–18 hours. Identification of *A. baumannii* was performed using the VITEK automated system, which also determined the anti-

microbial resistance profiles. The identified isolates were preserved in glycerol stock at −80°C for further experimentation.

Identification of biofilm formers by crystal violet assay. Biofilm formation was evaluated using a 96-well microtiter plate (Himedia, Mumbai, India) as mentioned in an earlier report done by Kannan and Girija [17]. Each isolated colony was inoculated into 5 mL of BHI broth and incubated overnight at 37°C. The overnight cultures were then diluted 1:100 in fresh BHI broth, with 200 µL dispensed into each well of a microtiter plate. The plates were incubated for 24 or 48 hours at 37°C without shaking. After incubation, each well was washed three times with 200 µL of sterile phosphate-buffered saline (PBS; pH 7.4) to remove the planktonic cells. The biofilm was stained by adding 200 µL of 0.1% sterile crystal violet (CV, Merck) solution per well for 15 minutes. Plates were rinsed twice with distilled water and once with PBS, then dried for 30 minutes in an inverted position. After drying, 200 µL of 96% ethanol was added to dissolve the dye. Wells containing sterile medium served as blank controls. The contents of each well were transferred to a sterile polystyrene microtiter plate, and the optical density (OD) at 570 nm was measured using a microtiter plate reader (Robonic Elisa reader). All experiments were conducted in triplicate.

Isolation of bacterial genomic DNA. The MDR strains were identified based on the previous report done by Girija and Priyadharshini [12]. The genomic DNA of *A. baumannii* was obtained by cultivating the isolates in BHI broth at 37°C for 12 hours, followed by extraction using the Qiagen DNA extraction kit as per the manufacturer's instructions.

Prevalence of pgaABCD gene among MDR A. baumannii. The PCR reaction mixture included a 2X master mix (Takara), 3 µl of template DNA, 2 µl each of forward and reverse primers, and nuclease-free water to reach a total volume of 25 µl. The resulting PCR products were analyzed using agarose gel electrophoresis, compared against a 100 bp DNA ladder (Thermo Fisher Scientific, USA), and visualized under a UV trans-illuminator.

Confirmation of the pga gene amplicon by sequencing. The PCR products were sequenced using the Big-Dye terminator v3.1 Cycle sequencing kit (Applied Biosystem, USA), and the amplicons were analyzed with the 3730XL genetic analyzer. The obtained sequences were processed with Bio-Edit Sequence Alignment Editor v7.2.5. Nucleotide similarities and mutations were assessed using BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). Multiple sequence alignments were performed using ClustalW software version 1.83.

Results

Isolation and identification of A. baumannii. Among the study population (N = 53), 29 isolates were identified as *A. baumannii*, with a prevalence rate of 54.7% (Fig. 1, cover II). All clinical isolates demonstrated MDR, exhibiting resistance to more than three classes of antibiotics as determined by VITEK analysis. High resistance rates were observed against cefepime (83.67%), meropenem (81.13%), imipenem (79.23%), and gentamicin (77.16%). Resistance to cefuroxime and cefoperazone was equally high at 75.21%, followed by piperacillin-tazobactam (73.11%), ampicillin (65.95%), and cefotaxime (59.13%). In contrast, all isolates were fully susceptible to colistin and tigecycline (0% resistance), underscoring their potential role in treating multidrug-resistant *A. baumannii* infections.

Determining the biofilm-forming ability of A. baumannii isolates. Among all *A. baumannii* isolates examined for biofilm formation, 18 (62.1%) were biofilm producers, while 11 (37.9%) were non-biofilm producers. The biofilm-producing strains were categorized into three groups: 3 (16.67%) were weak biofilm producers, 4 (22.22%) were moderate biofilm producers, and 11 (61.11%) were strong biofilm producers.

Frequency of pgaABCD gene among MDR A. baumannii. PCR analysis was performed to assess the presence of biofilm-associated genes *(pgaA*, *pgaB*, *pgaC*, and *pgaD)* across the 29 clinical isolates. All isolates (100%) were found to harbor both the *pgaA* and *pgaD* genes, while the *pgaB* and *pgaC* genes were present in 93.1% (n = 27) and 89.7% (n = 26) of the isolates, respectively. These results highlight a high prevalence of genes associated with biofilm formation in the clinical strains, underscoring their potential for biofilm production, which is a key factor for their virulence and persistence in clinical settings.

Table. Primer sequences and PCR conditions for *pgaABCD* gene types used in the study

Gene	Sequence, 5'→3'	Annealing Temperature	Amplicon size
***pgaA* F** ***pgaA* R**	ATTCAAAAGTCAGTTGATGGGC TTTTTTGTCCTTGCTCCAGC	56°C	460 bp
***pgaB* F** ***pgaB* R**	CCCCTGCTCATCATAATGTAAG GGTTTTGTTTAATGTGGCTGC	58°C	326 bp
***pgaC* F** ***pgaC* R**	CAGTGGTATGGCGTGATATT GGTACTGCAACAACACTGGT	57°C	178 bp
***pgaD* F** ***pgaD* R**	TTGATCAGCCTGAATATGTGA CACACATAGTCATAAATGAGG	54°C	145 bp

Sequencing and MSA. The nucleotide sequences of the *pgaA*, *pgaB*, *pgaC*, and *pgaD* genes from clinical isolates were analyzed through Sanger sequencing. Multiple sequence alignments revealed notable variations among the genes involved in biofilm formation. The alignment displayed a high degree of sequence conservation across the four genes, with distinct single nucleotide polymorphisms (SNPs) and indels observed in *pgaB* and *pgaD* compared to *pgaA* and *pgaC*. Specifically, *pgaB* showed multiple substitutions and insertions were not observed in *pgaC*. Likewise, *pgaD* exhibited deletions and unique sequence regions, particularly in the N-terminal and C-terminal ends, suggesting divergence from the other genes. In several regions, *pgaB* had significantly longer stretches of sequence while *pgaD* was comparatively shorter (up to 103 bases), indicating gene size variability. Conserved motifs such as "TAAACAAAAC" were shared among multiple genes, hinting at potential regulatory and structural roles. These polymorphisms may play a role in biofilm-related functions and potentially influence antibiotic resistance or surface adhesion capabilities in the clinical isolates (Fig. 2).

```
PgaC    ------------------------------------------------------------    0
PgaA    ----------------------------------TCCTTCACGATTTAAATATTTATA    24
PgaB    AACGGACCTCATTTATCACTATGTGTGGGTAGATCATGTTTCAGAAGTGAAAACTTTATT    60
PgaD    --ACAGCCACA-------------------------TTAAACAAAAC-----------    20

PgaC    ------------------------------------------------------------    0
PgaA    TCGAGCAATTGCATTGTTG-----------------ATATGTT----------GAGAAAA    57
PgaB    GCATTTACTTCTGTTAATAGGTCTCACCGCACTCATTTTAATTTTATGGGCAAGTTATAA    120
PgaD    ----------------------------CAACCTATTGTTTGTAAGGTATAGTTTGCA    50

PgaC    ------------------------------------------------------------    0
PgaA    CTCACTAACTTGTAAAGTC---------TGCAACATTTGCACTGTTTGTTCAGTTTTTTC    108
PgaB    CTCGCTTAGATTTCATGGAGATCATCGTCGCAGCAAGCCCCCGAATAGCTCTGTTGAGTT    180
PgaD    --GTTTTATTTTTCACATA-----------------------------------------    67

PgaC    ------------------------------------------------------------    0
PgaA    GCTCGCTTGC---------AGCAATTGCTGTGCCTTTTTATATGAGCCAATA--------    151
PgaB    GCTGGCCTCACAATTTATGGTCAGTACCGAATCATTATCAGAATTACAAAAGTCCCAGCG    240
PgaD    ------------------------------------------------------------    67

PgaC    ------------------------------------------------------------    0
PgaA    --------------GCAATTACATCCTAAACATATTCTTGTAAAACGGATGAAGATTTTG    197
PgaB    CATCATCTTACATTATGATGGAGCAGGGGACCGCTTCTTGTAATTCTGAAAATGATTCGG    300
PgaD    ------------------------------------------------------------    67

PgaC    ------------------------------------------------------ACCAA    5
PgaA    TTTGTTGTTGATAAGCATGCTCAACTGTAGCTAAAGCATCTACTGGTAAATTTATTAAAC    257
PgaB    TACTGACATAAATTGTCAGGCCGCAACTC--AACAGACCTTTTCGGGGCCTTGCTGCGAC    358
PgaD    --------------TTC---AGGCTGATC--AACAACACTCTCCGTTCCCTTA-------    101

PgaC    AAATAATTTCTAAAAACCCGACCACGATCATAACGATGGTCTATCCATAAACTTACTA--    63
PgaA    GATAAGCATATGCAACCCG--------TACCA------------------ACTGATCAGC    291
PgaB    CATTATCTCCTGGAAATCTAAGCCCGTTTTTAAT--TGCCCTTAAAATAAAATTTTTGGG    416
PgaD    ------------------------------------------------------------    101

PgaC    ----------------CA--AATTGGACAAGACATGTTCCACCTAATATCAC--GCCATA    103
PgaA    AGTTAAACCTTTAATATCGATCTTCGACAACTGATCTTTAGCATT---------CGCCAC    342
PgaB    CTTAAAACTTTTAAACGAAATTAATCGCAAAAAATTTTTCTTTTTAAAAAAGAACCCCCC    476
PgaD    ------------------------------------------------------------    101

PgaC    CC--------------------------------------------------------    105
PgaA    AT-----------CTT-----GAGCTTCAGCATACAAAACCGATAATAAAATACGCCCAT    386
PgaB    CCCCTGTCCTTTAATTAAGGGGCCCTTCAAAAATCTATAAAATTAAGGAAACGGGGGGAA    536
PgaD    -------------TT--------------------------------------------    103

PgaC    --ACTGAACC--------------                                       113
PgaA    CAACTGACCTTTTGAATAAAAA--                                       408
PgaB    AAACCCCCCTTAAAAAAACAAAAA                                       560
PgaD    ----------------------                                         103
```

Figure 2. Multiple sequence alignment of partial gene sequences *(pgaA, pgaB, pgaC,* and *pgaD)* from *A. baumannii* clinical isolates, highlighting nucleotide variations including substitutions and deletions

Discussion

A. baumannii species has become increasingly common in ICUs over the past two decades, causing serious infections [13]. Ventilator-associated pneumonia (VAP) is a prevalent nosocomial infection that poses a significant challenge in hospitalized patients, particularly those in intensive care units (ICUs) [25]. *A. baumannii* is one of the most common pathogens responsible for VAP and contributes significantly to both morbidity and mortality, especially in immunocompromised patients [8]. The increasing prevalence of *A. baumannii* in VAP cases can be attributed to its resistance to multiple classes of antibiotics [24]. These associations underscore the need for alternative therapies and the rapid identification of *A. baumannii* in healthcare settings to improve patient outcomes.

In this study, the sample collection period was 3 months, which is longer than the 47-day collection period reported by Chang et al. [6] for endotracheal tube aspiration samples. This extended duration may reflect differences in study design or patient populations. Identification and antimicrobial susceptibility testing of *A. baumannii* were conducted using the VITEK 2 automated system, which efficiently identified a significant number of non-fermenting gram-negative rods within 3 hours. Rapid identification is clinically critical, as it is associated with reduced mortality, earlier initiation of appropriate antimicrobial therapy, shorter hospital stays, and lower healthcare costs [3]. The quick turnaround time provided by the VITEK 2 system highlights its value in managing the infections, particularly in critically ill patients where timely treatment is crucial.

In our study, the prevalence of *A. baumannii*-associated VAP was 54.7% (29 out of 53 samples), demonstrating the high incidence of this infection in the ICU setting. *A. baumannii* has emerged as a leading pathogen responsible for VAP, contributing to the high morbidity and mortality rates among critically ill patients [23]. The bacterium's multidrug-resistant (MDR) nature complicates treatment and limits therapeutic options for VAP patients [4]. The high mortality rates associated with *A. baumannii*-related VAP highlight the urgent need for effective treatment strategies and robust infection control measures in ICUs.

In this prospective study, all 29 *A. baumannii* isolates were identified as MDR, highlighting its critical role as a major pathogen in VAP within ICUs. The high levels of antimicrobial resistance observed in *A. baumannii* complicate clinical management. Our findings revealed significant resistance rates to 11 commonly used antibiotics, with resistance to imipenem and meropenem at 79.23% and 81.13%, respectively. Gentamicin, ampicillin, and cefoperazone/sulbactam showed resistance rates of 77.16%, 65.95%, and 75.21%, respectively. Cefepime and piperacillin/tazobactam exhibited resistance rates of 83.67% and 73.11%, respectively. Although cefuroxime had the lowest resistance rate (59.13%), it was still significant. Notably, *A. baumannii* exhibited complete sensitivity to colistin and tigecycline, underscoring the importance of these antibiotics in treating MDR infections. These resistance patterns are consistent with previous reports, emphasizing the need for novel therapeutic strategies to address MDR *A. baumannii* infections [14].

A. baumannii infections are of particular concern due to the high rates of MDR observed in clinical settings, exacerbated by the bacterium's ability to form biofilms, which further complicates treatment and eradication efforts [31]. In our study, all isolates (100%) demonstrated biofilm production, a rate considerably higher than the 48.8% reported in other clinical isolates [27]. This finding aligns with previous research, which suggests a strong correlation between biofilm formation and MDR strains [2]. The biofilm-forming ability of *A. baumannii* likely contributes to its persistence in hospital environments and resistance to antimicrobial therapies, underscoring the need for targeted strategies to combat biofilm-associated infections.

Our study explored the potential link between the phenotypic and genotypic resistance profiles of *A. baumannii* isolates and their capacity to form biofilms. We observed a strong association between MDR and biofilm formation, consistent with findings from other researchers who noted a similar connection [1]. Further investigation into the mechanisms underlying this association is essential for developing effective strategies to combat *A. baumannii* infections.

Additionally, our study found a strong correlation between the presence of the *pgaABCD* operon in *A. baumannii* and its role in biofilm formation, reflecting a significant homology within the pga locus. The *pgaA* protein is crucial for transporting poly-N-acetylglucosamine (PNAG) outside the cell, contributing to the biofilm matrix. *pgaB* promotes cell-to-cell adhesion, stabilizing the biofilm, while *pgaC* catalyzes PNAG synthesis, and *pgaD* supports efficient biofilm formation [7].

In this study, all 29 isolates (100%) encoded the *pgaA* and *pgaD* genes, while the *pgaB* and *pgaC* genes were present in 93.10% and 89.66% of the isolates, respectively. These findings align with previous research reporting a 100% prevalence of the *pgaB* gene in clinical isolates [18]. The presence of the *pgaABCD* operon, primarily linked to biofilm formation, is also associated with increased antimicrobial resistance. Biofilms act as physical barriers, reducing antibiotic efficacy and leading to persistent infections. The frequent detection of the *pgaABCD* operon in MDR strains suggests that biofilm formation contributes to the resistance profiles ob-

served in these isolates. This connection emphasizes the need for novel therapeutic approaches targeting biofilm formation alongside conventional antibiotic treatments.

Limitations of the study include small sample size and less time period of study might not have provided a significant result on the diversity of *pga* types A–D and MDR profiles. There may be a minor variation in pga gene clusters among the clinical strains, complicating the understanding of their role and association with the pathogenesis. Periodical monitoring and identification of more pga based genetic determinants beyond A–D, which may be further studied upon gene sequencing.

Conclusion

This study examined the prevalence, antimicrobial resistance, and biofilm formation of *A. baumannii* isolates from ventilator-associated pneumonia (VAP) patients, revealing the significant burden of *A. baumannii* infections in healthcare settings. The strong correlation between the presence of the *pgaABCD* gene types, playing a vital role in biofilm formation, underscores the need for biofilm-targeting strategies. Overall, this research provides crucial insights into the clinical impact of the virulent and resistant traits of *A. baumannii* in VAP and warranting the immediate need in its management in the health care settings.

References

1. Badave G.K., Kulkarni D. Biofilm Producing Multidrug Resistant Acinetobacter baumannii: An Emerging Challenge. *J. Clin. Diagn. Res., 2015, vol. 9, no. 1, pp. DC08–DC10. doi: 10.7860/JCDR/2015/11014.5398*
2. Bardbari A.M., Arabestani M.R., Karami M., Keramat F., Alikhani M.Y., Bagheri K.P. Correlation between ability of biofilm formation with their responsible genes and MDR patterns in clinical and environmental Acinetobacter baumannii isolates. *Microb. Pathog., 2017, vol. 108, pp. 122–128. doi: 10.1016/j.micpath.2017.04.039*
3. Barenfanger J., Drake C., Kacich G. Clinical and financial benefits of rapid bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing. *J. Clin. Microbiol., 1999, vol. 37, no. 5, pp. 1415–1418. doi: 10.1128/JCM.37.5.1415-1418.1999*
4. Bassetti M., Welte T., Wunderink R.G. Treatment of Gram-negative pneumonia in the critical care setting: is the beta-lactam antibiotic backbone broken beyond repair? *Crit. Care, 2016, vol. 20, no. 19: 19. doi: 10.1186/s13054-016-1197-5*
5. Boehm A., Steiner S., Zaehringer F., Casanova A., Hamburger F., Ritz D., Keck W., Ackermann M., Schirmer T., Jenal U. Second messenger signalling governs Escherichia coli biofilm induction upon ribosomal stress. *Mol. Microbiol., 2009, vol. 72, no. 6, pp. 1500–1516. doi: 10.1111/j.1365-2958.2009.06739.x*
6. Chang H.C., Chen Y.C., Lin M.C., Liu S.F., Chung Y.H., Su M.C., Fang W.F., Tseng C.C., Lie C.H., Huang K.T., Wang C.C. Mortality risk factors in patients with Acinetobacter baumannii ventilator-associated pneumonia. *J. Formos. Med. Assoc., 2011, vol. 110, no. 9, pp. 564–571. doi: 10.1016/j.jfma.2011.07.004*
7. Choi A.H., Slamti L., Avci F.Y., Pier G.B., Maira-Litrán T. The pgaABCD locus of Acinetobacter baumannii encodes the production of poly-beta-1-6-N-acetylglucosamine, which is critical for biofilm formation. *J. Bacteriol., 2009, vol. 191, no. 19, pp. 5953–5963. doi: 10.1128/JB.00647-09*
8. El-Saed A., Balkhy H.H., Al-Dorzi H.M., Khan R., Rishu A.H., Arabi Y.M. Acinetobacter is the most common pathogen associated with late-onset and recurrent ventilator-associated pneumonia in an adult intensive care unit in Saudi Arabia. *Int. J. Infect. Dis., 2013, vol. 17, no. 9, pp. e696–e701. doi: 10.1016/j.ijid.2013.02.004*
9. Ganesh P.S., Naji Naseef P., Muthusamy R., Sankar S., Gopal R.K., Shankar E.M. Acinetobacter baumannii Virulence Factors and Biofilm Components: Synthesis, Structure, Function, and Inhibitors. *In: ESKAPE Pathogens. Detection, Mechanisms and Treatment Strategies. Eds: S. Busi, R. Prasad. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd., 2024, pp. 297–315. doi: 10.1007/978-981-99-8799-3_10*
10. Garnacho-Montero J., Amaya-Villar R. Multiresistant Acinetobacter baumannii infections: epidemiology and management. *Curr. Opin. Infect. Dis., 2010, vol. 23, no. 4, pp. 332–339. doi: 10.1097/QCO.0b013e32833ae38b*
11. Girija As.S., Priyadharsini J.V., Paramasivam A. Prevalence of Acb and non-Acb complex in elderly population with urinary tract infection (UTI). *Acta Clin. Belg., 2021, vol. 76, no. 2, pp. 106–112. doi: 10.1080/17843286.2019.1669274*
12. Girija As.S., Priyadharsini J.V. CLSI based antibiogram profile and the detection of MDR and XDR strains of Acinetobacter baumannii isolated from urine samples. *Med. J. Islam. Repub. Iran., 2019, vol. 33: 3. doi: 10.34171/mjiri.33.3*
13. Girija A.S.S. Acinetobacter baumannii as an oro-dental pathogen: a red alert!! *J. Appl. Oral Sci., 2024, vol. 32: e20230382. doi: 10.1590/1678-7757-2023-0382*
14. Huang Y., Zhou Q., Wang W., Huang Q., Liao J., Li J., Long L., Ju T., Zhang Q., Wang H., Xu H., Tu M. Acinetobacter baumannii Ventilator-Associated Pneumonia: Clinical Efficacy of Combined Antimicrobial Therapy and *in vitro* Drug Sensitivity Test Results. *Front. Pharmacol., 2019, vol. 10: 92. doi: 10.3389/fphar.2019.00092*
15. Ibrahim M.E. Prevalence of Acinetobacter baumannii in Saudi Arabia: risk factors, antimicrobial resistance patterns and mechanisms of carbapenem resistance. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob., 2019, vol. 18: 1. doi: 10.1186/s12941-018-0301-x*
16. Itoh Y., Rice J.D., Goller C., Pannuri A., Taylor J., Meisner J., Beveridge T.J., Preston J.F. 3rd, Romeo T. Roles of pgaABCD genes in synthesis, modification, and export of the Escherichia coli biofilm adhesin poly-beta-1,6-N-acetyl-D-glucosamine. *J. Bacteriol., 2008, vol. 190, no. 10, pp. 3670–3680. doi: 10.1128/JB.01920-07*
17. Kannan K.P., Smiline Girija A.S. Anticandidal effect of cinnamic acid characterized from Cinnamomum cassia bark against the fluconazole resistant strains of Candida. *Braz. J. Microbiol., 2024, vol. 3, pp. 189–234. doi: 10.1007/s42770-024-01469-w*
18. Khanna N., Girija A.S.S., Priyadharsini J.V. Detection of the early putative biofilm marker pgaB among the MDR strains of A. baumannii. *Heliyon, 2024, vol. 10, no. 5: e27020. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e27020*
19. Kropec A., Maira-Litran T., Jefferson K.K., Grout M., Cramton S.E., Götz F., Goldmann D.A., Pier G.B. Poly-N-acetylglucosamine production in Staphylococcus aureus is essential for virulence in murine models of systemic infection. *Infect. Immun., 2005, vol. 73, no. 10, pp. 6868–6876. doi: 10.1128/IAI.73.10.6868-6876.2005*

20. Lee C.R., Lee J.H., Park M., Park K.S., Bae I.K., Kim Y.B., Cha C.J., Jeong B.C., Lee S.H. Biology of Acinetobacter baumannii: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. *Front. Cell. Infect. Microbiol., 2017, vol. 7: 55. doi: 10.3389/fcimb.2017.00055*
21. Li Y.J., Pan C.Z., Fang C.Q., Zhao Z.X., Chen H.L., Guo P.H., Zhao Z.W. Pneumonia caused by extensive drug-resistant Acinetobacter baumannii among hospitalized patients: genetic relationships, risk factors and mortality. *BMC Infect. Dis., 2017, vol. 17, no. 1: 371. doi: 10.1186/s12879-017-2471-0*
22. Naseef Pathoor N., Viswanathan A., Wadhwa G., Ganesh P.S. Understanding the biofilm development of Acinetobacter baumannii and novel strategies to combat infection. *APMIS, 2024, vol. 132, no. 5, pp. 317–335. doi: 10.1111/apm.13399*
23. Nhu N.T.K., Lan N.P.H., Campbell J.I., Parry C.M., Thompson C., Tuyen H.T., Hoang N.V.M., Tam P.T.T., Le V.M., Nga T.V.T., Nhu T.D.H., Van Minh P., Nga N.T.T., Thuy C.T., Dung L.T., Yen N.T.T., Van Hao N., Loan H.T., Yen L.M., Nghia H.D.T., Hien T.T., Thwaites L., Thwaites G., Chau N.V.V., Baker S. Emergence of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii as the major cause of ventilator-associated pneumonia in intensive care unit patients at an infectious disease hospital in southern Vietnam. *J. Med. Microbiol., 2014, vol. 63, no. 10, pp. 1386–1394. doi: 10.1099/jmm.0.076646-0*
24. Rello J., Lipman J. Antibiotic prescription for respiratory tract infections in ventilated patients: where are we heading? *Intensive Care Med., 2013, vol. 39, no. 9, pp. 1644–1646. doi: 10.1007/s00134-013-2983-z*
25. Rosenthal V.D., Maki D.G., Jamulitrat S., Medeiros E.A., Todi S.K., Gomez D.Y., Leblebicioglu H., Abu Khader I., Miranda Novales M.G., Berba R., Ramírez Wong F.M., Barkat A., Pino O.R., Dueñas L., Mitrev Z., Bijie H., Gurskis V., Kanj S.S., Mapp T., Hidalgo R.F., Ben Jaballah N., Raka L., Gikas A., Ahmed A., Thu le T.A., Guzmán Siritt M.E.; INICC Members. International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary for 2003–2008, issued June 2009. *Am. J. Infect. Control, 2010, vol. 38, no. 2, pp. 95–104.e2. doi: 10.1016/j.ajic.2009.12.004*
26. Shelenkov A., Akimkin V., Mikhaylova Y. International Clones of High Risk of Acinetobacter Baumannii-Definitions, History, Properties and Perspectives. *Microorganisms, 2023, vol. 11, no. 8: 2115. doi: 10.3390/microorganisms11082115*
27. Sherif M.M., Elkhatib W.F., Khalaf W.S., Elleboudy N.S., Abdelaziz N.A. Multidrug Resistant Acinetobacter baumannii Biofilms: Evaluation of Phenotypic-Genotypic Association and Susceptibility to Cinnamic and Gallic Acids. *Front. Microbiol., 2021, vol. 12: 716627. doi: 10.3389/fmicb.2021.716627*
28. Suvaithenamudhan S., Ananth S., Mariappan V., Dhayabaran V.V., Parthasarathy S., Ganesh P.S., Shankar E.M. In Silico Evaluation of Bioactive Compounds of Artemisia pallens Targeting the Efflux Protein of Multidrug-Resistant Acinetobacter baumannii (LAC-4 Strain). *Molecules, 2022, vol. 27, no. 16: 5188. doi: 10.3390/molecules27165188*
29. Talbot G.H., Bradley J., Edwards J.E. Jr., Gilbert D., Scheld M., Bartlett J.G.; Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America. Bad bugs need drugs: an update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis., 2006, vol. 42, no. 5, pp. 657–668. doi: 10.1086/499819*
30. Towner K.J. Acinetobacter: an old friend, but a new enemy. *J. Hosp. Infect., 2009, vol. 73, no. 4, pp. 355–363. doi: 10.1016/j.jhin.2009.03.032*
31. Yang C.H., Su P.W., Moi S.H., Chuang L.Y. Biofilm Formation in Acinetobacter Baumannii: Genotype-Phenotype Correlation. *Molecules, 2019, vol. 24, no. 10: 1849. doi: 10.3390/molecules24101849*
32. Yang J., Toyofuku M., Sakai R., Nomura N. Influence of the alginate production on cell-to-cell communication in Pseudomonas aeruginosa PAO1. *Environ. Microbiol. Rep., 2017, vol. 9, no. 3, pp. 239–249. doi: 10.1111/1758-2229.12521*

Авторы:

Суприта М.С., бакалавр стоматологической хирургии, кафедра микробиологии, стоматологический колледж и больница Савита, Институт медицинских и технических наук Савита, г. Ченнай, Тамил Наду, Индия;
Канника Парамешвар К., аспирант, кафедра микробиологии, стоматологический колледж и больницы Савита, Институт медицинских и технических наук Савита, г. Ченнай, Тамил Наду, Индия;
Смилине Гириджа А.С., профессор кафедры микробиологии, стоматологический колледж и больница Савита, Институт медицинских и технических наук Савита, г. Ченнай, Тамил Наду, Индия;
Виджаяшри Приядхарсини Дж., доцент кафедры микробиологии, стоматологический колледж и больница Савита, Институт медицинских и технических наук Савита, г. Ченнай, Тамил Наду, Индия.

Authors:

Supreeta M.S., BDS Student, Department of Microbiology, Saveetha Dental College and Hospitals, Saveetha Institute of Medical and Technical Sciences, Chennai, Tamil Nadu, India;
Kannika Parameshwari K., PhD Student, Department of Microbiology, Saveetha Dental College and Hospitals, Saveetha Institute of Medical and Technical Sciences, Chennai, Tamil Nadu, India;
Smiline Girija A.S., Professor, Department of Microbiology, Saveetha Dental College and Hospitals, Saveetha Institute of Medical and Technical Sciences, Chennai, Tamil Nadu, India;
Vijayashree Priyadharsini J., Associate Professor, Department of Microbiology, Saveetha Dental College and Hospitals, Saveetha Institute of Medical and Technical Sciences, Chennai, Tamil Nadu, India.

Поступила в редакцию 27.09.2024
Отправлена на доработку 10.04.2025
Принята к печати 05.05.2025

Received 27.09.2024
Revision received 10.04.2025
Accepted 05.05.2025

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 543–550

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 543–550

РЕГУЛЯЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА МЕТАБОЛИТАМИ МИКРООРГАНИЗМОВ МНОГОЛЕТНЕМЕРЗЛЫХ ПОРОД ЧЕРЕЗ ЭФФЕКТОРНЫЕ Т-ЛИМФОЦИТЫ

С.А. Петров[1], Ю.Г. Суховей[1], Л.Ф. Каленова[1], Е.Г. Костоломова[2], А.А. Касторнов[1]

[1] ФГБУН ФИЦ Тюменский научный центр СО РАН, г. Тюмень, Россия
[2] ФГБОУ ВО Тюменский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Тюмень, Россия

Резюме. Инфекционные агенты тесно взаимодействовали с иммунной системой человека, приобретая набор очень сложных механизмов для модуляции иммунитета. Одна из стратегий выживания вирусов, бактерий, простейших, гельминтов и грибов — воздействие на регуляторную сеть Т-клеток (Treg: $CD4^+CD25^{hi}CD127^-$), которые контролируют иммунопатогенные реакции при многих инфекциях. Не только патогены, но и комменсалы способны напрямую индуцировать превращение наивных Т-клеток в супрессивные Foxp3-экспрессирующие Treg, в то время как другие активируют ранее существовавшие естественные Treg, в обоих случаях подавляя специфические для патогенов эффекторные реакции. Тем не менее Treg также могут способствовать укреплению иммунитета в определенных условиях, например на начальных стадиях инфекции, когда эффекторные клетки должны получить доступ к месту инфекции, и впоследствии при обеспечении генерации эффекторной памяти. Примечательно, что в настоящее время имеется мало информации о том, являются ли инфекции селективным приводом к патоген-специфическим Treg, и если да, то являются ли эти клетки также реактивными к аутоантигенам. Дальнейший анализ специфичности, наряду с более четкой картиной относительной динамики подмножеств Treg в течение заболевания, должен привести к рациональным стратегиям иммунного вмешательства для оптимизации иммунитета и ликвидации инфекционного процесса. Таким образом, восстановление функции Treg значимо при лечения инфекционных, аутоиммунных и других заболеваний и может служить маркером успешного лечения данных патологий. В статье проведена оценка влияния экзометаболитов бактерий рода *Bacillus* из многолетних мерзлых пород, полученных при разных температурных режимах их культивирования, на активность дифференцировки Treg и эффекторных Т-лимфоцитов. Установлены значимые различия: вторичные экзометаболиты микроорганизмов оказывают влияние на дифференцировку Treg ($CD4^+CD25^{hi}CD127^-$) и экспрессию активационных маркеров (CD69, CD25, HLA-DR) на $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитах. Данное воздействие регулируется видом метаболитов, полученных при различных температурах — «холодовые» (полученные при 5°C инкубации бактерий), «среднетемпературные» (при 22°C) и «тепловые» (при 37°C) метаболиты. При этом повышение уровня Treg ассоции-

Адрес для переписки:
Петров Сергей Анатольевич
625026, Россия, г. Тюмень, ул. Малыгина, 86,
ФГБУН ФИЦ Тюменский научный центр СО РАН.
Тел.: 8 969 804-50-00.
E-mail: tumiki@yandex.ru

Contacts:
Sergei A. Petrov
625026, Russian Federation, Tyumen, Malygina str., 86,
Tyumen Scientific Centre SB RAS.
Phone: +7 969 804-50-00.
E-mail: tumiki@yandex.ru

Для цитирования:
Петров С.А., Суховей Ю.Г., Каленова Л.Ф., Костоломова Е.Г., Касторнов А.А. Регуляция иммунного ответа метаболитами микроорганизмов многолетнемерзлых пород через эффекторные Т-лимфоциты // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 543–550. doi: 10.15789/2220-7619-ROI-17758

Citation:
Petrov S.A., Sukhovey Yu.G., Kalenova L.F., Kostolomova E.G., Kastornov A.A. Regulation of immune response by permafrost microorganism metabolites via effector T-lymphocytes // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 543–550. doi: 10.15789/2220-7619-ROI-17758

Исследования выполнялись в рамках госзадания № 121041600041-0 «Пространственно-временные явления и процессы, происходящие в водах суши Сибири в условиях современного техногенеза и изменения климата» (Приоритетное направление 1.5.11. Программа 1.5.11.1).

The research was carried out within the framework of the state assignment No. 121041600041-0 "Spatio-temporal phenomena and processes occurring in the waters of Siberian land under conditions of modern technogenesis and climate change" (Priority area 1.5.11. Program 1.5.11.1)

© Петров С.А. и соавт., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-ROI-17758

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

руется при влиянии «холодовых» вторичных экзометаболитов со снижением активности дифференцировки $CD4^+$ Т-лимфоцитов, «тепловых» вторичных экзометаболитов — со снижением активности дифференцировки $CD8^+$ Т-лимфоцитов, а «среднетемпературные» метаболиты оказывают примерно равнозначное влияние на активность дифференцировки $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитов.

Ключевые слова: *факторы регуляции дифференцировки лимфоцитов, микроорганизмы многолетнемерзлых пород, вторичные экзометаболиты бактерий рода Bacillus, $CD4^+CD25^{hi}CD127^-$ Treg, CD69, CD25, HLA-DR Т-лимфоциты, температура.*

REGULATION OF IMMUNE RESPONSE BY PERMAFROST MICROORGANISM METABOLITES VIA EFFECTOR T-LYMPHOCYTES

Petrov S.A.[a], Sukhovey Yu.G.[a], Kalenova L.F.[a], Kostolomova E.G.[b], Kastornov A.A.[a]

[a] *Tyumen Scientific Centre SB RAS, Tyumen, Russian Federation*
[b] *Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation*

Abstract. Infectious agents have closely interacted with the human immune system, acquiring a set of highly sophisticated mechanisms for modulating immunity. One of the survival strategies for viruses, bacteria, protozoa, helminths and fungi is to target the regulatory T cell network (Treg: $CD4^+CD25^{hi}CD127^-$) that controls immunopathogenic responses in many infections. Not only pathogens but also commensals are able to directly induce the conversion of naive T cells into suppressive Foxp3-expressing Tregs, while others activate pre-existing natural Tregs, in both cases suppressing pathogen-specific effector responses. However, Tregs can also contribute to immunity under certain conditions, such as at the initial stages of infection when effector cells must gain access to the site of infection, and subsequently in ensuring the generation of effector memory cells. It is noteworthy that currently little information on whether infections selectively drive pathogen-specific Tregs, and if so, whether such cells are also reactive to autoantigens are available. Further analysis of Treg subset specificity, along with a clearer picture of relative dynamics during the disease, should lead to rational strategies of immune intervention to optimize immunity and eliminate the infectious process. Thus, restoration of Treg function is important in the treatment of infectious, autoimmune and other diseases and can serve as a marker of their successful treatment. The article assesses the effect of exometabolites of derived from permafrost *Bacillus* bacteria obtained at different temperature conditions of their cultivation on the activity of Treg and effector T lymphocyte differentiation. Significant differences were established: secondary microbial exometabolites affect Treg ($CD4^+CD25^{hi}CD127^-$) differentiation and expression of activation markers (CD69, CD25, HLA-DR) on $CD4^+$ and $CD8^+$ T lymphocytes. This effect is regulated by the type of metabolites obtained at different temperatures — “cold” (obtained at 5°C of bacterial incubation), “medium-temperature” (at 22°C) and “heat” (at 37°C) metabolites. In this case, an increase in the Treg level is associated with lower differentiation activity of $CD4^+$ T-lymphocytes exposed to “cold” secondary exometabolites, a decrease in the differentiation activity of $CD8^+$ T-lymphocytes treated with “warm” secondary exometabolites, and a roughly equivalent effect on the differentiation activity of $CD4^+$ and $CD8^+$ T-lymphocytes acted upon by “medium-temperature” secondary exometabolites.

Key words: *factors regulating lymphocyte differentiation, permafrost microorganisms, secondary exometabolites of Bacillus bacteria, $CD4^+CD25^{hi}CD127^-$ Treg, CD69, CD25, HLA-DR T-lymphocytes, temperature.*

Введение

Регуляторные Т-клетки имеют фенотип $CD3^+CD4^+CD25^{hi}CD127^-$. Они способны блокировать или подавлять иммунную реактивность *in vivo* и *in vitro*. Различают естественные (nTreg), которые дифференцируются непосредственно в тимусе, и индуцибельные (iTreg) подгруппы Treg. Последние формируются в периферических лимфоидных органах из Т-клеток под влиянием различных факторов, в том числе при контакте с дендритными клетками, макрофагами, цитокинами IL-10 и TGF-β и др. Процесс антигенной активации эффекторных $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитов проявляется последовательной экспрессией на мембране клеток активационных маркеров (CD69, CD25 и HLA-DR). Уровень CD69 повышается через 3–12 часов после активации лимфоцитов, CD25 — в течение 24 часов после стимуляции TCR, а HLA-DR экспрессируется на мембране клеток примерно через 48 часов после активации [8, 19, 21].

Критически важными становятся задачи поиска соединений, избирательно воздействующих на мишень, и разработки подходящего метода их применения при тех или иных заболеваниях [1]. Известны микробные иммуномодуляторы, которые широко применяются в клинике и содержат рибосомально-протеогликановые комплексы и лизаты из наиболее распространенных возбудителей инфекций ЛОР-органов и дыхательных путей. Показано, что введение мышам дикого типа синтетического бактериального липопротеина Pam3Cys SK4 — лиганда TLR2 — приводило к значительному увеличению числа $CD4^+CD25^+$ Treg клеток [20]. Под влиянием V-антигена *Yersinia enterocolitica* активировался TLR2 и усилива-

лась продукция IL-10, что приводило к иммуносупрессии [18]. LPS грамотрицательных бактерий через мишени $CD4^+CD25^+$ Treg клеток реализуют механизм иммуносупрессии — взаимодействие LPS с TLR4 приводит к резкому увеличению иммуносупрессивной способности антиген-неспецифических Treg клеток [7]. Синтетический бактериальный липопротеин Pam3Cys SK4 через мишени $CD4^+CD25^+$ Treg клеток также обладает осуществляет иммуносупрессивное воздействие — взаимодействие Pam3Cys SK4 с TLR2 приводит к увеличению числа $CD4^+CD25^+$ Treg клеток [20].

В последнее время активно проводятся исследования комменсального микробиома человека, в первую очередь в желудочно-кишечном тракте. Комменсальная кишечная микробиота интенсивно взаимодействует с иммунной системой, индуцируя выработку IL-10 Т-клетками и подавляя продукцию IL-17, и, как будет показано далее, способствует дифференциации регуляторных Т-клеток через TLR2 [12]. Комменсалы участвуют в регуляции активности Treg, отчасти и потому, что они образуют биологический континуум (многие комменсалы являются оппортунистическими патогенами), а также из-за общих сигнальных путей и специфических рецепторов, которые участвуют в их распознавании (табл. 1).

В этом плане перспективными для разработки микробных иммуномодулирующих соединений, избирательно воздействующих на дифференциацию регуляторных Т-клеток, и подходящего метода их применения при тех или иных заболеваниях являются микроорганизмы многолетнемерзлых пород (МО ММП). Ранее нами было установлено, что их метаболиты оказывают влияние на дифференцировку моноцитов периферической крови человека *in vitro*, а также продукцию мононуклеарными клетками периферической крови человека TNFα, IL-1β и IL-10 [2, 3, 9, 10, 11]. При этом, в отличии от комменсала (штамма IP5832 *Bacillus cereus*), индукция секреции IL-10 мононуклеарными клетками превышала в 15–20 раз при воздействии экзометаболитов МО ММП. Определение соотношения TNFα/IL-10 и IL-1b/IL-10 показало способность данных экзометаболитов, полученных при 42°C, сдвигать баланс в сторону синтеза противовоспалительных цитокинов.

Цель настоящей работы — оценить влияние экзометаболитов МО ММП, полученных при разных температурных режимах их инкубации, на активность дифференцировки Treg и эффекторных Т-лимфоцитов.

Материалы и методы

В исследовании использованы 2 штамма МО ММП: 875 TS *Bacillus megaterium* и 9-08-CH9 *Bacillus* sp., зарегистрированные в ВКПМ (регистрационные номера 12242 и 12401 соответственно). МО ММП культивировали на ГРМ-агаре. Смыв микроорганизмов в дозе 10^7 микробных клеток в 1 мл физиологического раствора инкубировали 72 ч при 5°C («холодная» температура), 22°C («средняя» температура) и 37°C («теплая» температура). Микробную взвесь пропускали через мембранные фильтры (0,22 мкм; Millipore) и получали 3 вида метаболитов (МБ) — «холодовые» (МБ-Х), «среднетемпературные» (МБ-С) и «тепловые» (МБ-Т).

Мононуклеарные клетки (МНК) человека выделяли из гепаринизированной периферической крови группы 0(Rh+) на градиенте плотности DIACOLL-1077. Кровь получали от трех доноров (мужчины 25–30 лет), давших информированное добровольное согласие на взятие крови и проведение данного исследования. Культивирование МНК прово-

Таблица 1. Влияние комменсальной микробиоты на Treg-клетки
Table 1. Effect of commensal microbiota on Treg cells

Комменсальная микробиота Commensal microbiota	**Цитата** Quote	**Ссылка** Reference
Bacteroides fragilis **(Gram$^-$)**	**Стимулирует продукцию Treg через связывание полисахарида с TLR2** Drives Treg expansion, through PSA binding to TLR2	[16, 17]
Bifidobacterium infantis **(Gram$^+$)**	**Индуцируют Treg, которые опосредованно подавляют воспаление после заражения слизистой *S.* typhimurium** Induction of Tregs, bystander suppression of inflammation following mucosal *S.* typhimurium infection	[15]
Clostridium species **(Gram$^+$)**	**Опосредует индукцию Treg посредством TGF-β, защищает от колита DSS** Mediates Treg induction through TGF-β, protects against DSS colitis	[6]
Helicobacter hepaticus **(Gram$^-$)**	**Tr1-подобные клетки, продуцирующие IL-10, блокируют воспаление кишечника** Tr1-like IL-10-producing cells block gut inflammation	[13]
Streptococcus pneumoniae **(Gram$^+$)**	**$CD8^+CD28^+$ подавляющие Treg, продуцирующие IL-10 и TGF-β** $CD8^+CD28^+$ suppressive Tregs producing IL-10 and TGF-β	[12]

Таблица 2. Активность дифференцировки Т-лимфоцитов в контрольной группе, %

Table 2. T-lymphocyte differentiation activity in the control group, %

Маркеры активации Activation markers	1 сутки 1 day	3 сутки 3 day	7 сутки 7 day
$CD45^+CD3^+CD4^+CD8^-CD69^+$	5,4±0,4	1,9±0,2	0,22±0,03
$CD45^+CD3^+CD4^+CD8^-CD25^+$	2,1±0,2	3,0±0,27	0,5±0,04
$CD45^+CD3^+CD4^+CD8^-HLA\text{-}DR^+$	0	0,7±0,05	3,8±0,3
$CD45^+CD3^+CD4^-CD8^+CD69^+$	6,2±0,54	1,9±0,17	0,38±0,03
$CD45^+CD3^+CD4^-CD8^+CD25^+$	1,9±0,13	5,5±0,48	0,8±0,07
$CD45^+CD3^+CD4^-CD8^+HLA\text{-}DR^+$	0	1,3±0,11	4,1±0,35

дили в полной культуральной среде RPMI-1640 в присутствии 5% CO_2 при 37°C в триплетах в течение 1, 3 и 7 сут. В контрольных пробах к культуре МНК добавляли полную культуральную среду. С учетом исходной пробы МНК получилось 4 контрольные группы (по 9 проб в группе). В опытных группах добавляли соответственно МБ-Х, МБ-С и МБ-Т соответствующего штамма МО. С учетом 2 штаммов МО, 2 типов МБ и 2 временных интервалов культивирования МНК получилось 18 опытных групп (по 6 проб в каждой группе). Содержание (%) регуляторных (Treg, $CD3^+$ $CD4^+CD25^{hi}CD127^-$), хелперных ($CD45^+CD3^+CD4^+CD8^-$) и цитотоксических ($CD45^+CD3^+CD4^-CD8^+$) Т-лимфоцитов с маркерами ранней (CD69), средней (CD25) и поздней (HLA-DR) активации определяли методом проточной цитометрии на цитофлюориметре CytoFLEX (Beckman Coulter, США) в гейте лимфоцитов. Для идентификации лимфоцитов использовали моноклональные антитела Beckman Coulter согласно инструкциям производителя. Результаты обрабатывали в программе Kaluza Analysis (Beckman Coulter, США). В каждом образце анализировали не менее 5×10^5 клеток.

Анализ характера распределения исследуемых показателей соответствовал нормальному, поэтому достоверность различий

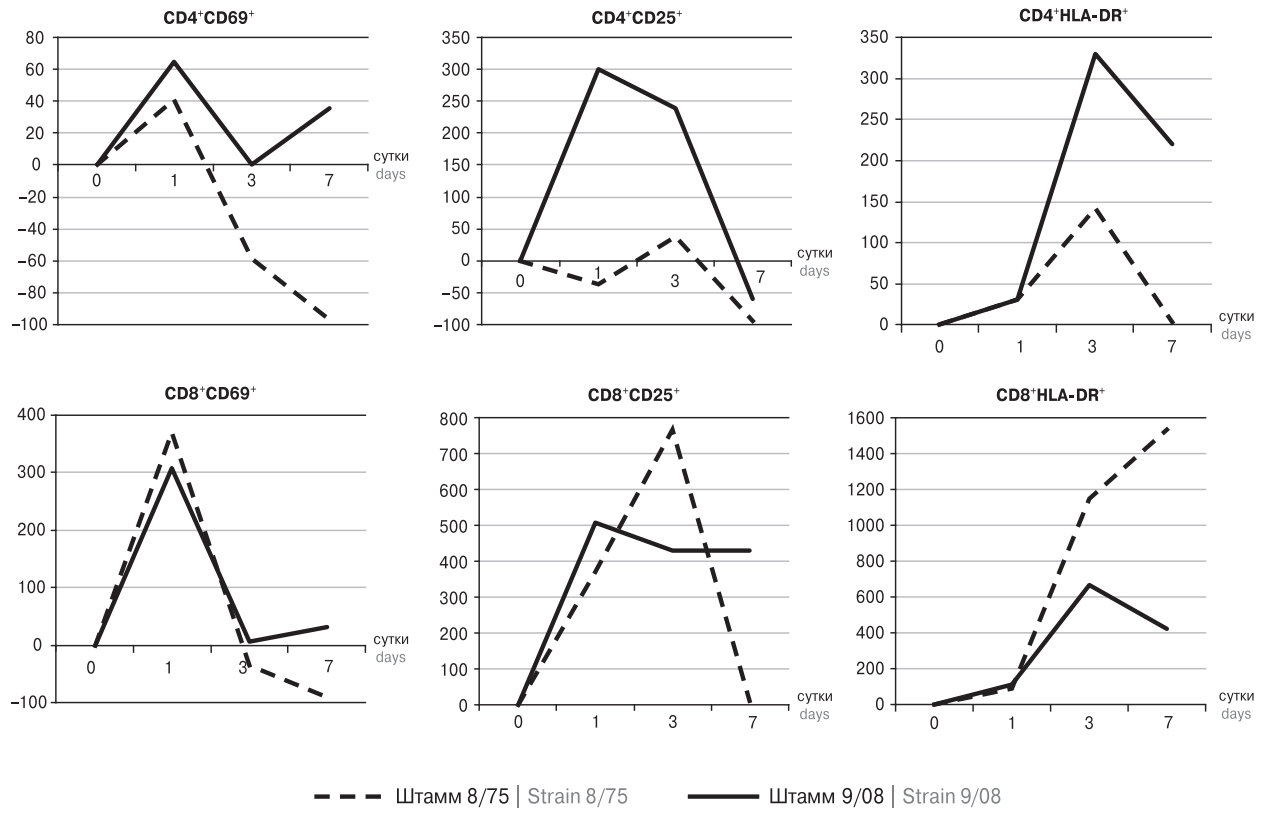


Рисунок 1. Влияние МБ-Х на активность дифференцировки Т-лимфоцитов (в % отличия от контрольного уровня)

Figure 1. Effect of MB-X on the activity of T-lymphocyte differentiation (in % of difference from the control level)

Примечание. Достоверность отличия показателей в опытной группе от контроля: * — $p > 0,05$; ** — $p > 0,01$.

Note. Reliability of the difference in indicators in the experimental group from the control: * — $p > 0.05$; ** — $p > 0.01$.

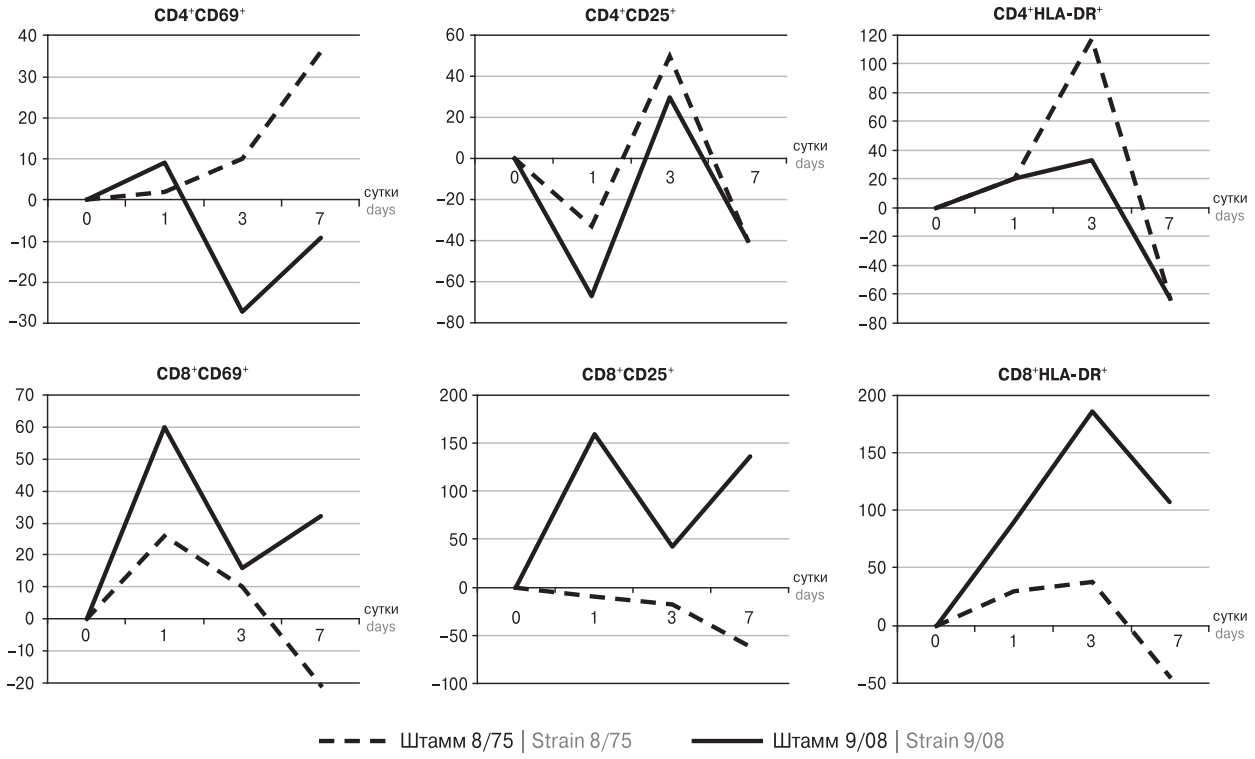


Рисунок 2. Влияние МБ-С на активность дифференцировки Т-лимфоцитов (в % отличия от контрольного уровня)

Figure 2. The effect of MB-S on the activity of T-lymphocyte differentiation (in % of difference from the control level)

Примечание. Достоверность отличия показателей в опытной группе от контроля: * — p > 0,05; ** — p > 0,01.

Note. Reliability of the difference in indicators in the experimental group from the control: * — p > 0.05; ** — p > 0.01.

между группами оценивали по t-критерию Стьюдента в программе SPSS Statistics 21 (IBM). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0.05. Для удобства анализа результаты исследования отражены на рисунках в процентах от контрольного уровня.

Результаты

В контрольных пробах (табл. 2) в динамике культивирования МНК у CD4 и CD8 Т-лимфоцитов происходит смена экспрессии активационных маркеров с CD69 в первые сутки на CD25 на третьи сутки и на HLA-DR с максимумом на седьмые сутки, что согласуется с данными других авторов [19, 21].

МБ-Х разных штаммов МО (рис. 1) оказали разное влияние на активность дифференцировки Т-лимфоцитов по сравнению с контролем. МБ-Х штамма 9-08-СН9 стимулировали экспрессию маркеров средней активации ($CD4^+CD25^+$ и $CD8^+CD25^+$); штамма 875 TS — экспрессию маркеров поздней активации ($CD45^+CD3^+CD4^+CD8^-HLA\text{-}DR^+$ и $CD45^+CD3^+CD4^-CD8^+HLA\text{-}DR^+$). Причем стимулирующее влияние МБ-Х на активность дифференцировки CD8 Т-лимфоцитов оказалось в 2–3 раза выше, чем CD4 Т-лимфоцитов.

МБ-С разных штаммов МО (рис. 2) примерно в равной степени индуцируют активность дифференцировки $CD45^+CD3^+CD4^+CD8^-$ и $CD45^+CD3^+CD4^-CD8^+$ Т-лимфоцитов.

Под влиянием МБ-С штамма 875 TS повысили уровень экспрессии маркеров поздней активации ($CD4^+HLA\text{-}DR^+$), а под влиянием МБ-С штамма 9-08-СН9 значимо возросла экспрессия маркеров средней и поздней активации ($CD8^+CD25^+$ и $CD8^+HLA\text{-}DR^+$).

МБ-Т (рис. 3) штаммов 9-08-СН9 и 875 TS у обоих субпопуляций Т-лимфоцитов достоверно стимулировали экспрессию маркеров ранней, средней и поздней активации.

Уровень Treg ($CD4^+CD25^{hi}CD127^-$) в контрольной группе (табл. 3) был относительно стабилен на протяжении всего срока (7 суток) культивирования МНК.

МБ всех видов в той или иной степени стимулируют дифференцировку Treg на 1–3 сутки культивирования клеток. Так, МБ-Х и МБ-С стимулировали экспрессию $CD4^+CD25^{hi}CD127^-$ на 20–60%, а МБ-Т — на 40–250% относительно контрольного уровня. Выделяется штамм 9-08-СН9, МБ-Т которого в 2–3 раза активнее других штаммов и видов МБ стимулировали дифференцировку Treg.

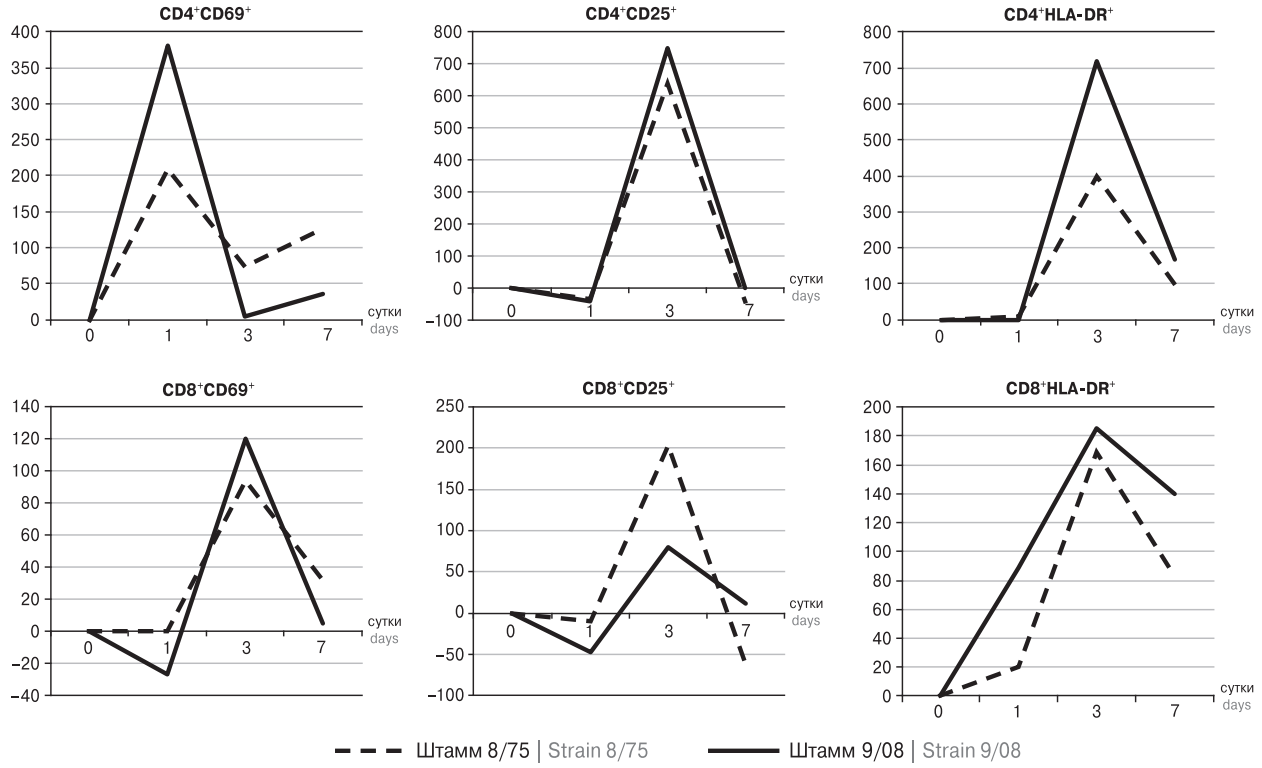


Рисунок 3. Влияние МБ-Т на активность дифференцировки Т-лимфоцитов (в % отличия от контрольного уровня)

Figure 3. The effect of MB-T on the activity of T-lymphocyte differentiation (in % of difference from the control level)

Примечание. Достоверность отличия показателей в опытной группе от контроля: * — p > 0,05; ** — p > 0,01.

Note. Reliability of the difference in indicators in the experimental group from the control: * — p > 0.05; ** — p > 0.01.

Обсуждение

Воздействие на Treg широкого спектра инфекционных организмов неизбежно высветит индивидуальные особенности каждой системы с уникальными нишами, динамикой и молекулярными взаимодействиями. Тем не менее очевидно, что Treg участвуют в исходе почти каждого изучаемого инфекционного эпизода, не обязательно играя центральную роль, но неизменно изменяя масштаб и режим иммунитета. Более того, у многих биологических объектов — от вирусов до червей — их вмешательство имеет решающее значение. В течение длительного эволюционного времени бактерии рода *Bacillus* из обводненных дисперсных пород, перешедших в мерзлое состояние, выработали эффективные и часто изощренные средства выживания в жесткой среде обитания за длительный период времени. Среди многих стратегий, используемых бактериями рода *Bacillus*, использование регуляторного компартмента Т-клеток несомненно является одной из наиболее эффективных.

Таблица 3. Влияние вида МБ на активность дифференцировки Treg, %

Table 3. Effect of MB type on Treg differentiation activity, %

Штаммы Strains	**1 сутки** 1 day	**3 сутки** 3 day	**7 сутки** 7 day
Контроль Control	6,9±0,58	5,4±0,36	6,1±0,47
МБ-Х | MB-X			
875 TS	9,4±0,83**	7,7±0,68**	5,3±0,44
9-08-CH9	5,3±0,38**	12±0,78**	5,5±0,37
МБ-С | MB-S			
875 TS	5,2±0,76*	7,3±0,65**	6,2±0,58
9-08-CH9	9,9±0,75**	6,2±0,48	6,5±0,56
МБ-Т | MB-T			
875 TS	11,8±0,97**	13,3±1,17**	7,5±0,73
9-08-CH9	24,5±1,75**	15,9±1,27**	9,4±0,74**

Примечание. * — достоверность отличия с контролем (* — p > 0,05; ** — p > 0,01).

Note. * — significance of difference with control (* — p > 0.05; ** — p > 0.01).

Тем не менее в перипетиях эволюции коадаптации хозяина и экзометаболитов бактерий рода *Bacillus* развились некоторые удивительные взаимодействия. Ключевое событие в развитии адаптивного иммунного ответа — этапная активация как Т-хелперов/индукторов ($CD45^+CD3^+CD4^+CD8^-$), так и Т-супрессорно-цитотоксических ($CD45^+CD3^+CD4^-CD8^+$) клеток от экспрессии на их клеточной мембране от CD69 в первые сутки к CD25 на третьи сутки и HLA-DR на седьмые сутки с сохранением

иммунорегуляторного индекса (ИРИ) в пределах 0,54–0,92. Увеличение числа HLA-DR-позитивных лимфоцитов может свидетельствовать не только о цитокин-опосредованном запуске процессов дифференцировки и созревания клеток, но также об участии HLA-DR-позитивных лимфоцитов в подавлении гиперактивации иммунной системы [4, 5].

В работе показано, что МБ МО ММП могут оказывать непосредственное влияние на активность дифференцировки регуляторных и эффекторных Т-лимфоцитов. Причем данным эффектом можно управлять, изменяя температурные режимы получения МБ. Под влиянием «холодовых» МБ увеличение численности Treg в большей степени ассоциируется со снижением активности дифференцировки эффекторных Т-лимфоцитов в субпопуляцию $CD45^+CD3^+CD4^+CD8^-$ клеток (в 2–3 раза по сравнению с уровнем активности $CD45^+CD3^+CD4^-CD8^+$ клеток). Под влиянием «тепловых» МБ супрессивная активность Treg в большей степени ассоциируется со снижением активности дифференцировки $CD45^+CD3^+CD4^-CD8^+$ клеток (в 3–4 раза по сравнению с уровнем активности $CD45^+CD3^+CD4^+CD8^-$ клеток). Под влиянием МБ-С Treg оказывали примерно равнозначное влияние на дифференцировку хелперно-индукторных и супрессорно-цитотоксических Т-лимфоцитов. Полученные данные в значительной степени объясняют механизм выявленных нами ранее иммуномодулирующих свойств МО ММП [2, 9, 10, 11].

Список литературы/References

1. Гариб Ф.Ю., Ризопулу А.П. Использование Т-регуляторных клеток хозяина в стратегии иммунной эвазии патогенов (обзор) // Биохимия. 2015. Т. 80, вып. 8. С. 1141–1159. [Garib F.Yu., Rizopulu A.P. T-regulatory cells as part of the strategy of immune evasion by pathogens. *Biokhimiya = Biochemistry (Moscow), 2015, vol. 80, iss. 8, pp. 1141–1159. (In Russ.)*]
2. Литвинова Л.С., Гуцол А.А., Сохоневич Н.А., Кофанова К.А., Хазиахматова О.Г., Шуплецова В.В., Кайгородова Е.В., Гончаров А.Г. Основные поверхностные маркеры функциональной активности Т-лимфоцитов // Медицинская иммунология. 2014. Т. 6, № 1. С. 7–26. [Litvinova L.S., Gutsol A.A., Sokhonevich N.A., Kofanova K.A., Khaziakhmatova O.G., Shupletsova V.V., Kaigorodova E.V., Goncharov A.G. Basic surface markers of functional activity T-lymphocytes. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2014, vol. 6, no. 1, pp. 7–26. (In Russ.)*] *doi: 10.15789/1563-0625-2014-1-7-26*
3. Юрова К.А., Хазиахматова О.Г., Тодосенко Н.М., Литвинова Л.С. Оценка влияния γC-цитокинов (IL-2, IL-7 и IL-15) на экспрессию молекул поздней активации и апоптоза (CD95 И HLA-DR) CD4+/CD8+ Т-лимфоцитами в популяции CD45RA Т-клеток *in vitro* // Иммунология. 2018. Т. 39, № 1. С. 20–25. [Yurova K.A., Khaziakhmatova O.G., Todosenko N.M., Litvinova L.S. Evaluation of the effect of γccytokines (IL-2, IL-7 and IL-15) on expression of the late activation molecules and apoptosis (CD95 and HLA-DR) CD4+/CD8+ T-lymphocytes in a population of CD45RA T cells *in vitro. Immunologiya = Immunologiya, 2018, vol. 39, no. 1, pp. 20–25 (In Russ.)*] *doi: 10.18821/0206-4952-2018-39-1-20-25*
4. Atarashi K., Tanoue T., Shima T., Imaoka A., Kuwahara T., Momose Y., Cheng G., Yamasaki S., Saito T., Ohba Y., Taniguchi T., Takeda K., Hori S., Ivanov I.I., Umesaki Y., Itoh K., Honda K. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous Clostridium species. *Science, 2011, vol. 331, pp. 337–341. doi: 10.1126/science.1198469*
5. Caramalho I., Lopes Carvalho T., Ostler D., Zelenay S., Haury M., Demengeot J. Regulatory T cells selectively express toll like receptors and are activated by lipopolysaccharide. *J. Exp. Med., 2003, vol. 197, pp. 403–411. doi: 10.1084/jem.20021633*
6. Cibrián D., Sánchez-Madrid F. CD69: from activation marker to metabolic gatekeeper. *Eur. J. Immunol., 2017, vol. 47, no. 6, pp. 946–953. doi: 10.1002/eji.201646837*
7. Kalenova L.F., Kolyvanova S.S. Effects of temperature on the ability of metabolites from permafrost microorganisms to activate the synthesis of systemic cytokines by mononuclear cells. *Bull. Exp. Biol. Med., 2019, vol. 168, no. 1, pp. 72–75. doi: 10.1007/s10517-019-04650-6*
8. Kalenova L.F., Petrov S.A., Bazhin A.S. Dose-dependent effect of Bacillus sp. metabolites from permafrost on lymphocyte differentiation in the thymus. *Bull. Exp. Biol. Med., 2020, vol. 169, no. 1, pp. 67–70. doi: 10.1007/s10517-020-04826-5*
9. Kalenova L.F., Petrov S.A., Subbotin A.M., Narushko M.V., Bazhin A.S. Influence of paleobacteria on the proliferative activity of human lymphocytes *in vitro. Bull. Exp. Biol. Med., 2023, vol. 174, no. 6, pp. 758–761. doi: 10.1007/s10517-023-05787-1*
10. Kalenova L.F., Petrov S.A., Sukhovei Yu.G. Reparative and immunomodulatory potential of low-molecular-weight fractions of secondary metabolites of Bacillus sp. *Bull. Exp. Biol. Med., 2022, vol. 172, no. 3, pp. 332–336. doi: 10.1007/s10517-022-05387-5*
11. Kullberg M.C., Jankovic D., Gorelick P.L., Caspar P., Letterio J.J., Cheever A.W., Sher A. Bacteria-triggered CD4(+) T regulatory cells suppress Helicobacter hepaticusinduced colitis. *J. Exp. Med., 2002, vol. 196, pp. 505–515. doi: 10.1084/jem.20020556*
12. Maizels R.M., Smith K.A. Regulatory T cells in infection. *Adv. Immunol., 2011, vol. 112, pp. 73–136. doi: 10.1016/B978-0-12-387827-4.00003-6*
13. Mertens J., Fabri M., Zingarelli A., Kubacki T., Meemboor S., Groneck L., Seeger J., Bessler M., Hafke H., Odenthal M., Bieler J.G., Kalka C., Schneck J.P., Kashkar H., Kalka-Moll W.M. Streptococcus pneumoniae serotype 1 capsular polysaccharide induces CD8CD28 regulatory T lymphocytes by TCR crosslinking. *PLoS Pathog., 2009, vol. 5: e100059. doi: 10.1371/journal.ppat.1000596*
14. O'Mahony C., Scully P., O'Mahony D., Murphy S., O'Brien F., Lyons A., Sherlock G., MacSharry J., Kiely B., Shanahan F., O'Mahony L. Commensal-induced regulatory T cells mediate protection against pathogen-stimulated NF-kB activation. *PLoS Pathog., 2008, vol. 4: e1000112. doi: 10.1371/journal.ppat.1000112*
15. Petrov S.A., Sukhovei Yu.G, Kalenova L.F, Kostolomova E.G, Subbotin A.M, Kastornov A.A. The influence of permafrost microorganisms on monocytes differentiation *in vitro. Bull. Exp. Biol. Med., 2023, vol. 175, no. 3, pp. 362–366. doi: 10.1007/s10517-023-05868-1*

16. Round J.L., Mazmanian S.K. Inducible Foxp3+ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proc. Natl Acad. Sci. USA, 2010, vol. 107, pp. 12204–12209. doi: 10.1073/pnas.0909122107*
17. Round J.L., Lee S.M., Li J., Tran G., Jabri B., Chatila T.A., Mazmanian S.K. The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota. *Science, 2011, vol. 332, pp. 974–977. doi: 10.1126/science.1206095*
18. Sing A., Rost D., Tvardovskaia N., Roggenkamp A., Wiedemann A., Kirschning C.J., Aepfelbacher M., Heesemann J. Yersinia V antigen exploits toll like receptor 2 and CD14 for interleukin 10 mediated immunosuppression. *J. Exp. Med., 2002, vol. 196, pp. 1017–1024. doi: 10.1084/jem.20020908*
19. Shipkova M., Wieland E. Surface markers of lymphocyte activation and markers of cell proliferation. *Clin. Chim. Acta, 2012, vol. 413, no. 17–18, pp. 1338–1349. doi: 10.1016/j.cca.2011.11.006*
20. Sutmuller R.P., Morgan M.E., Netea M.G., Grauer O., Adema G.J. Toll-like receptors on regulatory T cells: expanding immune regulation. *Trends Immunol., 2006, vol. 27, no. 8, pp. 387–393. doi: 10.1016/j.it.2006.06.005*
21. Wieland E., Shipkova M. Lymphocyte surface molecules as immune activation biomarkers. *Clin. Biochem., 2016, vol. 49, no. 4–5, pp. 347–354. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2015.07.099*

Авторы:
Петров С.А., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела биоресурсов криосферы ФГБУН ФИЦ Тюменский научный центр СО РАН, г. Тюмень, Россия;
Суховей Ю.Г., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела биоресурсов криосферы ФГБУН ФИЦ Тюменский научный центр СО РАН, г. Тюмень, Россия;
Каленова Л.Ф., д.б.н., главный научный сотрудник отдела биоресурсов криосферы ФГБУН ФИЦ Тюменский научный центр СО РАН, г. Тюмень, Россия;
Костоломова Е.Г., к.б.н., доцент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО Тюменский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Тюмень, Россия.
Касторнов А.А., младший научный сотрудник отдела биоресурсов криосферы ФГБУН ФИЦ Тюменский научный центр СО РАН, г. Тюмень, Россия.

Authors:
Petrov S.A., DSc (Medicine), Professor, Head Researcher, Department of Cryosphere Bioresources, Tyumen Scientific Centre SB RAS, Tyumen, Russian Federation;
Sukhovey Yu.G., DSc (Medicine), Professor, Head Researcher, Department of Cryosphere Bioresources, Tyumen Scientific Centre SB RAS, Tyumen, Russian Federation;
Kalenova L.F., DSc (Medicine), Head Researcher, Department of Cryosphere Bioresources, Tyumen Scientific Centre SB RAS, Tyumen, Russian Federation;
Kostolomova E.G., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation;
Kastornov A.A., Junior Researcher, Department of Cryosphere Bioresources, Tyumen Scientific Centre SB RAS, Tyumen, Russian Federation.

Поступила в редакцию 14.08.2024
Принята к печати 29.11.2024

Received 14.08.2024
Accepted 29.11.2024

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 551–558

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 551–558

THE INCIDENCE OF BK VIRUS INFECTION IN PATIENTS WITH DYSFUNCTION OF KIDNEY TRANSPLANT

K. Samadi[a], Ye. AzhdaryMoghaddam[b,c], Ab.A. Zeraati[b], S.A.Ak. Khatibi[b], T. Zeraati[b], Ya. Ravanshad[d], Z. Jalambadani[a]

[a] *Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran*
[b] *Mashhad University of Medical sciences, Mashhad Iran*
[c] *Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran*
[d] *Mashhad Branch, Islamic Azad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran*

Abstract. BK virus-induced nephropathy is an important cause of renal dysfunction, leading to the loss of transplanted kidneys in up to 50% of cases. This study aimed to appraise the incidence of BKV infection among patients who have received kidney transplantation in Iran. In this retrospective cross-sectional study, recipients of kidney transplants in Mashhad Montaserieh Hospital with a rise of 25% or higher in serum creatinine after at least one month of transplantation were evaluated. Those with evidence of BKV infection, including positive serum or urine polymerase chain reaction (PCR) were included. Overall, of 471 patients, 135 cases (28.7%) were diagnosed with kidney transplant dysfunction. BKV infection was diagnosed based on positive PCR in 30 patients (22.2%) and BKV nephropathy was present in 11 patients (8.1%). The most common cause of ESRD (End Stage Renal Disease) was hypertension (33.3%) and the most common dialysis method was hemodialysis (90%). 10 patients had hematuria or pyuria. In 11 patients with pathological results, the most common finding was interstitial inflammation with tubular cytopathic changes (4 patients, 36.4%). Blood levels of cyclosporine were significantly correlated with the time from transplantation to diagnosis, and tacrolimus level was significantly correlated with creatinine level at diagnosis ($p < 0.05$). Positive urinalysis was significantly associated with the time from transplantation to the diagnosis of kidney dysfunction in the regression analysis (95%CI: –0.30 to –23.45, $p = 0.045$). The most important predictor of the occurrence of this disorder in kidney transplant patients was the presence of hematuria and pyuria in urine tests. Moreover, the frequency of BK infection was significantly higher in men than in women, while no significant difference was observed between men and women in the control group.

Key words: *BKV infection, renal failure, transplant rejection, transplanted kidney.*

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ВК-ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С ДИСФУНКЦИЕЙ ТРАНСПЛАНТАТА ПОЧКИ

Самади К.[1], АждариМогаддам Е.[2,3], Зераати Аб.А.[2], Хатиби С.А.Ак.[2], Зераати Т.[2], Раваншад Я.[4], Джаламбадани З.[1]

[1] *Сабзеварский университет медицинских наук, г. Сабзевар, Иран*
[2] *Мешхедский университет медицинских наук, г. Мешхед, Иран*
[3] *Захеданский университет медицинских наук, Захедан, Иран*
[4] *Исламский университет медицинских наук Азад, Мешхедский филиал, Мешхед, Иран*

Резюме. Нефропатия, вызванная ВК-вирусом, является важной причиной почечной дисфункции, приводящей к потере трансплантированных почек в 50% случаев. Целью данного исследования была оценка частоты за-

Адрес для переписки:
Зейнаб Джаламбадани
E-mail: jalambadaniz@gmail.com; jalambadaniz@medsab.ac.ir

Contacts:
Zeinab Jalambadani
E-mail: jalambadaniz@gmail.com; jalambadaniz@medsab.ac.ir

Для цитирования:
Самади К., АждариМогаддам Е., Зераати Аб.А., Хатиби С.А.Ак., Зераати Т., Раваншад Я., Джаламбадани З. Заболеваемость ВК-вирусной инфекцией у пациентов с дисфункцией трансплантата почки // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 551–558. doi: 10.15789/2220-7619-TIO-17837

Citation:
Samadi K., AzhdaryMoghaddam Ye., Zeraati Ab.A., Khatibi S.A.Ak., Zeraati T., Ravanshad Ya., Jalambadani Z. The incidence of BK virus infection in patients with dysfunction of kidney transplant // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 551–558. doi: 10.15789/2220-7619-TIO-17837

© Samadi K. et al., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-TIO-17837

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

ражения ВК-вирусом среди пациентов после трансплантации почек в Иране. В настоящем ретроспективном поперечном исследовании реципиенты трансплантатов почек с повышением уровня креатинина сыворотки на 25% или выше по истечении как минимум одного месяца трансплантации были обследованы в больнице Мешхед Монтасериех. Были включены лица с признаками заражения ВК-вирусом, в том числе имеющих положительный результат обследования сыворотки или мочи методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). В целом у 135 из 471 пациента (28,7%) была диагностирована дисфункция трансплантата почки. Инфекция ВК-вирусом была диагностирована на основании положительной ПЦР у 30 пациентов (22,2%), а нефропатия, вызванная ВК-вирусом, обнаружена у 11 пациентов (8,1%). Наиболее частой причиной терминальной стадии хронической почечной недостаточности (ТХПН) была гипертония (33,3%), а наиболее распространенным методом диализа был гемодиализ (90%). У 10 пациентов отмечена гематурия или пиурия. У 11 пациентов с патологическими проявлениями наиболее частой обнаружено интерстициальное воспаление с тубулярными цитопатическими изменениями (4 пациента, 36,4%). Уровень циклоспорина в крови достоверно коррелировал со сроками от проведения трансплантации до постановки диагноза, а уровень такролимуса значительно коррелировал с уровнем креатинина при постановке диагноза ($p < 0,05$). Положительная проба на ВК-вирус в моче была достоверно ассоциирована со сроками от проведения трансплантации до постановки диагноза дисфункции почек с применением регрессионного анализа (95% ДИ: от –0,30 до –23,45, $p = 0,045$). Наиболее важным предиктором возникновения указанного расстройства у пациентов после трансплантации почки было наличие гематурии и пиурии в анализах мочи. Более того, частота заражения ВК-вирусом была достоверно выше у мужчин, чем у женщин, тогда как в контрольной группе подобных межполовых различий не наблюдалось.

Ключевые слова: *ВК-вирусная инфекция, почечная недостаточность, отторжение трансплантата, пересаженная почка.*

Introduction

Most polyomaviruses are broadly distributed in nature. Of all the *Polyomaviridae* family, thirteen species are recognized to contaminate human life [26]. Polyomavirus BK is a small, non-enveloped, circular, double-stranded DNA virus that belongs to this family. BKV is omnipresent among people, and their seroprevalence in adults is from 70% to 90% [7, 22].BKV primarily infects the majority of people in the first decade of existence — the median age being 5 years — and it usually has asymptomatic or upper respiratory symptoms [22]. After subclinical primary infection, BKV remains dormant in various sites, established in the renal tubular and uroepithelial cells, where its periodical reactivation is proven by asymptomatic viruria in 7–15% of healthy individuals and does not have considerable clinical complications [21, 23]. Reactivation of BKV can cause serious clinical consequences only in people with immunodeficiency conditions such as HIV infection, cancer, pregnancy, people undergoing chemotherapy, the use of immunosuppression, and solid organ and bone marrow transplant recipients [3, 24]. BKV infection can cause hemorrhagic and non-hemorrhagic cystitis, ureteric stenosis, tubulointerstitial nephritis, transient renal dysfunction, and BKV nephropathy [24, 29, 33]. Kidney transplantation is a lifesaving operation and an alternative method to life-long dialysis for end-stage renal disease (ESRD) patients [33]. BK-associated nephropathy (BKVAN) is due to BKV reactivation in kidney transplant recipients (KTRs [6]. Studies have demonstrated that BKVAN is related to graft dysfunction in > 90% and graft loss in over 50% of the affected individuals [22]. BKV contamination progresses continuously. Due to tubular BKV replication, viremia occurs several weeks later to precede viruria. BKV replication, which mostly takes place in kidney tissue, results in viremia in 13–22% and viruria in 30–50% of individuals [24, 25, 33]. However, most infections in KTRs occur without clinical features except for a serum creatinine rise. Current recommendations suggest non-invasive screening tests in urine or plasma for early BKV contamination to avoid progression to irreversible structural damage [24, 29, 32]. As viruria precedes viremia, preventing BKAVN by using urine samples as a screening method has been shown in many researches [25]. However, a biopsy of the kidney is a definitive diagnosis of BKVAN [25]. Several studies determined using immunosuppressive regimens such as tacrolimus and cyclosporine one of the most relevant important risk factors for BKV contamination [2, 15, 28]. This study aimed to appraise the incidence of BKV infection among patients who have received kidney transplantation.

Materials and methods

In this cross-sectional study, inclusion criteria were the records of all patients who had undergone kidney transplantation due to severe kidney diseases. The patients with an increased serum creatinine level within at least one month following kidney transplantation initially participated in the study. Transplanted kidney dysfunction was defined as an increase of more than 25% in serum creatinine compared to the previous test. Accordingly, patients diagnosed with transplanted kidney dysfunction, in terms of BKV infection were investigated. To investigate the presence of BKV infection, the results of specialized tests performed for the patient, especially the polymerase chain reaction (PCR) test for BK vi-

rus, were fully reviewed. Finally, patients whose serum PCR test was positive for the BK virus genome were included in the study.

The demographic information, including age and gender, as well as clinical data regarding the kidney disease, including the history and duration of dialysis, the type of dialysis (peritoneal or hemodialysis), the primary etiology of ESRD and dialysis, and finally, the number of transplants. Kidney transplant (unilateral or bilateral), the type of kidney transplant, and the time interval between the referral due to increased creatinine and the kidney transplant procedure of participants were extracted and recorded in the checklist. Initial paraclinical and laboratory information, including serum creatinine level, serum level of drugs, and urine test results (in terms of pyuria and hematuria) were extracted. Investigations related to BKV infection, including the polymerase chain reaction (PCR) test for BK virus, as well as the results of histological and pathological microscopic studies on the biopsy samples of all patients, were extracted as well.

The histopathological investigations encompassed a broad range of findings, including glomerular sclerosis, interstitial fibrosis, tubular atrophy, and the presence of viral inclusion bodies in tubular cells. Immunohistochemistry (IHC) was performed to detect the Simian virus 40 (SV40) antigen, which confirms BK virus infection. The sequential steps in IHC can be summarized as follows: antigen retrieval (AR), addition of primary antibody, application of a secondary antibody that binds the primary antibody, and addition of a detection reagent to localize the primary antibody.

For immunohistochemical detection strategies, antibodies are classified as primary or secondary reagents. Primary antibodies are raised against an antigen of interest and are typically unconjugated (unlabeled). Secondary antibodies are raised against immunoglobulins of the primary antibody species. The secondary antibody is usually conjugated to a linker molecule, such as biotin, that then recruits reporter molecules, or the secondary antibody itself is directly bound to the reporter molecule.

Additionally, the final diagnosis and pathology results regarding BKV infection (positive or negative) were documented.

BK viremia monitoring. A real-time polymerase chain reaction (PCR) test was performed at the central laboratory of the university hospital to detect the presence of the BK virus. The PCR test was made in Iran. The collected samples comprised first-morning stream urine samples or blood. Current clinical investigations define positive BK viremia as a viral load of $\geq 10^3$ copies/ml. Furthermore, histopathological assessments of kidney allograft biopsies conducted at any time post-transplant indicated the presence of BK virus-associated nephropathy (BKVAN), as evidenced by immunohistochemical staining for SV40 documented in 11 patient records. Secondary analyses employed descriptive statistics to evaluate demographic data, clinical features related to kidney disease, associated comorbidities, duration of dialysis, type of dialysis (peritoneal or hemodialysis), causes of the patient's progression to ESRD, whether the transplant was the first or second, donor type, and the time interval between kidney transplantation and the onset of renal dysfunction. Additionally, laboratory values, including hemoglobin, serum creatinine, and drug blood levels, were assessed alongside urine sample analyses (pyuria and hematuria), urine culture results, and CMV-DNA PCR among the designated kidney transplant recipients (KTRs). Serum creatinine levels were documented at baseline, one month, six months, and one-year post-transplant.

Data analysis. SPSS 24 was used for statistical analysis. The Kolmogorov–Smirnov test was used to check the normal distribution of the data. Repeated Measures ANOVA and Wilcoxon tests were used to compare creatinine levels between different time intervals. The Spearman Correlation test was used to check the existence of a correlation between the studied quantitative variables. Linear regression models were used to investigate the correlation between creatinine level at the time of kidney dysfunction diagnosis and the interval between the transplant procedure and the occurrence of transplant kidney dysfunction. The results of linear regression were reported using R square (R2), beta regression coefficient (Beta), standard error (SE), and 95% confidence interval (95%CI). The results of the correlation test were reported using the correlation coefficient (r). The level of significance in all tests was considered equal to 0.05.

Results

Among these 30 patients who were evaluated, the mean age was (42.40±12.47) years old and more than half of them 22 (73.3%) were male. The most prevalent pre-transplant comorbidity among patients was hypertension (n = 15.50%). Hypertension (hypertensive nephropathy) was the most frequent cause of ESRD as an indication for transplantation (25% of cases). The mean time between transplantation and diagnosis was 15.58±15.30 months. The mean duration on dialysis before transplant was 2.85±2.30 years and the most common dialysis method was hemodialysis. 86.7% of cases were transplanted for the first time. Transplants from deceased donors were more common than living donors. All recipients had positive serum BKV PCR and 56.7% of recipients experienced CMV viremia. Tacrolimus treatments were administered more frequently than other immunosuppressive treatments.

Biopsy records of 11 patients were available. Interstitial inflammation with tubular cytopath-

Table 1. Demographic and clinical characteristics, laboratory and histopathological findings

Variable	M±SD
Mean age at diagnosis (years)±SD	42.40±12.47
Male	22 (73.3%)
Female	8 (26.7%)
Pre-transplant comorbidities	**Frequency**
Hypertension, n (%)	15 (50%)
Diabetes, n (%)	9 (30%)
Ischemic heart disease, n (%)	1 (33%)
Systemic lupus erythematosus, n (%)	1 (33%)
Hypothyroidism, n (%)	1 (33%)
Renal agenesis, n (%)	1 (33%)
Nephrectomy of the patient's kidney, n (%)	1 (33%)
Liver transplant, n (%)	1 (33%)
Hepatitis B, n (%)	1 (33%)
Cause of ESRD	
hypertension (hypertensive nephropathy)	5 (25%)
chronic glomerulonephritis	4 (20%)
ADPKD	3 (15%)
urinary reflux	2 (10%)
antibiotic toxicity	1 (5%)
nephrectomy due to RCC	1 (5%)
chronic kidney disease (CKD)	1 (5%)
lupus nephropathy	1 (5%)
membranous glomerulonephritis (MGN)	1 (5%)
primary hypertension	1 (5%)
Dialysis data	
mean time between transplantation and diagnosis	15.58±15.30 months
mean duration on dialysis prior to transplant	2.85±2.30 years
Dialysis method	
hemodialysis	25 (89.3%)
peritoneal dialysis	3 (10.7%)
Transplantation	
first time	26 (86.7%)
second time	4 (13.3%)
Donor type	
deceased donors	23 (76.7%)
living donors	7 (23.3%)
Laboratory findings	
number of BKV genome in PCR (million copies)	3.82 ±0.18
number of CMV genome in PCR (million copies)	4.39 ±1.07
hematuria or pyuria in US	10 (33%)

Note. ADPK: Autosomal dominant polycystic kidney, RCC: Renal Cell Carcinoma, US: Urine sample, ATN: Acute tubular necrosis, GN: Glomerulonephritis, MGN: membranous glomerulonephritis, TIN: tubulointerstitial nephritis.

Table 2. Mean time until AKI diagnosis posttransplant

	Mean time until AKI diagnosis posttransplant
Urinalysis (pyuria or hematuria)	SE = 14.43, R2 = 0.0109 Beta = 0.376, p = 0.045 95%CI = –0.30 to –23.45

ic changes was the most common biopsy finding. Demographic and clinical characteristics and laboratory and histopathological findings are summarized in Table 1. Hematuria or pyuria was detected in 10 cases, and we developed a linear regression model among these cases ($p = 0.045$) (Table 2).

The mean average level of creatinine increase measured at baseline compared to one month, six months, and one-year posttransplant showed an increase of more than 25%. The analysis of serum creatinine levels between four different timelines showed that a rise in creatinine levels, 25% or more than the baseline, were significantly different at one month and six months post-transplant ($p < 0.05$), but its difference with one year after transplantation was not significant ($p = 0.263$) (Table 3).

The mean duration on dialysis before transplant had a significant correlation with the amount of tubular atrophy, interstitial infiltration, and blood level of cyclosporine ($p < 0.05$). we also found that the higher the cyclosporin blood level, the earlier patients with BKV infection develop renal dysfunction (rising creatinine level) ($p < 0.05$) (Table 4).

There was also a significant but inverse correlation between the blood level of cyclosporine and the time elapsed since kidney transplantation, suggesting that the higher the cyclosporin blood level, the more patients with BKV infection develop renal dysfunction and elevated serum creatinine in a shorter period than those who receive a kidney transplant (Table 4).

Discussion

The findings of this study may not be accurately compared with similar studies. The incidence of BKV infection in the present study was 22.2%

Table 3. The increase in serum creatinine levels (mg/dl)

Time after transplant	mean±sd	The amount (percentage) of the difference with the baseline	P value**
Posttransplant	2.53±1.09		
1 month	1.57±0.30	0.96 (61.1%)	< 0.001
6 months	1.73±0.67	0.80 (46.2%)	0.004
1 year	1.83±0.83	0.70 (38.2%)	0.263
P value*	0.204		

Note. * Repeated Measures ANOVA test was used for comparison.
** Wilcoxon test was used for comparison.

Table 4. Correlations between quantitative variables in this study

	Serum Tacrolimus level	Serum Cyclosporine level	Tubular atrophy	Interstitial inflammation
Mean duration on dialysis prior to transplant		r = 0.820 p = 0.046	r = 0.902 p < 0.001	r = 0.951 p = 0.001
The time between KT and renal dysfunction		r = 0.764 p = 0.046		
Serum creatinine level at baseline	r = 0.465 p = 0.039			

Note. KT: Kidney transplant.

among KTRs diagnosed with AKI which is similar to a systematic review of several geographical zones in Iran that KTRs had a BKV infection rate of 23%. although Jamshidi et al.'s study was conducted in the same geographic region as our study, northeastern Iran, the prevalence of polyomavirus infection among all KTRs was 4.7% [19] in line with our study, Cobo et al. research showed 36.36% of KTRs had positive urine sampling for BKV [7] contrary to present results, some previous studies also reported a lower rate of BKV contamination among KTRs [2, 23]. The disparity between the studies can be explained by the difference in their sampled target populations. A study from Iraq published in 2016 found that only 2.8% of KTRs tested positive for BKV virus in their serum using a conventional PCR method. However, serum samples in KTRs with a rise in creatinine (AKI) were not evaluated separately [27]. Peshgagi et al. published a study in 2012 in which 31 kidney transplant recipients were tested for BKV and JC infection, two types of polyomaviruses. According to the findings, 29% of patients had positive PCR results for BKV while 16% had decoy cells. Even though the prevalence of BK virus infection was high, they did not observe changes in kidney biopsy results revealing BKVAN [30]. We found a lower PCR positivity percentage in our study, compared to this study, which can be explained by the different types of samples collected (urine and serum).

In the present study, we established that the average duration from the detection of BKV positivity to diagnosis is 16 months following transplantation. In contrast, Ghafari et al. conducted a study in Iran that indicated a longer average duration of 23 months for BKV nephropathy post-transplant. This notable difference is attributed to the variability in study methodologies; our research included all patients with positive PCR results, while Ghafari et al. focused solely on cases supported by immunohistochemical evidence. Furthermore, existing literature on adult patients consistently shows that the average time to BKV viremia detection can range from 1.5 months to one year after kidney transplantation [10, 11, 12, 14, 23, 39]. In a study conducted by Favi et al., it was found that over half of the cases were diagnosed with BKV viremia at an average of three months after transplantation. Following this, a monthly follow-up was carried out during the first six months after the transplant, according to the guidelines set by the Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) [10]. In other studies conducted on pediatric patients, BKV infection has been detected between 3 and 11 months post-transplantation. Notably, in a prospective cohort study involving pediatric patients, Hymes et al. found that the average time until the detection of BKV viremia was 90 months [18]. In the present study, all 30 recipients had BKV viral loads exceeding 10 000 copies/mL, and all tested positive for BKV on PCR. Close monitoring of BKV viral load and creatinine levels is crucial for patients who develop BKV nephropathy (BKVN). Although no definitive cutoff for viral load has been established that is strongly associated with BKV nephropathy, some researchers suggest that BKVN may be preceded by viral loads greater than 4 log copies/mL. In the present study, all 30 recipients had BKV viral loads exceeding 10 000 copies/mL, and all tested positive for BKV on PCR. Close monitoring of BKV viral load and creatinine levels is crucial for patients who develop BKV nephropathy (BKVN). Although no definitive cut-off for viral load has been established that is strongly associated with BKV nephropathy, some researchers suggest that BKVN may be preceded by viral loads greater than 4 log copies/mL [2, 16, 23]. We also found hematuria or pyuria in the urine sample in one-third of patients, which interestingly had a significant correlation with the duration of occurrence of renal dysfunction (AKI) posttransplant. In other words, renal dysfunction was found earlier in patients who had hematuria or pyuria. CMV-DNA PCR was positive in 56.7%. Previous reports demonstrated various ranges of CMV positivity among KTRs [7, 9, 26, 38]. Several studies reported that CMV, one of the viral infections accompanying BKV infection, has been noted as a risk factor for BKV infection [2, 5, 8, 29]. According to biopsy data, the most common histopathology features were interstitial inflammation with tubular cytopathic changes in four patients. acute renal rejection was confirmed in 3 patients. Based on several studies, due to morphological similarities between early BKVAN and other diagnoses such as acute rejection, light microscopy alone cannot be used as a definite diagnosis of BKVAN. Therefore, a biopsy examination must be performed [9, 16].

In the study published by Ghafari Moghadam et al. in Urmia, northwest Iran, 160 KTRs underwent kidney biopsy examination. The average age of the patients was about 35 years, which was similar to the present study. We observed a similar ratio among our cases with positive pathology presenting BKVAN. Although considering that in this study we investigated the frequency of BKVAN among patients with AKI diagnosis after kidney transplant, not all transplant patients, it can be argued the Urmia study report appears relatively high.

Our study showed higher cyclosporin level is relatable with earlier kidney dysfunction. A few studies have demonstrated that cyclosporin may present a higher risk of BK virus infection than other immunosuppressive therapies [31, 33]. Although many studies reported tacrolimus was one of the main risk factors of post-transplant BKV infection [14, 16, 20]. The first sign of kidney damage in patients with renal dysfunction is usually an increase in serum creatinine levels change in serum creatinine value compared to previously measured values was used to select patients for this study.

Limitations

We are aware of our study limitations, such as the lack of essential data to determine the status of BKV infection in several patients. Accordingly, an accurate estimation of the prevalence seemed difficult to achieve. Furthermore, the retrospective nature of the study, hindered the investigation of the infection amongst the study population using more specific diagnostic tests. For example, in the case of immunohistochemistry, we used a monoclonal antibody against SV40 antigen, which has a cross-reaction with SV40 and JC viruses and is not specific to BKV.

Conclusion

In conclusion, the present findings reveal that the frequency of BKV infection among kidney transplant recipients diagnosed with acute kidney injury (AKI) at our center stands at 22%. The key predictor for this condition in kidney transplant patients is the presence of hematuria and pyuria in urine tests. Furthermore, we observed a significantly higher incidence of BK infection in men compared to women, while no significant differences were found between genders in the control group.

Ethical approval

This research followed the tenets of the Declaration of Helsinki. The study protocols were approved by the institutional ethical committee at Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran (IR.MUMS.MEDICAL.REC.1398.481). Accordingly, all the patients were informed about the research, and consent was taken from them before any intervention.

Acknowledgments

We want to thank the Clinical Development Research Center, the Deputy of Research and Technology of Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran. We also want to thank the Deputy of Research and Technology of Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

References

1. Ahlenstiel-Grunow T., Pape L. Diagnostics, treatment, and immune response in BK polyomavirus infection after pediatric kidney transplantation. *Pediatr. Nephrol., 2020, vol. 35, no. 3, pp. 417–428. doi: 10.1007/s00467-018-4164-3*
2. Avcı B., Baskın E., Gülleroğlu K., Ecevit Z., Soy E.A., Moray G., Haberal M. BK Polyomavirus Infection and Risk Factors in Pediatric Patients Undergoing Kidney Transplant. *Exp. Clin. Transplant., 2022, vol. 20, no. 5, suppl. 3, pp. 105–110. doi: 10.6002/ect.PediatricSymp2022.O34*
3. Barraclough K.A., Isbel N.M., Staatz C.E., Johnson D.W. BK virus in kidney transplant recipients: the influence of immunosuppression. *J. Transplant., 2011, vol. 2011: 750836. doi: 10.1155/2011/750836*
4. Bechert C.J., Schnadig V.J., Payne D.A., Dong J. Monitoring of BK viral load in renal allograft recipients by real-time PCR assays. *Am. J. Clin. Pathol., 2010, vol. 133, no. 2, pp. 242–250. doi: 10.1309/AJCP63VDFCKCRUUL*
5. Blazquez-Navarro A., Dang-Heine C., Wittenbrink N., Bauer C., Wolk K., Sabat R., Westhoff T.H., Sawitzki B., Reinke P., Thomusch O. BKV, CMV, and EBV interactions and their effect on graft function one year post-renal transplantation: results from a large multi-centre study. *EBioMedicine, 2018, vol. 34, pp. 113–123. doi: 10.1016/j.ebiom.2018.07.017*
6. Borriello M., Ingrosso D., Perna A.F., Lombardi A., Maggi P., Altucci L., Caraglia M. BK virus infection and BK-Virus-Associated nephropathy in renal transplant recipients. *Genes (Basel)., 2022, vol. 13, no. 7: 1290. doi: 10.3390/genes13071290*
7. Cobos M., Aquilia L., Garay E., Ochiuzzi S., Alvarez S., Flores D., Raimondi C. Epidemiologic study and genotyping of BK virus in renal transplant recipients. *Transplant. Proc., 2018, vol. 50, no. 2, pp. 482–487. doi: 10.1016/j.transproceed.2017.12.044*
8. Demey B., Tinez C., Francois C., Helle F., Choukroun G., Duverlie G., Castelain S., Brochot E. Risk factors for BK virus viremia and nephropathy after kidney transplantation: a systematic review. *J. Clin. Virol., 2018, vol. 104, pp. 56–68. doi: 10.1016/j.jcv.2018.10.002*
9. Durairaj J., Follonier O.M., Leuzinger K., Alexander L.T., Wilhelm M., Pereira J., Hillenbrand C.A., Weissbach F.H., Schwede T., Hirsch H.H. Structural implications of BK polyomavirus sequence variations in the major viral capsid protein Vp1 and large T-antigen: a computational study. *mSphere, 2024, vol. 9, no. 4: e00799-23. doi: 10.1128/msphere.00799-23*
10. Favi E., Puliatti C., Sivaprakasam R., Ferraresso M., Ambrogi F., Delbue S., Gervasi F., Salzillo I., Raison N., Cacciola R. Incidence, risk factors, and outcome of BK polyomavirus infection after kidney transplantation. *World J. Clin. Cases, 2019, vol. 7, no. 3, pp. 270–284. doi: 10.12998/wjcc.v7.i3.270*

11. Fortun J., Martin-Davila P., Pascual J., Cervera C., Moreno A., Gavalda J., Aguado J., Pereira P., Gurguí M., Carratala J. Immunosuppressive therapy and infection after kidney transplantation. *Transpl. Infect. Dis., 2010, vol. 12, no. 5, pp. 397–405. doi: 10.1111/j.1399-3062.2010.00526.x*
12. Geddes C., Gunson R., Mazonakis E., Wan R., Thomson L., Clancy M., Carman W. BK viremia surveillance after kidney transplant: Single-center experience during a change from cyclosporine-to lower-dose tacrolimus-based primary immunosuppression regimen. *Transpl. Infect. Dis., 2011, vol. 13, no. 1, pp. 70–77. doi: 10.1111/j.1399-3062.2010.00566.x*
13. Govind S., Fritzsche M., Jenkins A., Cleveland M.H., Vallone P.M., Almond N., Morris C., Berry N. Deep sequencing and molecular characterisation of BK virus and JC virus WHO international reference materials for clinical diagnostic use. *J. Am. Soc. Nephrol., 2023, vol. 34, no. 1, pp. 45–57. doi: 10.1681/ASN.0000000000000457*
14. Gras J., Le Flécher A., Dupont A., Vérine J., Amara A., Delaugerre C., Molina J.M., Peraldi M.N. Characteristics, risk factors and outcome of BKV nephropathy in kidney transplant recipients: a case-control study. *BMC Infect. Dis., 2023, vol. 23, no. 1: 8043. doi: 10.1186/s12879-023-08043-z*
15. Hässig A., Roos M., Etter A., Bossart W., Müller N., Schiesser M., Wüthrich R.P., Fehr T. Association of BK viremia with human leukocyte antigen mismatches and acute rejection, but not with type of calcineurin inhibitor. *Transpl. Infect. Dis., 2014, vol. 16, no. 1, pp. 68–77. doi: 10.1111/tid.12153*
16. Hirsch H., Babel N., Comoli P., Friman V., Ginevri F., Jardine A., Lautenschlager I., Legendre C., Midtvedt K., Muñoz P. ESCMID Study Group of Infection in Compromised Hosts. European perspective on human polyomavirus infection, replication and disease in solid organ transplantation. *Clin. Microbiol. Infect., 2014, vol. 20, suppl. 7, pp. 77–86. doi: 10.1111/1469-0691.12538*
17. Hirsch H.H., Mengel M., Kamar N. BK polyomavirus consensus. *J. Am. Soc. Nephrol., 2022, vol. 33, no. 7, pp. 1234–1245. doi: 10.1681/ASN.0000000000000457*
18. Helle F., Aubry A., Morel V., Descamps V., Demey B., Brochot E. Neutralizing Antibodies Targeting BK Polyomavirus: Clinical Importance and Therapeutic Potential for Kidney Transplant Recipients. *J. Am. Soc. Nephrol., 2024, vol. 35, no. 4, pp. 789–800. doi: 10.1681/ASN.0000000000000457*
19. Jamshidi S.T., Sajjadian K., Emadzadeh M., Afsharian M.S., Kalantari M.R., Alenabi A., Zeraati A.A., Emadzadeh A. Polyomavirus Associated Nephropathy: Frequency and Graft Survival Analysis in Northeast of Iran. *Iran. J. Pathol., 2021, vol. 16, no. 2, pp. 203–210. doi: 10.30699/ijp.2021.128489.2403*
20. Kant S., Dasgupta A., Bagnasco S., Brennan D.C. BK Virus Nephropathy in Kidney Transplantation: A State-of-the-Art Review. *Viruses, 2022, vol. 14, no. 8: 1616. doi: 10.3390/v14081616*
21. Kotla S.K., Kadambi P.V., Hendricks A.R., Rojas R. BK polyomavirus — pathogen, paradigm and puzzle. *Nephrol. Dial. Transplant., 2021, vol. 36, no. 1, pp. 16–23. doi: 10.1093/ndt/gfz273*
22. Komorniczak M., Król E., Lizakowski S., Dębska-Ślizień A. Screening for Polyomavirus Viruria Like Early Detection of Human Polyomavirus Infection and Replication: The Results of a Single-Center Observation. *Transplant. Proc., 2022, vol. 54, no. 3, pp. 239–244. doi: 10.1016/j.transproceed.2022.02.039*
23. Lorant C., Westman G., Bergqvist A., von Zur-Mühlen B., Eriksson B.-M. Risk Factors for Developing BK Virus-Associated Nephropathy: a single-center retrospective cohort study of kidney transplant recipients. *Ann. Transplant., 2022, vol. 27: e934738. doi: 10.12659/AOT.934738*
24. Malekshahi S.S., Soleimanjahi H., Dorostkar F., Salimi V., Farahmand M. Survey of BK Virus in Renal Transplant Recipients in Iran: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Iran. J. Kidney Dis., 2021, vol. 15, no. 1, pp. 1–13. doi: 10.1159/000512132*
25. McGann K., DeWolfe D., Jacobs M., Wojciechowski D., Pavlakis M., Tan C.S. Comparing Urine and Blood Screening Methods to Detect BK Virus After Renal Transplant. *Exp. Clin. Transplant., 2019, vol. 17, no. 2, pp. 229–234. doi: 10.6002/ect.2019.0295*
26. Moens U., Calvignac-Spencer S., Lauber C., Ramqvist T., Feltkamp M.C., Daugherty M.D., Verschoor E.J., Ehlers B., Consortium I.R. Evolution of the BK polyomavirus: epidemiological, clinical and molecular aspects. *J. Gen. Virol., 2017, vol. 98, no. 9, pp. 2110–2124. doi: 10.1099/jgv.0.000839*
27. Mohammad T.S., Dawood D.S. Detection of polyomavirus BK and JC in kidney transplant recipients. *Iraqi J. Nephrol. Sci., 2016, vol. 29, no. 2, pp. 59–65. doi: 10.58897/injns.v29i2.259*
28. Moura E.B., Petzhold S.V., Amaral A.R., Deboni L.M., França P.H.D. Evaluation of the predisposition and clinical impact of BK virus replication in kidney transplant patients. *Ann. Acad. Bras. Cienc., 2017, vol. 89, no. 1, pp. 553–563. doi: 10.1590/0001-3765201720160470*
29. Myint T.M., Chong C.H., Wyld M., Nankivell B., Kable K., Wong G. Polyoma BK virus in kidney transplant recipients: screening, monitoring, and management. *Transplantation, 2022, vol. 106, no. 7, pp. 1401–1412. doi: 10.1097/TP.0000000000003801*
30. Pezeshgi A., Ghods A., Keivani H., Asgari M., Shatty M. Incidence of BK virus nephropathy (BKVN) in renal transplant recipients. *Urol. J., 2012, vol. 9, no. 2, pp. 482–486.*
31. Pieloch D. Kidney Transplantation. *Adv. Exp. Med. Biol., 2020, vol. 1234, pp. 187–202. doi: 10.1007/978-3-030-44858-5_18*
32. Prezioso C., Pietropaolo V. BK polyomavirus infection: epidemiology, molecular and clinical features, and diagnostic and therapeutic approaches. *Viruses, 2021, vol. 13, no. 5: 733. doi: 10.3390/v13050733*
33. Pullerits K., Garland S., Rengarajan S., Guiver M., Chinnadurai R., Middleton R.J., Chukwu C.A., Kalra P.A. Kidney Transplant-Associated Viral Infection Rates and Outcomes in a Single-Centre Cohort. *Viruses, 2022, vol. 14, no. 11: 2406. doi: 10.3390/v14112406*
34. Qeska D., Wong R.B.K., Famure O., Li Y., Pang H., Liang X.Y., Zhu M.P., Husain S., Kim S.J. Incidence, risk factors, outcomes, and clinical management of BK viremia in the modern era of kidney transplantation. *Transpl. Infect. Dis., 2022, vol. 24, no. 6: e13915. doi: 10.1111/tid.13915*
35. Randhawa P. Clinical correlates of glomerular infection by polyomavirus BK. *Kidney Int., 2018, vol. 94, no. 4, pp. 681–683. doi: 10.1016/j.kint.2018.07.013*
36. Santoveña A.Z., Meseguer C.G., Mejía S.M., Melgar Á.A., Camblor C.F., Hijosa M.M., Carrión A.P., Román L.E. BK virus infection in pediatric renal transplantation. *Transplant. Proc., 2015, vol. 47, no. 1, pp. 99–102. doi: 10.1016/j.transproceed.2014.11.020*

37. Sawinski D., Goral S. BK virus infection: an update on diagnosis and treatment. *Nephrol. Dial. Transplant., 2015, vol. 30, no. 2, pp. 209–217. doi: 10.1093/ndt/gfu023*
38. Schwarz A., Gwinner W., Hiss M., Radermacher J., Mengel M., Haller H. Safety and adequacy of renal transplant protocol biopsies. *Am. J. Transplant., 2005, vol. 5, no. 8, pp. 1992–1996. doi: 10.1111/j.1600-6143.2005.00988.x*
39. Shanmugham S., Bhadauria D., Agrawal V., Jain M., Yaccha M., Kaul A., Vamsidhar V., Meyappan J., Prasad N. The diagnostic and therapeutic dilemma of the co-existence of BK virus nephropathy with acute rejection-an experience from a single Centre and review of the literature. *Transpl. Immunol., 2022, vol. 72: 101581. doi: 10.1016/j.trim.2022.101581*
40. Sharma S.G., Nickeleit V., Herlitz L.C., de Gonzalez A.K., Stokes M.B., Singh H.K., Markowitz G.S., D'Agati V.D. BK polyoma virus nephropathy in the native kidney. *Nephrol. Dial. Transplant., 2013, vol. 28, no. 7, pp. 1729–1734. doi: 10.1093/ndt/gfs537*

Авторы:

Самади К., ассистент кафедры внутренней медицины (нефрология), медицинский факультет, Сабзеварский университет медицинских наук, г. Сабзевар, Иран;
АждариМогаддам Е., студент, Студенческий исследовательский комитет, Медицинский факультет, Мешхедский университет медицинских наук, г. Мешхед, Иран; Преподаватель, Захеданский университет медицинских наук, г. Захедан, Иран;
Зераати Аб.А., профессор нефрологии, Исследовательский центр осложнений трансплантации почки, Мешхедский университет медицинских наук, г. Мешхед, Иран;
Хатиби С.А.Ак., студент, Студенческий исследовательский комитет, Медицинский факультет, Мешхедский университет медицинских наук, Мешхед, Иран;
Зераати Т., врач-терапевт, Мешхедский университет медицинских наук, г. Мешхед, Иран;
Раваншад Я., доцент кафедры общественной медицины, Мешхедский филиал, Исламский университет медицинских наук Азад, г. Мешхед, Иран;
Джаламбадани З., доцент кафедры общественной медицины (санитарное просвещение и пропаганда здорового образа жизни), Медицинский факультет, Сабзеварский университет медицинских наук, г. Сабзевар, Иран; доцент кафедры санитарного просвещения и пропаганды здорового образа жизни, Исследовательский центр неинфекционных заболеваний, Сабзеварский университет медицинских наук, г. Сабзевар, Иран.

Authors:

Samadi K., Assistant Professor of Nephrology, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran;
AzhdaryMoghaddam Ye., Medical Student, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran; Faculty Member, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran;
Zeraati Ab.A., Professor of Nephrology, Kidney Transplantation Complications Research Center, Mashhad University of Medical sciences, Mashhad Iran;
Khatibi S.A.Ak., Medical Student, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran;
Zeraati T., General Physician, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran;
Ravanshad Ya., Assistant Professor of Community Medicine, Department of Community Medicine, Mashhad Branch, Islamic Azad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran;
Jalambadani Z., Assistant Professor of Health Education and Promotion, Department of Community Medicine, Faculty of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran; Assistant Professor of Health Education and Promotion, Non-Communicable Diseases Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran.

Поступила в редакцию 16.12.2024
Отправлена на доработку 20.01.2025
Принята к печати 25.03.2025

Received 16.12.2024
Revision received 20.01.2025
Accepted 25.03.2025

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 559–567

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 559–567

DEVELOPMENT OF A REAL-TIME RT-PCR ASSAY FOR DETECTION OF HENDRA AND NIPAH VIRUSES

S.A. Shirobokova[a], A.V. Shabalina[a], I.S. Sukhikh[a], V.A. Chayeb[a], A.S. Dolgova[a], V.G. Dedkov[a,b]

[a] *St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation*
[b] *Martsinovsky Institute of Medical Parasitology, Tropical and Vector-Borne Diseases, Moscow, Russian Federation*

Abstract. The article is devoted to the development of a method for detection of viral RNA of two highly pathogenic zoonotic viruses from the genus *Henipavirus* — Hendra and Nipah using real-time reverse transcription polymerase chain reaction. In the natural environment, these viruses are carried by flying foxes in the family *Pteropodidae*. Horses and pigs, respectively, are susceptible to infection. The diseases are also transmitted to humans through contact with sick animals, their biological excreta and from person to person. In infected humans and animals, clinical signs of infection may be asymptomatic, or may present with flu-like symptoms at the onset of the disease and progress to neurologic disease and acute respiratory infection, followed by death. In Australia, the subunit vaccine HeV-sG is used against Hendra virus in horses. There is no treatment or vaccine for Hendra or Nipah viruses for humans. The need to develop new detection methods and search for new viral targets remains an urgent task due to the large area of distribution of the described viruses, high contagiousness and mortality of animals and humans. The study describes the original designed primers and probes for conserved regions of the genomes of two viruses: the gene encoding the nucleocapsid protein of Hendra virus and the gene encoding the glycoprotein of Nipah virus. Synthetic controls for the extraction and reverse transcription PCR stages have been created, confirming the quality of the developed method. Biological samples from healthy people (blood plasma, swabs from oral and nasopharyngeal mucous membranes, cerebrospinal fluid) with the addition of artificial controls passed the stages of sample extraction and real-time reverse transcription PCR, thus confirming the quality of control samples. The detection limit of the described viral RNA identification methods was determined as 100 copies/mL for Hendra virus and 1000 copies/mL for Nipah virus. The amplification transit time is less than 90 minutes. The developed method will help in epidemiologic control of the spread of these infections, can be used in the diagnosis of Hendra and Nipah viruses and for solving research tasks to study the properties of these pathogens.

Key words: *RT-qPCR, TaqMan probes, Hendra virus, Nipah virus, Henipavirus, diagnostics.*

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ОТ-ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ВИРУСОВ ХЕНДРА И НИПАХ

Широбокова С.А.[1], Шабалина А.В.[1], Сухих И.С.[1], Шайеб В.А.[1], Долгова А.С.[1], Дедков В.Г.[1,2]

[1] *ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *Институт медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского, Москва, Россия*

Резюме. Статья посвящена разработке способа обнаружения вирусной РНК двух высокопатогенных зоонозных вирусов из рода *Henipavirus* — Хендра и Нипах с помощью полимеразной цепной реакции с обрат-

Адрес для переписки:
Широбокова Светлана Алексеевна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 904 642-33-44. E-mail: schirobokova.s@gmail.com

Contacts:
Svetlana A. Shirobokova
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 904 642-33-44. E-mail: schirobokova.s@gmail.com

Для цитирования:
Широбокова С.А., Шабалина А.В., Сухих И.С., Шайеб В.А., Долгова А.С., Дедков В.Г. Разработка метода ОТ-ПЦР в режиме реального времени для обнаружения вирусов Хендра и Нипах // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 559–567. doi: 10.15789/2220-7619-DOA-17840

Citation:
Shirobokova S.A., Shabalina A.V., Sukhikh I.S., Chayeb V.A., Dolgova A.S., Dedkov V.G. Development of a real-time RT-PCR assay for detection of Hendra and Nipah viruses // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 559–567. doi: 10.15789/2220-7619-DOA-17840

The study was supported by the «Sanitary Shield» Russian federal governmental program (Project ID: 122080900001-9).

© Shirobokova S.A. et al., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-DOA-17840

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

ной транскрипцией в реальном времени. В естественной среде эти вирусы переносятся летучими лисицами из семейства *Pteropodidae*. Заражению подвержены лошади и свиньи соответственно. Заболевания также передаются человеку через контакт с больными животными, их биологическими выделениями и от человека к человеку. У инфицированных людей и животных клинические признаки инфекции могут протекать бессимптомно, либо проявляющимися гриппоподобными симптомами на начальном этапе болезни и переходящие в неврологические заболевания и острую респираторную инфекцию с последующим летальным исходом. На сегодняшний день не разработано лечение против этих инфекций. Изученную субъединичную вакцину HeV-sG (Equivac®HeV, Zoetis Australia Pty Ltd.) используют в Австралии для лошадей против инфекции Хендра. Однако эта вакцина не используется для людей, и в настоящее время нет коммерчески доступных вакцин против вируса Нипах ни для человека, ни для животных. Необходимость разработки новых методов детекции и поиск новых вирусных мишеней по-прежнему остаются актуальным задачами в связи с большим ареалом распространения описанных вирусов, высокой контагиозностью и смертностью животных и людей. В исследовании описываются оригинальные разработанные праймеры и зонды на консервативные регионы геномов двух вирусов: гена, кодирующего нуклеокапсидный белок вируса Хендра и гена, кодирующего гликопротеин вируса Нипах. Созданы синтетические контроли прохождения этапов экстракции проб и постановки ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени, подтверждающие качество разработанного метода. Биологические образцы от здоровых людей (плазма крови, мазки со слизистых рото- и носоглотки, спинномозговая жидкость) с добавлением искусственных контролей проходили этапы выделения и постановку ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени, тем самым подтверждая качество контрольных образцов. Предел обнаружения описанных способов идентификации вирусной РНК определен как 100 копий/мл для вируса Хендра и 1000 копий/мл для вируса Нипах. Время прохождения амплификации составляет менее 90 минут. Разработанный способ поможет в эпидемиологическом контроле по распространениям данных инфекций, может применяться в диагностике вирусов Хендра и Нипах и для решения научно-исследовательских задач по изучению свойств данных патогенов.

Ключевые слова: *RT-qPCR, TaqMan probes, Hendra virus, Nipah virus, Henipavirus, diagnostics.*

Introduction

The *Henipavirus hendraense* (HeV) and *Henipavirus nipahense* (NiV) viruses belong to the family *Paramyxoviridae*, subfamily *Paramyxovirinae* [27]. The genus *Henipavirus* includes three species non-pathogenic to humans *(H. cedarense, H. ghanaense, H. angavokelyense)* and two highly pathogenic species *(H. hendraense, H. nipahense)* [16]. HeV and NiV are enveloped single-stranded, negative-sense RNA viruses. The genomes are represented by six genes encoding the main structural proteins, located in the following order from the 3' end: nucleocapsid protein (N); phosphoprotein (P); matrix protein (M); fusion protein (F); glycoprotein (G); and large protein (RNA polymerase (L)) [12]. The Hendra virus genome is 18 243 nucleotides in length [11], with several genotypes: HeV-g1 (discovered in 1994) and HeV-g2 (described in 2013) [2, 36]. There are several Nipah strains: the Malaysia strain (described in 1999) and the Bangladesh strain (identified in 2001) [19]. The genome sizes of these Nipah strains vary and are approximately 18 246 and 18 252 nucleotides, respectively [7, 29].

The natural hosts of the Hendra and Nipah viruses in nature are fruit bats belonging to the genus *Pteropus*, family *Pteropodidae*. The distribution area of these animals is wide: the east coast of Africa, the Indian subcontinent, Southeast Asia, north to Okinawa and south to Australia [11]. The viruses are transmitted to humans, in most cases, through intermediate hosts. For NiV, the intermediate host is pigs. For HeV, it is horses. NiV can be transmitted from bats to humans and from humans to humans. HeV is transmitted from bats to horses and from horses to humans through direct contact with the excreta of infected horses. Human-to-human transmission of HeV has not yet been recorded [12].

Outbreaks of Hendra virus have been recorded in northeastern Australia since 1994. To date, 105 cases of equine infection with Hendra virus are known, 88 of which have been fatal. Another 20 fatal cases remain with an unconfirmed diagnosis, but with symptoms similar to HeV infection [6]. Among humans during the same period of viral circulation, seven people were infected. Four died, and three recovered, albeit with various complications [6, 21, 23, 40]. The case fatality rates in horses and humans are approximately 80% and 60%, respectively [6, 40].

The main Nipah virus outbreak regions are Malaysia (43%), Bangladesh (42%), and India (15%) [31]. Since 2001, outbreaks have been registered in Bangladesh and nearby regions almost annually. According to the WHO, the last epidemiological cases in Bangladesh were recorded on January 30 and February 7, 2024 [4, 22, 25]. Nipah virus is apparently transmitted through direct contact with contaminated tissues/body fluids of infected pigs.

The incubation period of Nipah encephalitis ranges from 4 to 45 days [34, 38], while Hendra encephalitis averages 3 to 16 days, both in horses and

humans [40]. The main target organs of these viruses are the brain, lungs, heart, kidneys, and spleen [31]. Initial flu-like symptoms, fever, headache, and drowsiness very quickly develop into an encephalitis syndrome, including neurological symptoms [33].

As of 2022, the most studied vaccine against Hendra infection is the HeV-sG subunit vaccine (Equivac®HeV, Zoetis Australia Pty Ltd.) based on soluble recombinant glycoprotein HeV [15, 28]. However, this vaccine is not used for humans, and there are currently no commercially available vaccines against Nipah virus.

The development of effective and affordable methods for diagnosing infections caused by Hendra and Nipah viruses is relevant and important for several reasons. These include: poor knowledge of their viral pathogenesis; their highly contagious nature; and the large area of distribution involved (hosts, vectors, cases, etc.). Existing isothermal detection methods, such as LAMP, RPA, and NASBA, are inferior in sensitivity to classic RT-PCR methods [17, 18, 24, 32]. Variants of the latter aimed at detecting HeV and NiV have only been described in a few articles [8, 14, 20, 30, 37]. This study describes the development and evaluation of one-step real-time RT-PCR assays with original primers and probes for Hendra and Nipah virus detection.

Materials and methods

Identification of conserved genomic regions. Complete viral genomic sequences (19 Hendra, 83 Nipah) were aligned to identify conserved sites. Alignment was performed using the MEGA v.11 program (Oxford University, Great Britain). Figure 1 shows alignments of selected genomic segments of all Hendra virus isolates and 20 Nipah virus isolates, collected from different locations and in different years. A conserved region of the gene (RNA sequence) encoding nucleocapsid protein N was chosen as the target for oligonucleotide primers and a probe for Hendra virus. The gene encoding glycoprotein G was chosen for Nipah virus.

PCR control samples. The control sample set is similar to that already described [9, 13]. It includes internal extraction control (IC), armored RNA control (ARC), negative control of extraction (NEC), and PCR controls (C+, C–). To create DNA and RNA controls, fragments corresponding to target regions in the respective viral genomes (160 bp HeV, 174 bp NiV) were synthesized *de novo* by the previously described two-step PCR method [3] from the primers listed in Table 1.

Primer and probe design. Primer and probe sequences were by synthesized by Genterra (Moscow, Russia) as listed in Table 2. Primer melting temperature was estimated using the Integrated DNA Technologies OligoAnalyzer software (https://www.idtdna.com/calc/analyzer). Virus-specific probes were covalently modified with adducts: the fluorescent reporter dye rhodamine 6G (R6G) at the 5' end; and black hole quencher (BHQ1) at the 3' end. FAM was used as a fluorophore at the 5' end of the internal control, and BHQ1 was used as a quencher at the 3' end.

Reaction mixture and amplification conditions. Reactions were carried out in a volume of 25 µL including: 1 µl of BioMaster Mix (Biolabmix, Russia), 12.5 µl 2X reaction buffer (Biolabmix, Russia), and 1.5 µl specific primer and probe mixture. Forward and reverse primer concentrations were 10.5 pmol/µl for all three amplicon types (HeV, NiV, IC). Probe concentrations were 7.5 pmol/µl. Ten microliters of sample were used, and reactions were brought to 25 µL with H_2O (Milli-Q, Merck Millipore, USA). Reactions were performed using the "CFX96 C1000 Touch" (Bio-Rad, USA). The amplification conditions are listed in Tables 3 and 4.

Limit of detection. Limit of detection (LOD) values were determined using a series of 10-fold dilutions of armored RNA particles (same as armored ARC) at known concentrations. Concentrations were measured by droplet digital PCR (ddPCR). The concentrations used to determine the detection limit were 10^6, 10^5, 10^4, 10^3, 10^2, and 10 copies of armored RNA particles per mL (20 000–0.2 copies/reaction, respectively). Samples from each dilution (100 µL) were extracted in triplicate using the RIBO-prep kit (AmpliSens®, Russia) according to manufacturer instructions (elution volume 60 µL), followed by testing in the developed HeV and NiV Amp RT-PCR methods.

Analytical specificity. Analytical specificity was tested on a panel of samples (viral RNA/DNA) representing heterologous viral strains, as obtained from the St. Petersburg Pasteur Institute collection (Table 5)

Samples with added armored RNA control. Due to a lack of available clinical samples containing HeV and NiV viruses, three types of biological samples with the addition of armored genetic constructs (ARC) were used in the study. These were blood plasma samples, mucosal swabs (nasopharyngeal or oropharyngeal), and cerebrospinal fluid (CSF) samples obtained from healthy individuals. The same biologcal samples were also used as negative controls without the addition of artificial sequences. There were 25 samples in each biological group with three replicates. The average value of three replicates was used for analysis. The results are presented in Table 6.

Results

New primers and probes for identification of HeV and NiV viruses were developed based on the analyzed sequences of viral isolates from the GenBank database. In addition to definition of amplification

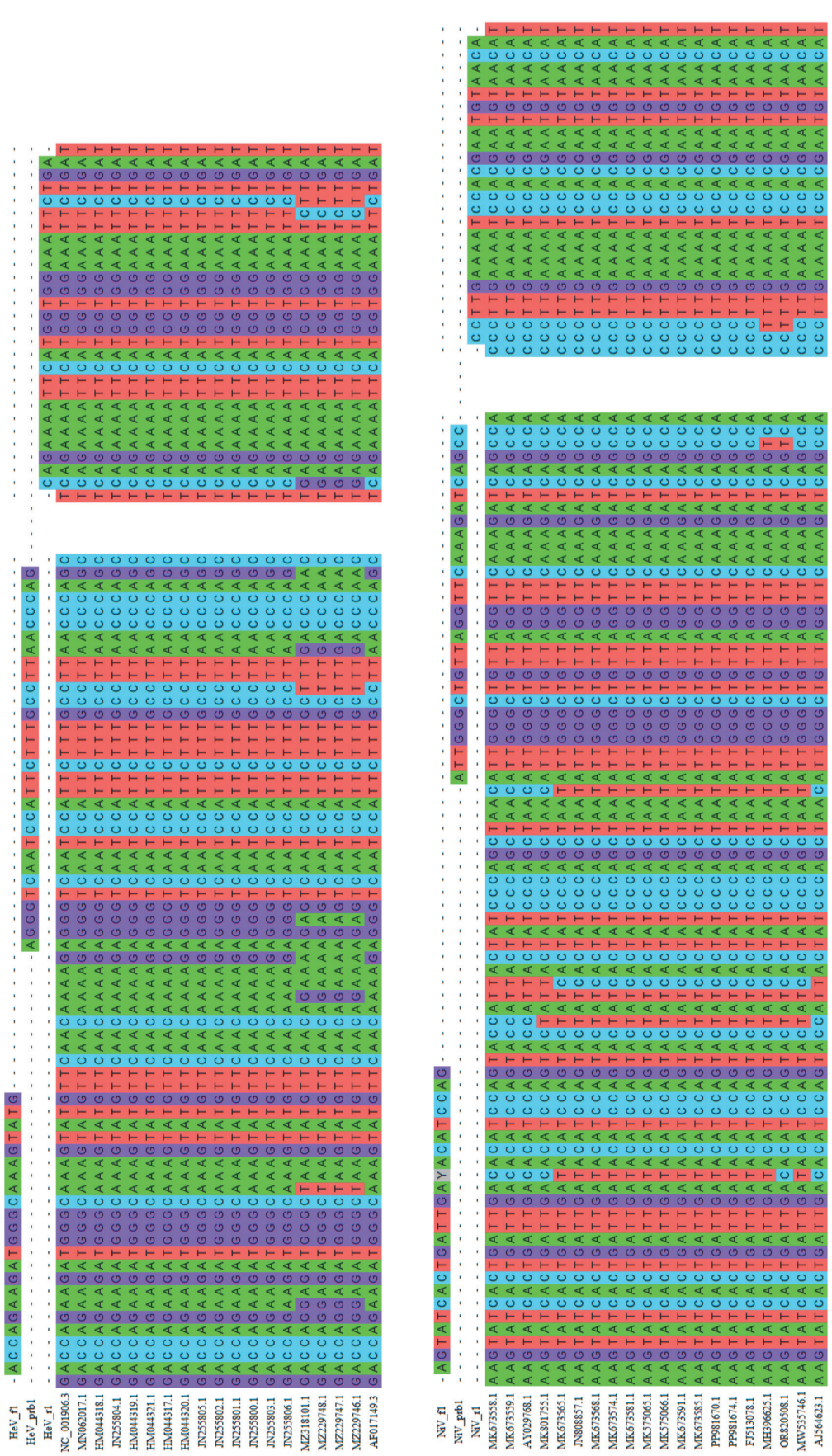


Figure 1. Alignment of target region nucleotide sequences

Note. A. Alignment of the Henipavirus hendraense N gene segment with isolates of this virus with GenBank accession numbers: NC_001906.3 — Hendra virus reference genome (no information about collection date); MN062017.1 — Australia, 1994; HM044318.1 — Australia, 2006; JN255804.1; HM044319.1; HM044321.1 — Australia, 2007; HM044317.1; HM044320.1; JN255805.1 — Australia, 2008; JN255802.1; JN255801.1; JN255800.1; JN255803.1; JN255806.1 — Australia, 2009; MZ318101.1 — Australia, 2015; MZ229748.1; MZ229747.1; MZ229746.1 — Australia, 2020; AF017149.3 (no information about place/date of sample collection). Primers and probe: HeV_f1, HeV_r1, HeV_prb1. B. Alignment of the Henipavirus nipahense G gene segment with isolates of this virus with GenBank accession numbers: MK673558.1; MK673559.1 — Malaysia (no information about collection date); MK801755.1 — Cambodia, 2003; MK673565.1 — Bangladesh, 2004; JN808857.1 — Bangladesh, 2008; MK673568.1; MK673574.1 — Bangladesh, 2011; MK673581.1 — Bangladesh, 2012; MK575065.1; MK575066.1 — Bangladesh, 2013; MK673591.1 — Bangladesh, 2014; MK673585.1 — Bangladesh, 2015; PP981670.1 — Bangladesh, 2020; PP981674.1 — Bangladesh, 2022; FJ513078.1 — India, 2007; MH396625.1 — India, 2018; OR820508.1 — India, 2023; MW535746.1 — Thailand, 2017; AJ564623.1 (no information about place/date of sample collection). Primers and probe: NiV_f1, NiV_r1, NiV_prb1

Table 1. Oligonucleotide sequences for *de novo* cDNA synthesis by two-step PCR

Name	Sequence (5'→3')	Fragment size, bp
HeV_1	AGGAAAGTGAGACCAGAAGATGGGCAAAGTATGTTCAACAAAAGAGGGTC	160
HeV_2	TGTCAGCCATTGCTGGGTTAAGGCAAAGAATGGATTGACCCTCTTTTGTTGAACATACTT	
HeV_3	ACCCAGCAATGGCTGACAGAGATGAGGAATCTCCTCTCACAAAGTCTCTCAGTCAGAAAA	
HeV_4	TTCTTTACCTCCATCAGAATTTCCACCATGAATTTTCTGACTGAGAGACTTTGTG	
NiV_1	AGGGCCCAAAGTATCACTGATTGACACATCCAGTACCATTACTATCCCAGCTAACAT	174
NiV_2	TGCAGTCGACTGGCTGATCTTTGAACCTAACAGCCCAATGTTAGCTGGGATAGTAATGGT	
NiV_3	TCAGCCAGTCGACTGCAAGTATAAATGAGAATGTGAATGAAAAATGCAAATTCACACTGC	
NiV_4	GGACAAGAAATGTTACATTCGTGGATTTTCAAGGGAGGCAGTGTGAATTTGCATTTTTCA	

Table 2. Primers and probes used in the study

Primer/ probe	Sequence 5'→3'	Modifications 5'→3'	Gene target	Probe type	Length	Amplified fragment size, bp
NiV_f1	AGT ATC ACT GAT TGA YAC ATC CAG	–	Attachment G glycoprotein gene	–	24	155
NiV_r1	TGT TAC ATT CGT GGA TTT TCA AGG	–		–	24	
NiV_prb1	ATT GGG CTG TTA GGT TCA AAG ATC AGC C	R6g — BHQ1		TaqMan	28	
HeV_f1	ACC AGA AGA TGG GCA AAG TAT G	–	Nucleocapsid (N) protein gene	–	22	133
HeV_r1	TCA GAA TTT CCA CCA TGA ATT TTC TG	–		–	26	
HeV_prb1	AGG GTC AAT CCA TTC TTT GCC TTA ACC CAG	R6g — BHQ1		TaqMan	30	
IC_f	CCG GAT TGC GTA TCT CCG GAC T	–	Artificial target	–	22	122
IC_r	CAC GGC GGC ATC TCT ATC ACG A	–		–	22	
IC_prb	TAG CTG GGC GTC AGG AAT CCC AGG	FAM — BHQ1		TaqMan	24	

Table 3. Hendra virus RNA amplification conditions

Step	Temperature, °C	Time	The number of cycles
Reverse transcription	50	15 min	1
Pre-denaturation	95	5 min	1
Denaturation	95	10 sec	40
Primer elongation and annealing + detection	55	30 sec	

Table 4. Nipah virus RNA amplification conditions

Step	Temperature, °C	Time	The number of cycles
Reverse transcription	50	15 min	1
Pre-denaturation	95	5 min	1
Denaturation	95	10 sec	40
Primer elongation and annealing + detection	60	20 sec	

Table 5. Viruses used in the assay to evaluate the analytical specificity of the method

Virus	Family	Genus	Nucleic acid type
Human parainfluenza virus type 3	*Paramyxoviridae*	*Respirovirus*	RNA
Influenza A virus (A/Puerto Rico/8/34 (H1N1))	*Orthomyxoviridae*	*Alphainfluenzavirus*	RNA
Influenza B virus (B/Florida/04/06)	*Orthomyxoviridae*	*Betainfluenzavirus*	RNA
Human adenovirus type 5	*Adenoviridae*	*Mastadenovirus*	DNA
Human rhinovirus type 1	*Picornaviridae*	*Enterovirus*	RNA
Tick-borne encephalitis virus	*Flaviviridae*	*Flavivirus*	RNA
Rabies virus	*Rhabdoviridae*	*Lyssavirus*	RNA
Measles virus	*Paramyxoviridae*	*Morbillivirus*	RNA
Human respiratory syncytial virus	*Pneumoviridae*	*Orthopneumovirus*	RNA
SARS-CoV-2	*Coronaviridae*	*Betacoronavirus*	RNA
Human coronavirus OC43	*Coronaviridae*	*Betacoronavirus*	RNA

Table 6. Average Ct values (three replicates) for three biological sample types with addition of HeV ARC and NiV ARC

	HeV	NiV		HeV	NiV		HeV	NiV
Sample name	**Ct indicator**		**Sample name**	**Ct indicator**		**Sample name**	**Ct indicator**	
blood 1	33.6	30.1	**swab 1**	31.7	29.2	**CSF 1**	32.9	29.1
blood 2	33.8	30	**swab 2**	31.6	29.9	**CSF 2**	34	30.1
blood 3	32.9	30.1	**swab 3**	31.7	31.1	**CSF 3**	33.1	31.4
blood 4	33.9	29.4	**swab 4**	31.7	29.2	**CSF 4**	34.3	29.6
blood 5	33.8	30	**swab 5**	31.7	29.2	**CSF 5**	33.5	31.1
blood 6	33.2	30	**swab 6**	31.6	29.2	**CSF 6**	33.5	31.2
blood 7	33.4	30.1	**swab 7**	31.7	31.3	**CSF 7**	33.6	31.3
blood 8	33.8	30	**swab 8**	31.8	29.7	**CSF 8**	34	29.1
blood 9	32.8	29.9	**swab 9**	31.5	29.2	**CSF 9**	33.6	29.5
blood 10	32.4	30.1	**swab 10**	32	29.3	**CSF 10**	33.5	30.8
blood 11	32.4	30	**swab 11**	31.8	29.2	**CSF 11**	32.9	29.1
blood 12	33.3	30	**swab 12**	32.2	29	**CSF 12**	32.5	29.2
blood 13	33.9	30	**swab 13**	31.7	29.1	**CSF 13**	33.7	29.8
blood 14	32.7	29.5	**swab 14**	30.9	29.2	**CSF 14**	32.3	30.1
blood 15	33.6	30.1	**swab 15**	31.8	29	**CSF 15**	34.1	29.4
blood 16	34	30.1	**swab 16**	31.2	30.1	**CSF 16**	33.2	30.2
blood 17	34	29.5	**swab 17**	31.1	29.3	**CSF 17**	33.4	29.5
blood 18	32.4	30.2	**swab 18**	30.6	29.3	**CSF 18**	33.7	29.3
blood 19	32.9	29.9	**swab 19**	31.3	29.7	**CSF 19**	34.1	29.8
blood 20	32.5	29.5	**swab 20**	32.1	29.2	**CSF 20**	33.9	29.2
blood 21	32.5	29.8	**swab 21**	31.1	29.2	**CSF 21**	33	29.3
blood 22	32.6	30.7	**swab 22**	31.5	31	**CSF 22**	33.9	29.9
blood 23	32.6	29.9	**swab 23**	31.6	29.2	**CSF 23**	32.1	29.9
blood 24	33.3	30.3	**swab 24**	31.8	29.2	**CSF 24**	33.4	30
blood 25	33.4	29.4	**swab 25**	31.1	31	**CSF 25**	32.4	29.6

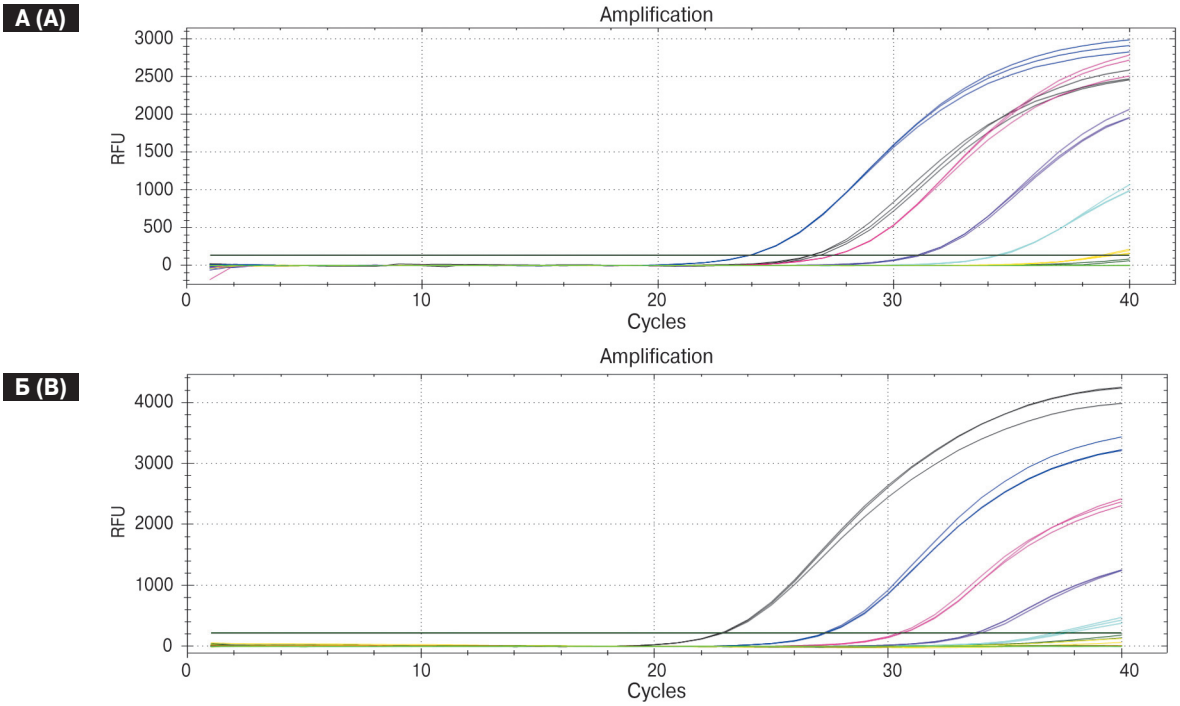


Figure 2. HEX fluorescence curves of Hendra (A) and Nipah (B) virus control samples

Note. Samples: black — C+, dark blue — ARC 10^6 copies/mL, pink — ARC 10^5 copies/mL, violet — ARC 10^4 copies/mL, blue — ARC 10^3 copies/mL, yellow — ARC 10^2 copies/mL. The ARC 10 copies/mL, negative control, and C — samples are negative. A plate type instrument, CFX96 C1000 Touch (Bio-Rad, USA), was used.

protocols, positive (ARC, C+) and negative (NEC, C–) controls were used at each stage of the study. These confirm the reliability of the obtained data.

Limit of detection (LOD) assessed using ARC dilutions was measured as the minimum dilution found in all replicates. Values were 1×10^2 RNA copies/mL and 1×10^3 RNA copies/mL for Hendra and Nipah virus, respectively (Table 7, Fig. 2).

Threshold (Ct) values for biological samples with the addition of ARC are presented in Table 6. The obtained results are within the LOD ranges for the corresponding virus. These data indicate: good reproducibility of the method; efficient ARC recovery during co-extraction and amplification with biological samples; and suitable sensitivity of the developed approach for the detection of viral RNA. The potential for cross-reactivity was assessed using RNA/DNA from 11 viral species (Table 5). None of them showed a positive reaction with the HeV or NiV real-time RT-PCR assays. The evaluated analytical specificity was 100% (data not shown).

Table 7. Threshold cycle values (Ct) of the HEX/yellow channel (ARC dilution) for the HeV and NiV virus protocols calculated from three replicates

Concentration, copies/ml	HeV replicates	NiV replicates
	Ct	Ct
10^6	24.3	27.8
10^5	28.3	31.1
10^4	31.5	34.3
10^3	35.1	37.7
10^2	39.3	N/A
10	N/A	N/A

Discussion

Hendra and Nipah viruses are zoonotic pathogens characterized by high pathogenicity and mortality, both in animals and humans [39]. Both viruses are classified as containment level 4 (CL4) pathogens. Moreover, NiV infection is currently included in the World Health Organization (WHO) list of priority diseases [1]. Episodic outbreaks of disease caused by HeV and NiV require highly sensitive diagnostic tools to effectively identify infected individuals and prevent further viral spread.

Proper selection of the target for molecular detection is an important factor in diagnostic tool development. Both sensitivity and specificity of the system depend on it. Viral genomes feature high mutation rates, which lead to the emergence of different genetic variants. In our research, we primarily selected conserved regions covering the entire known spectrum of genetic variants. Accordingly, we selected specific regions of the following genes for the annealing of primers and probes. For HeV, the gene encoding nucleocapsid protein N was chosen. For NiV, the gene encoding protein G was chosen. The N protein gene is a frequently used target for diagnostic methods based on Henipavirus nucleic acid amplification. For Hendra and Nipah virus, there are several such studies [8, 14, 20, 26]. Other genomic regions are used less frequently, for example genes encoding proteins L [35], C, M [8, 30], or G [5].

In the previously cited studies, the average amplification reaction time for Hendra and Nipah viruses is from 2 to 3 hours [14, 20, 30, 35, 37], with the exception of isothermal amplification in the work of Pollak [26]. It should be noted, however, that although isothermal amplification provides a faster result, it is inferior in sensitivity to real-time PCR, and sensitivity may be as low as 10^6 copies/mL. In the methods developed and described here, the overall processing times (reverse transcription and amplification) are 86 minutes for the HeV virus and 76 minutes for the NiV virus. Analytical sensitivity was assessed to be high for both assays as well: 1×10^2 copies/mL for HeV and 1×10^3 copies/mL for NiV.

Due to a lack of available clinical samples containing HeV and NiV viruses, the system was tested on three types of biological samples from healthy individuals with addition of specific genetic constructs (armored RNA controls, ARC) simulating real viruses. These were blood plasma, mucosal swabs (nasopharyngeal or oropharyngeal), and cerebrospinal fluid. In all cases, isolation and further RT-PCR detection were successful.

Conclusion

This manuscript reports the development and evaluation of real-time RT-PCR assays for Henipavirus hendraense (HeV) and Henipavirus nipahense (NiV) detection. For detection, the HeV and NiV assays target fragments of the N and G genes, respectively. The distinctive feature of our system is the presence of multiple controls, high sensitivity, and short reaction times. Both assays contain all of the necessary components to perform the analysis, including internal extraction control (IC), positive control for reverse transcription (ARC), negative control of extraction (NEC), and PCR controls (C+, C–). The advantage of this assay is that it allows the internal verification of all steps of the analysis, including extraction, reverse transcription, and PCR. Our results revealed that the LOD values for the assays are: 1×10^2 copies/mL for HeV viral RNA and 1×10^3 copies/mL for NiV viral RNA. In addition, both assays feature reaction times (one-step RT-PCR) less than 90 minutes.

References

1. Aljofan M. Hendra and Nipah infection: Emerging paramyxoviruses. *Virus Res., 2013, vol. 177, no. 2, pp. 119–126. doi: 10.1016/j.virusres.2013.08.002*
2. Annand E.J., Horsburgh B.A., Xu K., Reid P.A., Poole B., de Kantzow M.C., Brown N., Tweedie A., Michie M., Grewar J.D., Jackson A.E., Singanallur N.B., Plain K.M., Kim K., Tachedjian M., van der Heide B., Crameri S., Williams D.T., Secombe C., Laing E.D., Sterling S., Yan L., Jackson L., Jones C., Plowright R.K., Peel A.J., Breed A.C., Diallo I., Dhand N.K., Britton P.N., Broder C.C., Smith I., Eden J.-S. Novel Hendra Virus Variant Detected by Sentinel Surveillance of Horses in Australia. *Emerg. Infect. Dis., 2022, vol. 28, no. 3, pp. 693–704. doi: 10.3201/eid2803.211245*
3. Askari M.R.A., Menezes G.A., Omran H.H., Ejaz A., Ejaz H., Hameed S.S. Nipah Virus: A Threatening Outbreak. *J. Clin. Diagn. Res., 2023, vol. 17, no. 2, pp. DE01–DE07. doi: 10.7860/jcdr/2023/52734.17504*
4. Bangladesh reports two Nipah deaths in 2024 to date. *URL: https://open.substack.com/pub/outbreaknewstoday/p/bangladesh-reports-two-nipah-deaths?utm_campaign=post&utm_medium=web*
5. Bossart K.N., Rockx B., Feldmann F., Brining D., Scott D., LaCasse R., Geisbert J.B., Feng Y.-R., Chan Y.-P., Hickey A.C., Broder C.C., Feldmann H., Geisbert T.W. A Hendra virus G glycoprotein subunit vaccine protects African green monkeys from Nipah virus challenge. *Sci. Transl. Med., 2012, vol. 4, no. 146: 146ra107. doi: 10.1126/scitranslmed.3004241*
6. Business Queensland. Summary of Hendra virus incidents in horses. *URL: https://www.business.qld.gov.au/industries/service-industries-professionals/service-industries/veterinary-surgeons/guidelines-hendra/incident-summary*
7. Chakraborty S., Deb B., Barbhuiya P.A., Uddin A. Analysis of codon usage patterns and influencing factors in Nipah virus. *Virus Res., 2019, vol. 263, pp. 129–138. doi: 10.1016/j.virusres.2019.01.011*
8. Daniels P., Ksiazek T., Eaton B.T. Laboratory diagnosis of Nipah and Hendra virus infections. *Microbes Infect., 2001, vol. 3, no. 4, pp. 289–295. doi: 10.1016/s1286-4579(01)01382-x*
9. Dolgova A.S., Kanaeva O.I., Antonov S.A., Shabalina A.V., Klyuchnikova E.O., Sbarzaglia V.A., Gladkikh A.S., Ivanova O.E., Kozlovskaya L.I., Dedkov V.G. Qualitative real-time RT-PCR assay for nOPV2 poliovirus detection. *J. Virol. Methods., 2024, vol. 329: 114984. doi: 10.1016/j.jviromet.2024.114984*
10. Eaton B.T., Broder C.C., Middleton D., Wang L.-F. Hendra and Nipah viruses: different and dangerous. *Nat. Rev. Microbiol., 2006, vol. 4, no. 1, pp. 23–35. doi: 10.1038/nrmicro1323*
11. Eaton B.T., Wang L.-F. Henipaviruses. *Encycl. Virol., 2008, pp. 321–327. doi: 10.1016/b978-012374410-4.00653-1*
12. Gazal S., Sharma N., Gazal S., Tikoo M., Shikha D., Badroo G.A., Rashid M., Lee S.-J. Nipah and Hendra Viruses: Deadly Zoonotic Paramyxoviruses with the Potential to Cause the Next Pandemic. *Pathogens, 2022, vol. 11, no. 12: 1419. doi: 10.3390/pathogens11121419*
13. Goncharova E.A., Dedkov V.G., Dolgova A.S., Kassirov I.S., Safonova M.V., Voytsekhovskaya Y., Totolian A.A. One step quantitative RT PCR assay with armored RNA controls for detection of SARS-CoV-2. *J. Med. Virol., 2020, vol. 93, no. 3, pp. 1694–1701. doi: 10.1002/jmv.26540*
14. Guillaume V., Lefeuvre A., Faure C., Marianneau P., Buckland R., Lam S.K., Wild T.F., Deubel V. Specific detection of Nipah virus using real-time RT-PCR (TaqMan). *J. Virol. Methods., 2004, vol. 120, no. 2, pp. 229–237. doi: 10.1016/j.jviromet.2004.05.018*
15. Hotard A.L., He B., Nichol S.T., Spiropoulou C.F., Lo M.K. 4′-Azidocytidine (R1479) inhibits henipaviruses and other paramyxoviruses with high potency. *Antivir. Res., 2017, vol. 144, pp. 147–152. doi: 10.1016/j.antiviral.2017.06.011*
16. International Committee on Taxonomy of Viruses. *URL: https://ictv.global/report/chapter/paramyxoviridae/paramyxoviridae/henipavirus*
17. Jang M., Kim S. Inhibition of Non-specific Amplification in Loop-Mediated Isothermal Amplification via Tetramethylammonium Chloride. *BioChip J., 2022, vol. 16, no. 3, pp. 326–333. doi: 10.1007/s13206-022-00070-3*
18. Luo G.-C., Yi T.-T., Jiang B., Guo X., Zhang G.-Y. Betaine-assisted recombinase polymerase assay with enhanced specificity. *Anal. Biochem., 2019, vol. 575, pp. 36–39. doi: 10.1016/j.ab.2019.03.018*
19. Mire C.E., Satterfield B.A., Geisbert J.B., Agans K.N., Borisevich V., Yan L., Chan Y.-P., Cross R.W., Fenton K.A., Broder C.C., Geisbert T.W. Pathogenic Differences between Nipah Virus Bangladesh and Malaysia Strains in Primates: Implications for Antibody Therapy. *Sci. Rep., 2016, vol. 6: 30916. doi: 10.1038/srep30916*
20. Mungall B.A., Middleton D., Crameri G., Bingham J., Halpin K., Russell G., Broder C.C. Feline model of acute nipah virus infection and protection with a soluble glycoprotein-based subunit vaccine. *J. Virol., 2006, vol. 80, no. 24, pp. 12293–12302. doi: 10.1128/JVI.01619-06*
21. Murray K., Selleck P., Hooper P., Hyatt A., Gould A., Gleeson L., Westbury H., Hiley L., Selvey L., Rodwell B., Ketterer P. A Morbillivirus that Caused Fatal Disease in Horses and Humans. *Science, 1995, vol. 268, no. 5207, pp. 94–97. doi: 10.1126/science.7701348*
22. Nipah virus infection – Bangladesh. *URL: https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2024-DON508*
23. O'Sullivan J., Allworth A., Paterson D., Snow T., Boots R., Gleeson L., Gould A., Hyatt A., Bradfield J. Fatal encephalitis due to novel paramyxovirus transmitted from horses. *Lancet, 1997, vol. 349, no. 9045, pp. 93–95. doi: 10.1016/s0140-6736(96)06162-4*
24. Oliveira B.B., Veigas B., Baptista P.V. Isothermal Amplification of Nucleic Acids: The Race for the Next "Gold Standard". *Front. Sens., 2021, vol. 2: 752600. doi: 10.3389/fsens.2021.752600*
25. One dies of Nipah virus at DMCH. *URL: https://www.thedailystar.net/health/disease/news/one-dies-nipah-virus-dmch-3246971*
26. Pollak N.M., Olsson M., Marsh G.A., Macdonald J., McMillan D. Evaluation of three rapid low-resource molecular tests for Nipah virus. *Front. Microbiol., 2023, vol. 13: 1101914. doi: 10.3389/fmicb.2022.1101914*
27. Rota P.A., Lo M.K. Molecular Virology of the Henipaviruses. *Curr. Top. Microbiol. Immunol., 2012, vol. 359, pp. 41–58. doi: 10.1007/82_2012_211*
28. Satterfield B.A., Dawes B.E., Milligan G.N. Status of vaccine research and development of vaccines for Nipah virus. *Vaccine, 2016, vol. 34, no. 26, pp. 2971–2975. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.12.075*

29. Skowron K., Bauza-Kaszewska J., Grudlewska-Buda K., Wiktorczyk-Kapischke N., Zacharski M., Bernaciak Z., Gospodarek-Komkowska E. Nipah Virus — Another Threat From the World of Zoonotic Viruses. *Front. Microbiol., 2022, vol. 12: 811157. doi: 10.3389/fmicb.2021.811157*
30. Smith I.L., Halpin K., Warrilow D., Smith G.A. Development of a fluorogenic RT-PCR assay (TaqMan) for the detection of Hendra virus. *J. Virol. Methods., 2001, vol. 98, no. 1, pp. 33–40. doi: 10.1016/s0166-0934(01)00354-8*
31. Soman Pillai V., Krishna G., Valiya Veettil M. Nipah Virus: Past Outbreaks and Future Containment. *Viruses, 2020, vol. 12, no. 4: 465. doi: 10.3390/v12040465*
32. Srivastava P., Prasad D. Isothermal nucleic acid amplification and its uses in modern diagnostic technologies. *3 Biotech., 2023, vol. 13, no. 6: 3628. doi: 10.1007/s13205-023-03628-6*
33. Taylor J., Thompson K., Annand E.J., Massey P.D., Bennett J., Eden J.-S., Horsburgh B.A., Hodgson E., Wood K., Kerr J., Kirkland P., Finlaison D., Peel A.J., Eby P., Durrheim D.N. Novel variant Hendra virus genotype 2 infection in a horse in the greater Newcastle region, New South Wales, Australia. *One Health., 2022, vol. 15: 100423. doi: 10.1016/j.onehlt.2022.100423*
34. Thakur N., Bailey D. Advances in diagnostics, vaccines and therapeutics for Nipah virus. *Microbes Infect., 2019, vol. 21, no. 7, pp. 278–286. doi: 10.1016/j.micinf.2019.02.002*
35. Wacharapluesadee S., Hemachudha T. Duplex nested RT-PCR for detection of Nipah virus RNA from urine specimens of bats. *J. Virol. Methods, 2007, vol. 141, no. 1, pp. 97–101. doi: 10.1016/j.jviromet.2006.11.023*
36. Wang J., Anderson D.E., Halpin K., Hong X., Chen H., Walker S., Valdeter S., van der Heide B., Neave M.J., Bingham J., O'Brien D., Eagles D., Wang L.-F., Williams D.T. A new Hendra virus genotype found in Australian flying foxes. *Virol. J., 2021, vol. 18, no. 1, pp. 1–13. doi: 10.1186/s12985-021-01652-7*
37. WHO R&D Blueprint: Priority diagnostics for Nipah use cases and target product profiles. *URL: https://www.who.int/docs/default-source/blue-print/call-for-comments/who-nipah-dx-tpps-d.pdf?sfvrsn=8a856311_4*
38. World Health Organization. Nipah Virus. *URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/nipah-virus*
39. Yang M., Zhu W., Truong T., Pickering B., Babiuk S., Kobasa D., Banadyga L. Detection of Nipah and Hendra Viruses Using Recombinant Human Ephrin B2 Capture Virus in Immunoassays. *Viruses, 2022, vol. 14, no. 8: 1657. doi: 10.3390/v14081657*
40. Yuen K.Y., Fraser N.S., Henning J., Halpin K., Gibson J.S., Betzien L., Stewart A.J. Hendra virus: epidemiology dynamics in relation to climate change, diagnostic tests and control measures. *One Health, 2021, vol. 12: 100207. doi: 10.1016/j.onehlt.2020.100207*

Авторы:

Широбокова С.А., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики патогенных микроорганизмов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Шабалина А.В., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики патогенных микроорганизмов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Сухих И.С., к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики патогенных микроорганизмов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Шайеб В.А., к.б.н., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики патогенных микроорганизмов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Долгова А.С., к.б.н., старший научный сотрудник, зав. лабораторией молекулярной генетики патогенных микроорганизмов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;
Дедков В.Г., к.м.н., зам. директора по научной работе ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологи имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; ведущий научный сотрудник Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского, Москва, Россия.

Authors:

Shirobokova S.A., Junior Researcher, Laboratory for Molecular Genetics of Pathogens, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Shabalina A.V., Junior Researcher, Laboratory for Molecular Genetics of Pathogens, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Sukhikh I.S., PhD (Biology), Researcher, Laboratory for Molecular Genetics of Pathogens, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Chayeb V.A., PhD (Biology), Junior Researcher, Laboratory for Molecular Genetics of Pathogens, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Dolgova A.S., PhD (Biology), Senior Researcher, Head of Laboratory for Molecular Genetics of Pathogens, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;
Dedkov V.G., PhD (Medicine), Deputy Director for Scientific Work, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Leading Researcher, Martsinovsky Institute of Medical Parasitology, Tropical and Vector-Borne Diseases, Moscow, Russian Federation.

Поступила в редакцию 24.12.2024
Принята к печати 13.05.2025

Received 24.12.2024
Accepted 13.05.2025

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 568–574

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 568–574

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ФРАГМЕНТОВ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК В КРОВИ РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ С ПОСТКОВИДНЫМ СИНДРОМОМ МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОФЛУОРИМЕТРИИ

А.Л. Кравцов, С.Н. Клюева, В.А. Кожевников, С.А. Бугоркова

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

Резюме. Для пациентов с COVID-19 характерен существенно повышенный уровень содержания внеклеточной ДНК в периферической крови, а недавно нити ДНК нейтрофильных внеклеточных ловушек были обнаружены в плазме крови лиц с постковидным синдромом. Цель исследования — разработать методический подход (технологию) детекции внеклеточной ДНК и оценить ее уровень в крови лиц с постковидным синдромом. *Материалы и методы.* В исследование включены: пациенты с постковидным синдромом, ранее перенесшие тяжелую форму болезни (опытная группа, n = 8, от 53 до 64 лет); больные с тяжелой формой течения COVID-19 (I группа сравнения, n = 5, от 48 до 67 лет); условно здоровые добровольцы разных возрастных групп: 18–30 лет (II группа сравнения, n = 12) и старше 60 лет (III группа сравнения, n = 10, более 60 лет), в крови которых отсутствовали специфические IgG антитела к вирусу SARS-CoV-2. Исследование проводили в микрообъемах цельной крови. *Результаты.* Для определения содержания в крови фрагментов внутриклеточной ДНК был разработан способ проточно-цитофлуориметрического анализа, основанный на добавлении в кровь раствора красителя йодистого пропидия вместе с маркером CD45-FITC, используемым при иммунофенотипировании лейкоцитов по Lyse/No-Wash протоколу для дифференцирования неповрежденных клеток от клеточного дебриса. У здоровых людей краситель после добавления в кровь лизирующего эритроциты и фиксирующего лейкоциты реагента проникает внутрь клеток и окрашивает только внутриклеточную ДНК неповрежденных диплоидных лейкоцитов. Доля слабых сигналов ДНК-флуоресценции от фрагментов внеклеточной ДНК в общем числе регистрируемых цитометром импульсов в этом случае не более 3,2 (2,0–5,6)%. С возрастом или на фоне болезни этот показатель повышается в среднем до 13,4 (10,1–18,6)%. У лиц с тяжелой формой течения COVID-19 регистрировали очень высокие значения исследуемого показателя — на уровне 82 (68,0–88,6)%. У реконвалесцентов после перенесенного COVID-19 в течение месяца сохранялись высокие показатели уровня внеклеточной ДНК, постепенно снижаясь к 3-му месяцу до 40,5 (27,4–52,0)%. *Заключение.* Согласно полученным данным определение внеклеточной ДНК по разработанной технологии позволяет характеризовать тяжесть течения COVID-19 и оценить компенсаторные возможности организма в постковидном периоде.

Ключевые слова: *содержание внеклеточной ДНК в крови, активация нейтрофилов, нетоз, COVID-19, постковидный синдром, проточная цитометрия.*

Адрес для переписки:
Клюева Светлана Николаевна
410005, Россия, г. Саратов, ул. Университетская, 46,
ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора.
Тел.: 8 987 830-50-75.
E-mail: klyueva.cvetlana@mail.ru

Contacts:
Svetlana N. Klyueva
410005, Russian Federation, Saratov, Universitetskaya str., 46,
Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor.
Phone: +7 987 830-50-75.
E-mail: klyueva.cvetlana@mail.ru

Для цитирования:
Кравцов А.Л., Клюева С.Н., Кожевников В.А., Бугоркова С.А. Оценка содержания фрагментов внеклеточной ДНК в крови реконвалесцентов с постковидным синдромом методом проточной цитофлуориметрии // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 568–574. doi: 10.15789/2220-7619-FCF-17829

Citation:
Kravtsov A.L., Klyueva S.N., Kozhevnikov V.A., Bugorkova S.A. Flow cytometry for assessing blood extracellular DNA fragments level in with post-COVID syndrome convalescent subjects // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 568–574. doi: 10.15789/2220-7619-FCF-17829

© Кравцов А.Л. и соавт., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-FCF-17829

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

FLOW CYTOMETRY FOR ASSESSING BLOOD EXTRACELLULAR DNA FRAGMENTS LEVEL IN WITH POST-COVID SYNDROME CONVALESCENT SUBJECTS

Kravtsov A.L., Klyueva S.N., Kozhevnikov V.A., Bugorkova S.A.

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

Abstract. Patients with COVID-19 are characterized by markedly elevated levels of cell-free DNA in the peripheral blood, and recently neutrophil extracellular trap DNA strands were detected in the blood plasma of individuals with post-COVID syndrome. Purpose of the study — to develop a methodological approach (technology) for detecting cell-free DNA and to assess its level in the blood of individuals with post-COVID syndrome. *Materials and methods.* The study enrolled patients with post-COVID syndrome who had severe COVID-19 (experimental group, n = 8, aged 53 to 64 years); patients with severe COVID-19 (comparison group I, n = 5, aged 48 to 67 years); apparently healthy volunteers of different age groups: 18–30 years old (comparison group II, n = 12) and over 60 years old (comparison group III, n = 10, over 60 years old), in whose blood there were no specific IgG antibodies to the SARS-CoV-2 virus. The study was performed in microvolume whole blood samples. *Results.* To determine the content of intracellular DNA fragments in the blood, a flow cytofluorimetric analysis method was developed based on adding a propidium iodide dye solution to the blood together with the CD45-FITC marker used in leukocyte immunophenotyping according to the Lyse/No-Wash protocol to differentiate intact cells from cellular debris. In healthy subjects, after adding a reagent that lyses erythrocytes and fixes leukocytes to the blood, the dye penetrates into the cells and stains only the intracellular DNA in intact diploid leukocytes. The proportion of weak DNA fluorescence signals from extracellular DNA fragments in the total number of pulses recorded by the cytometer in this case not exceeds 3.2 (2.0–5.6)%. With age in case of the disease, this pattern increases to an average of 13.4 (10.1–18.6)%. In individuals with severe COVID-19, very high magnitude of the studied parameter was recorded — at the level of 82 (68.0–88.6)%. In COVID-19 convalescent patients, high levels of extracellular DNA remained for a month, gradually decreasing by the month 3 to 40.5 (27.4–52.0)%. *Conclusion*. According to the data obtained, the determination of extracellular DNA using the developed technology allows us to characterize the severity of COVID-19 and assess the compensatory capabilities of the body in the post-COVID period.

Key words: *extracellular DNA content in blood, neutrophil activation, NETosis, COVID-19, post-COVID syndrome, flow cytometry.*

Введение

Постковидный синдром (ПКС, альтернативно: post-COVID-19 syndrome, chronic COVID syndrome, long COVID) — состояние постоянного или перманентного наличия симптомов патологического процесса вслед за перенесенной инфекцией, вызванной возбудителем SARS-CoV-2. Являясь мультисистемным расстройством, ПКС ассоциируется с множеством клинических проявлений, включая сердечную и дыхательную дисфункцию, нейропсихиатрические нарушения и гиперкоагуляцию. Всемирная организация здравоохранения характеризует его как «присутствие признаков и симптомов, развивающихся во время или после инфекции COVID-19, сохраняющихся более 4 недель и не имеющих объяснения наличием каких-либо других диагнозов» [3,15].

Патофизиологические механизмы, лежащие в основе ПКС, недостаточно изучены [15]. Опираясь на современные представления о ключевой роли ДНК-сетей нейтрофильных внеклеточных ловушек (Neutrophil Extracellular Traps — NETs) в патогенезе COVID-19 и развитии у людей системных хронических аутоиммунных заболеваний [12], большинство исследователей объясняет остаточные воспалительные симптомы и осложнения, регистрируемые при ПКС, длительным сохранением дисбаланса процессов образования и удаления NETs после перенесенного COVID-19 [13, 15]. Такой дисбаланс, индуцируемый SARS-CoV-2 в острый период новой коронавирусной инфекции, приводит к многократному повышению концентрации в плазме крови фрагментов внеклеточной (вкДНК) [10], которые, обладая выраженным провоспалительным потенциалом [8], активируют коагуляцию и стимулируют образование тромбов в сосудистом русле [12].

С помощью длительных и трудоемких методов детекции, базирующихся на выделении вкДНК из плазмы и последующем количественном ПЦР-анализе, в настоящее время установлено, что при нетозе и некрозе из погибших клеток высвобождаются крупные фрагменты ДНК более 10 000 пар нуклеотидов, которые в 100 раз больше фрагментов, секретируемых в плазму крови при апоптозе [7, 14]. Было установлено, что содержание вкДНК в крови пациентов с тяжелой формой течения COVID-19 в 7 раз превышает среднее значение данного показателя у доноров без коронавирусной инфекции [8]. Однако пока не ясно, в какой степени и как долго эти различия сохраняются у пациентов в период реконвалесценции. Такие исследования не проводились. Возможно, по той причине, что все методы, основанные на экстракции молекулы ДНК из плазмы, требуют большого количества крови для одного анализа (не менее 2–5 мл), дают большой разброс результатов и, как следствие, в клинической медицине пока

широко не используются [7]. Выявление нитей ДНК нейтрофильных ловушек, присутствующих в плазме крови пациентов с ПКС, методом люминесцентной микроскопии [4] не обеспечивает объективной оценки результатов.

Целью настоящей работы была разработка метода (технологии) детекции внеклеточной ДНК и оценка ее уровня содержания в крови лиц с постковидным синдромом.

Материалы и методы

Оценку содержания фрагментов вкДНК и иммунофенотипирование лейкоцитов в крови больных COVID-19, реконвалесцентов и условно здоровых добровольцев проводили в период первой волны эпидемии COVID-19 (август — октябрь 2020 г.) среди жителей г. Саратова и Саратовской области. Клинический материал (кровь) поступал на анализ в пробирках с гепарином из профильных учреждений г. Саратова и г. Энгельса в течение 3 ч после взятия. Исследование проводили на основании письменного согласия пациентов в рамках плановой научной тематики учреждения, одобренной локальным этическим комитетом ФКУН Российский противочумный институт «Микроб».

Кровь реконвалесцентов, перенесших тяжелую форму COVID-19 (опытная группа, n = 8, возраст от 53 до 64 лет), исследовали в период от 1 до 3 месяцев после завершения процесса лечения в стационаре. Наличие у обследуемых ПКС устанавливали при опросе по жалобам на один или несколько характерных симптомов этого синдрома [3], таких как слабость, одышка, быстрая утомляемость, нарушение сна, обострение имеющихся хронических заболеваний, появление головных, мышечных, суставных или позвоночных болей. Положительным контролем (I группа сравнения, n = 5, возраст от 48 до 67 лет) высокого уровня содержания вкДНК служили результаты анализа крови пациентов отделения реанимации с нарушениями дыхательной функции легких и изменениями состояния сердечно-сосудистой системы, соответствующими по общепринятой клинической классификации тяжелой форме течения COVID-19 [5]. В качестве отрицательного контроля исследовали кровь лиц без перенесенной коронавирусной инфекции, добровольно присоединившихся к исследованию после подписания информированного согласия. Таких доноров делили по возрасту на две группы: от 18 до 30 лет (II группа сравнения, n = 12) и старше 60 лет (III группа сравнения, n = 10).

Иммунофенотипирование лейкоцитов проводили в микрообъемах цельной крови с помощью стандартной процедуры Lyse/No-Wash (BD Bioscience), исключающей потерю клеток и клеточного дебриса при окраске образцов флуоресцирующими реагентами [16]. Для определения относительного содержания в крови фрагментов вкДНК был разработан способ проточно-цитофлуориметрического анализа, основанный на добавлении к 50 мкл цельной крови 10 мкл раствора йодистого пропидия (IP) с концентрацией 100 мкг/мл фосфатно-солевого буфера (pH 7,4) совместно с 10 мкл реагента CD45-FITC, используемого при иммунофенотипировании лейкоцитов крови по Lyse/No-Wash протоколу для автоматического дифференцирования неповрежденных клеток от клеточного дебриса [6].

Для измерения в потоке интенсивности светорассеяния, иммунофлюоресценции и ДНК-флуоресценции больших статистических выборок отдельных лейкоцитов и продуктов клеточного распада использовали проточный цитофлуориметр «DakoCytomation» (Дания) с программным обеспечением «Summit v.4.3 Built 2445».

Полученные данные статистически обрабатывали с использованием стандартного пакета программ «Microsoft Office Excel 2016», «Statistica 10.0» (StatSoft Inc.), представляя их в виде медианы (Me) и квартильных отклонений (Q_{25}—Q_{75}) с расчетом достоверности различий в исследуемых группах с использованием U-критерия Манна–Уитни. Значение $p < 0,05$ считали статистически значимым.

Результаты и обсуждение

Использованный в настоящей работе цитофлуориметрический способ детекции вкДНК был разработан благодаря экспериментально установленной нами способности лизирующего эритроциты реагента (BD FACS Lysing Solution), содержащего 3% диэтиленгликоль, 1% формальдегид и 0,35% метанол, повышать проницаемость цитоплазматических мембран лейкоцитов крови для молекул IP. При попадании в кровь IP окрашивал фрагменты вкДНК в плазме, а после добавления в образец крови лизирующего эритроциты и фиксирующего лейкоциты реагента проникал внутрь клеток, где окрашивал ядерную ДНК. При высокой разрешающей способности процесса измерения интенсивности ДНК-флуоресценции в логарифмическом режиме, метод проточной цитометрии позволял получать информацию как о присутствии (или отсутствии) в крови фрагментов вкДНК, так и об относительном содержании в образце крови неповрежденных диплоидных лейкоцитов, имеющих нормальное состояние ядерного хроматина. Поэтому мы учитывали результат анализа в виде доли, которую

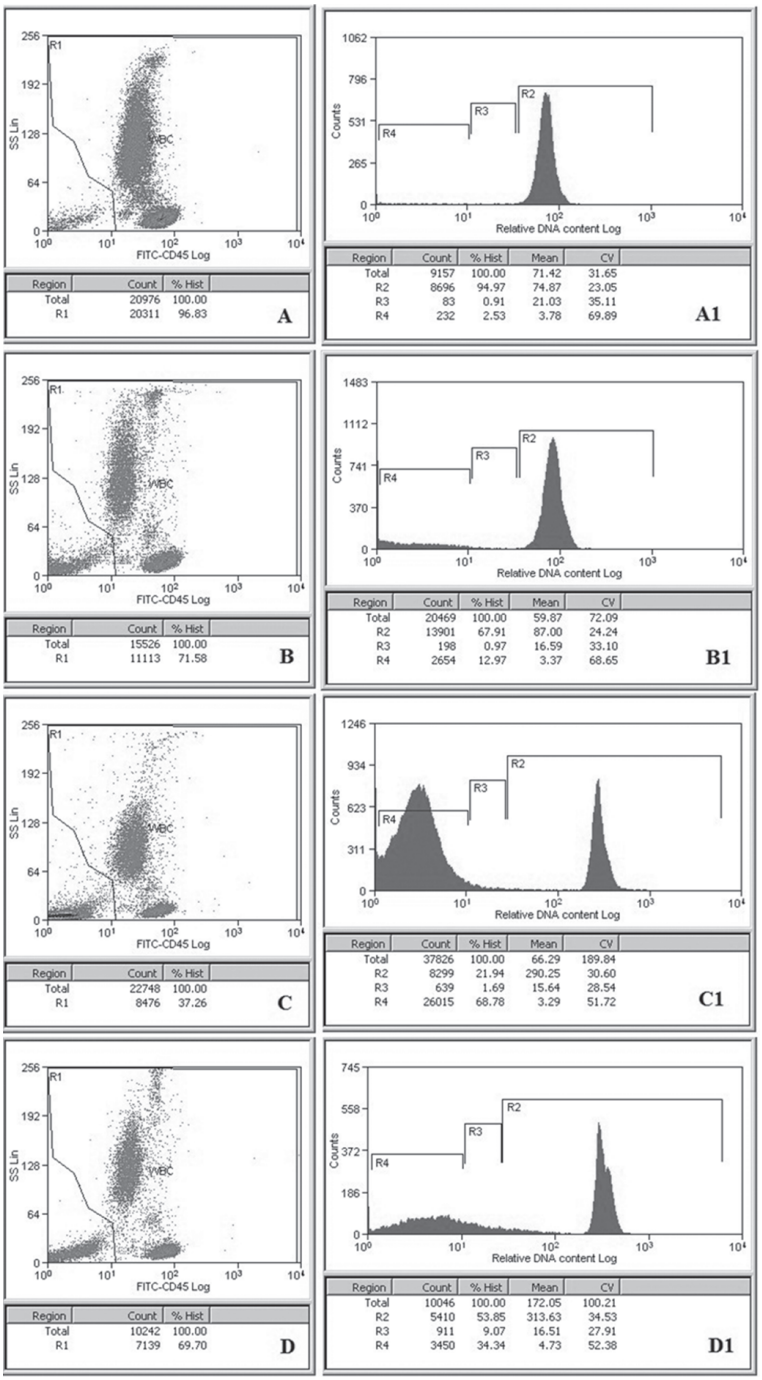


Рисунок. Результат сравнительного анализа четырех образцов крови с различным содержанием клеточного дебриса и фрагментов внеклеточной ДНК в плазме

Figure. Result of comparative analysis of four blood samples with different content of cellular debris and extracellular DNA fragments in plasma

Примечание. ДНК-гистограммы A1, B1, C1 и D1 с цитограммами A, B, C и D соответствуют образцам крови из групп II, III, I и опытной группы. Три популяции клеток в регионе R1 на цитограммах — это неповрежденные лимфоциты, моноциты и гранулоциты. За пределами региона R1 учитывался клеточный дебрис, доля которого в пробах определялась как Total — R1 и равнялась для A, B, C и D соответственно 3,17%, 28,5%, 62,7% и 30,3%. Сигналы ДНК-флуоресценции от фрагментов внеклеточной ДНК учитывались на ДНК-гистограммах в регионе R4. Значение показателя для групп I, II, III и опытной группы 68,8%, 2,5%, 13% и 34,3% соответственно.

Note. DNA histograms A1, B1, C1 and D1 with cytograms A, B, C and D correspond to blood samples from groups II, III, I and the experimental group. Three cell populations in the R1 region on the cytograms are intact lymphocytes, monocytes and granulocytes. Outside the R1 region, cellular debris was taken into account, the proportion of which in the samples was defined as Total — R1 and was equal to 3.17%, 28.5%, 62.7% and 30.3% for A, B, C and D, respectively. DNA fluorescence signals from cell-free DNA fragments were taken into account on DNA histograms in the R4 region. The value of the indicator for groups I, II, III and the experimental group was 68.8%, 2.5%, 13% and 34.3%, respectively.

Таблица. Относительное содержание фрагментов внеклеточной ДНК в крови лиц четырех обследуемых групп

Table. Relative content of extracellular DNA fragments in the blood of individuals in four examined groups

Группы Grups	**Содержание фрагментов ДНК, $Me(Q_{25}–Q_{75})$ в %** DNA fragments content, $Me(Q_{25}–Q_{75})$, %
Опытная Experimental	40,5 (27,4–52,0)
Сравнения Comparison I	82,4 (68,0–88,6)*
Сравнения Comparison II	3,2 (2,0–5,6)*
Сравнения Comparison III	13,4 (10,1–18,6)*

Примечание. * — достоверные различия с опытной группой ($p < 0,05$).
Note. * — significant differences with the experimental group ($p < 0.05$).

более слабые импульсы ДНК-флуоресценции, регистрируемые от фрагментов вкДНК, составляли от общего числа поступающих на анализ сигналов ДНК-флуоресценции. Результат выражали в процентах.

На рисунке представлены характерные ДНК-гистограммы (A1, B1, C1 и D1), наглядно иллюстрирующие степень различий по относительному содержанию фрагментов вкДНК в образцах крови лиц 4-х обследуемых нами групп. Слева от ДНК-гистограмм на рисунке представлены соответствующие им цитограммы (A, B, C и D), отражающие индивидуальный характер распределения в образцах крови отдельных лейкоцитов и продуктов клеточного распада по уровню экспрессии общего лейкоцитарного антигена CD45 и интенсивности бокового светорассеяния (степени гранулярности, SS). Цитограммы позволяли определять содержание в образцах крови клеточного дебриса («мусора»), включающего высвобождаемые из погибших клеток фрагменты вкДНК. Так, в образце сравнения — кровь пожилой женщины (группа III, 63 года, результат анализа B, B1) содержание дебриса и фрагментов вкДНК было более высоким, чем в крови молодой женщины (группа II, 24 года, результат A, A1). Однако пожилой пациент с тяжелой формой течения COVID-19 (группа I, 67 лет, C, C1) очень сильно отличался по исследуемому параметру от доноров II и III групп. В его крови было в 5,3 раза больше фрагментов вкДНК (68,8%), чем в крови донора III группы (13%). У пациента с ПКС (опытная группа, 59 лет, D, D1) фрагментов вкДНК в крови было вдвое меньше (34,3%), чем у больного с острой формой инфекции (68,8%), но в 2,6 раза больше, чем у условно здорового донора III группы (13%).

В таблице приведены результаты статистической обработки полученных в работе экспериментальных данных, которые согласуются с зарубежными исследованиями, выполненными ранее с использованием длительных традиционных методов детекции в крови вкДНК. Во-первых, они подтверждают, что при отсутствии коронавирусной инфекции повышенная концентрация циркулирующей в кровяном русле вкДНК является биомаркером старения организма на клеточном уровне [11], связанным с феноменом воспалительного старения («inflammaging») как основой возраст-ассоциированной патологии [1]. Во-вторых, наши данные подтверждают установленный факт многократного повышения концентрации вкДНК в крови человека при угрожающих жизни критических состояниях (сепсисе, обширных травмах, сосудистых катастрофах и др.) [7]. В данном случае, при тяжелой форме течения COVID-19, при которой своевременное определение чрезмерно высокого уровня содержания вкДНК в плазме позволяет своевременно корректировать терапию, что способствует повышению вероятности благоприятного исхода болезни [10]. Характеристика уровня вкДНК крайне важна в аспекте испытания и применения новых современных методов лечения COVID-19, основанных на удалении вкДНК из периферической крови (терапевтический плазмообмен) [2] и на расщеплении вкДНК-сетей NETs рекомбинантной нуклеазой (препаратом дорназа альфа) [13, 15].

Учитывая важность оценки исследуемого в работе показателя с точки зрения обоснования прогноза и своевременной персонализации лечения коронавирусной инфекции [9, 10, 14], результаты применения быстрого цитофлуориметрического способа детекции вкДНК в микрообъемах цельной крови, равных объемам пальцевой крови пациентов, могут в перспективе иметь определенный диагностический, прогностический и терапевтический потенциал, в том числе, видимо, и при обследовании пациентов с ПКС, в крови которых нами впервые было зарегистрировано методом проточной цитофлуориметрии существенно повышенное в сравнении с показателями для условно здоровых доноров содержание фрагментов вкДНК.

Дальнейшие исследования механизмов образования и выведения вкДНК позволят найти ответ на вопросы, каким образом нетоз может запускать развитие ПКС в организме выживших при COVID-19 пациентов и как в этом процессе участвуют аутоантитела (антинуклеарные, антигистоновые и антинейтрофильные цитоплазматические антитела) к входящим в состав NETs продуктам распада нейтрофи-

лов, которые присутствуют в крови всех реконвалесцентов, переболевших тяжелой формой COVID-19 [13, 15]. Разработанный нами метод (технология) может способствовать накоплению достоверных данных по оценке уровня содержания вкДНК в крови при различных патологических состояниях.

Заключение

Согласно полученным данным, определение вкДНК по разработанной методике (технологии) позволяет характеризовать тяжесть течения COVID-19 и оценить компенсаторные возможности организма в посковидном периоде.

Список литературы/References

1. Артемьева О.В., Ганковская Л.В. Воспалительное старение как основа возраст-ассоциированной патологии // Медицинская иммунология. 2020. Т. 22, № 3. С. 419–432. [Artemyeva O.V., Gankovskaya L.V. Inflammaging as the basis of age-associated diseases. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia), 2020, vol. 22, no. 3, pp. 419–432. (In Russ.)*] *doi: 10.15789/1563-0625-IAT-1938*
2. Бабаев М.А., Тухтаманова А.С., Маснева А.И. Новые направления научных исследований и клинической практики в области экстракорпоральной гемокоррекции у пациентов с полиорганной дисфункцией: обзор литературы // Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова. 2024. № 1. С. 135–147. [Babaev M.A., Tukhtamanova A.S., Masneva A.I. New directions of scientific research and clinical practice in the field of extracorporeal hemocorrection in patients with multiple organ dysfunction: a review. *Vestnik intensivnoy terapii im. A.I. Saltanova = Annals of Critical Care, 2024, no. 1, pp. 135–147. (In Russ.)*] *doi: 10.21320/1818-474X-2024-1-135-147*
3. Бердюгина О.В. Постковидный синдром: к дискуссии о сроках наступления // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 3. С. 476–482. [Berdiugina O.V. Post-COVID-19 syndrome: a discussion of onset timing. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2024, vol. 14, no. 3, pp. 476–482. (In Russ.)*] *doi: 10.15789/2220-7619-PCS-16766*
4. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Ларина В.Н., Рыжих А.А. Постковидный синдром ассоциирован с повышением внеклеточных пуриновых оснований и нейтрофильных экстраклеточных ловушек в плазме крови // Бюллетень сибирской медицины. 2022. Т. 21, № 2. С. 41–47. [Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V., Panina M.I., Larina V.N., Ryzhikh A.A. Post-COVID syndrome is associated with increased extracellular purine bases and neutrophil extracellular traps in the blood plasma. *Byulleten' sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine, 2022, vol. 21, no. 1, pp. 41–47. (In Russ.)*] *doi: 10.20538/1682-0363-2022-2-41-47*
5. Кравцов А.Л., Бугоркова С.А., Клюева С.Н., Гончарова А.Ю., Кожевников В.А., Чумачкова Е.А., Портенко С.А., Щербакова С.А. Оценка интенсивности дегрануляции и изменений фенотипа нейтрофилов по уровню экспрессии FcγRIIIb в крови больных COVID-19 и реконвалесцентов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2022. Т. 99, № 2. С. 172–184. [Kravtsov A.L., Bugorkova S.A., Klyueva S.N., Goncharova A.Yu., Kozhevnikov V.A., Chumachkova E.A., Portenko S.A., Shcherbakova S.A. Assessment of neutrophil degranulation intensity and changes in neutrophil phenotype by FC RIIIB expression level in blood of patients with COVID-19 and convalescents. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology, 2022, vol. 99, no. 2, pp. 172–184. (In Russ.)*] *doi: 10.36233/0372-9311-225*
6. Патент № 2815709 Российская Федерация, МПК G01N 33/50 (2006.01), G01N 33/577 (2006.01). Способ детекции внеклеточной ДНК в цельной периферической крови с использованием проточной цитофлуориметрии: No 2022133755; заявлено 21.12.2022: опубликовано 20.03.2024 / Кравцов А.Л., Бугоркова С.А., Клюева С.Н., Кожевников В.А., Гончарова А.Ю., Шмелькова Т.П. Патентообладатель: ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. 13 с. [Patent No. 2815709 Russian Federation, IPC G01N 33/50 (2006.01), G01N 33/577 (2006.01). Method for detecting extracellular DNA in whole peripheral blood using flow cytometry: No. 2022133755; declared 21.12.2022: published 20.03.2024 / Kravtsov A.L., Bugorkova S.A., Klyueva S.N., Kozhevnikov V.A., Goncharova A.Yu., Shmelkova T.P. Patent holder: Federal State Institution of Science Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor. 13 p.]
7. Филев А.Д., Писарев В.М. Внеклеточная ДНК в медицине неотложных состояний // Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь». 2020. Т. 9, № 1. С. 96–107. [Filev A.D., Pisarev V.M. Cell-free DNA in emergency medical care. *Zhurnal im. N.V. Sklifosovskogo "Neotlozhnaya meditsinskaya pomoshch'" = Journal named after N.V. Sklifosovsky Emergency Medical Care, 2020, vol. 9, no. 1, pp. 96–107. (In Russ.)*] *doi: 10.23934/2223-9022-2020-9-1-96-10*
8. Heil M. Self-DNA driven inflammation in COVID-19 and after mRNA-based vaccination: lessons for non-COVID-19 pathologies. *Front. Immunol., 2024, no. 14: 1259879. doi: 10.3389/fimmu.2023.1259879*
9. Hovhannisyan G., Harutyunyan T., Leihr T. The diagnostic, prognostic, and therapeutic potential of cell-free DNA with a special focus on COVID-19 and other viral infections. *Int. J. Mol. Sci., 2023, vol. 24, no. 18: 14163. doi: 10.3390/ijms241814163*
10. Tanaka A., Wakayama K., Fukuda Y., Ohta S., Homma T., Ando K., Nishihara Y., Nakano R., Zhao J., Suzuki Y., Kyotani Y., Yano H., Kasahara K., Chung K.-P., Sagara H., Yoshizumi M., Nakahira K. Increased levels of circulating cell-free DNA in COVID-19 patients with respiratory failure. *Sci. Rep., 2024, no. 14: 17399. doi: 10.1038/s41598-024-68433-4*
11. Teo Y.V., Capri M., Morsiani C., Pizza G., Faria A.M.C., Franceschi C., Neretti N. Cell-free DNA as a biomarker of aging. *Aging Cell, 2019, no. 18: e12890. doi: 10.1111/acel.12890*
12. Thierry A., Roch B. Neutrophil extracellular traps and by-products play a key role in COVID-19: pathogenesis, risk factors, and therapy. *J. Clin. Med., 2020, vol. 9, no. 9: 2942. doi: 10.3390/jcm9092942*
13. Sawadogo S.A., Dighero-Kemp B., Ouédraogo D.D., Hensley L., Sakandé J. How NETosis could drive "Post-COVID-19 syndrome" among survivors. *Immunol. Lett., 2020, vol. 228, pp. 35–37. doi: 10.1016/j.imlet.2020.09.005*
14. Stawski R., Nowak D., Perdas E. Cell-free DNA: potential application in COVID-19 diagnostics and management. *Viruses, 2022, no. 14: 321. doi: 10.3390/v14020321*

15. Shafhat A., Omer M.,H., Albalkhi I., Razzak G.A., Abdulkader H., Rab S.A., Sabbah B.N., Alkatan K., Yaqinuddin A. Neutrophil extracellular traps and long COVID. *Front. Immunol., 2023, no. 14: 1254310. doi: 10.3389/fimmu.2023.1254310*
16. Vera E.J., Chew Y.V., Nicholson L., Bruns H., Anderson P., Chen H.T., Williams L., Keung K., Zanjani N.T., Dervish S., Patrick E., Wang X.M., Yi S., Hawthorne W., Alexander S., O'Connell P.J., Hu M. Standartization of flow cytometry for whole blood immunophenotyping of islet transplant and transplant clinical trial recipients. *PLoS One, 2019, vol. 14, no. 5: e0217163. doi: 10.1371/journal pone.0217163*

Авторы:
Кравцов А.Л., д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела иммунологии ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;
Клюева С.Н., к.б.н., научный сотрудник отдела иммунологии ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;
Кожевников В.А., младший научный сотрудник отдела иммунологии ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия;
Бугоркова С.А., д.м.н., главный научный сотрудник отдела иммунологии ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов, Россия.

Authors:
Kravtsov A.L., DSc (Biology), Leading Researcher, Department of Immunology, Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation;
Klyueva S.N., PhD (Biology), Researcher, Department of Immunology, Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation;
Kozhevnikov V.A., Junior Researcher, Department of Immunology, Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation;
Bugorkova S.A., DSc (Medicine), Head Researcher, Department of Immunology, Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation.

Поступила в редакцию 04.12.2024
Принята к печати 18.05.2025

Received 04.12.2024
Accepted 18.05.2025

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 575–581

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 575–581

НЕТОКСИГЕННЫЕ ШТАММЫ *VIBRIO CHOLERAE* O1, ВЫЗВАВШИЕ ГАСТРОЭНТЕРОКОЛИТЫ В ЗАПОРОЖСКОЙ И ХЕРСОНСКОЙ ОБЛАСТЯХ: ОПИСАНИЕ СЛУЧАЕВ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ

Е.В. Монахова, В.Д. Кругликов, А.С. Водопьянов, Н.Е. Гаевская

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

Резюме. В 2023–2024 гг. в Запорожской и Херсонской областях зарегистрированы 2 случая гастроэнтероколитов, вызванные нетоксигенными *Vibrio cholerae* O1. До этого в России заболевания такой этиологии не выявлялись в течение последних 18 лет, хотя CTX⁻ штаммы выделялись из водоемов. Целью исследования была молекулярно-генетическая характеристика клинических штаммов *V. cholerae* O1, изолированных в России, и сравнительный биоинформационный анализ их полногеномных сиквенсов (WGSs). *Материалы и методы.* Штаммы идентифицировали в соответствии с МУК 4.2.3745-22, секвенирование проводили на платформе MiSeq Illumina, биоинформационный анализ — с использованинм BioEdit, Vector NTI, CARD и авторского программного обеспечения. *Результаты.* Пациент из Запорожской области заболел после употребления продуктов с рынка, из Херсонской области — после купания в море. У обоих был диагностирован острый гастроэнтероколит, во втором случае наряду с вибрионом обнаружен ротавирус. Выделенные культуры, имеющие идентичные ПЦР-генотипы, были идентифицированы как нетоксигенные *V. cholerae* O1. Оба возбудителя отнесены к серовару Огава. В WGSs обоих отсутствовали профаги CTX, preCTX, острова VPI и VSP-II, гены термостабильного и cholix-токсинов, белков OmpT и OmpU, но присутствовали кластеры RTX, *msh*, гены гемолизина, металло- и сериновых протеаз; цитотонического фактора Cef, представленные у двух возбудителей разными аллелями. Существенные различия состояли в наличии у возбудителя 2024 г. острова VSP-I, кластера T3SS в составе VPI-3, генов *ompW* и β-лактамазы *varG*, которые отсутствовали у штамма 2023 г. Последний содержал неполный VPI-2 и существенно измененные гены *rtxA*, протеаз VesC и VchC. На дендрограмме изоляты образовали 2 удаленных кластера, в состав которых вошли также штаммы из водоемов, выделенные на других российских территориях в разные годы, в каждом все гены имели одинаковые наборы генетических детерминант и аллели генов. Эти данные свидетельствует о возможности их длительного сохранения в водоемах и отсутствии заносов из-за рубежа. *Заключение.* На территории РФ выявлены два новых клональных

Адрес для переписки:
Монахова Елена Владимировна
344002, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40,
Ростовский-на-Дону научно-исследовательский
противочумный институт.
Тел.: 8 (863) 240-91-33.
E-mail: monakhova_ev@antiplague.ru

Contacts:
Elena V. Monakhova
344002, Russian Federation, Rostov-on-Don, M. Gorkogo str., 117/40,
Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute.
Phone: +7 (863) 240-91-33.
E-mail: monakhova_ev@antiplague.ru

Для цитирования:
Монахова Е.В., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Гаевская Н.Е. Нетоксигенные штаммы Vibrio cholerae O1, вызвавшие гастроэнтероколиты в Запорожской и Херсонской областях: описание случаев и молекулярно-генетическая характеристика возбудителей // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 575–581. doi: 10.15789/2220-7619-NVC-17787

Citation:
Monakhova E.V., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Gaevskaya N.E. Non-toxigenic Vibrio cholerae O1 strains that caused gastroenterocolitis in the Zaporizhia and Kherson regions: case reports and pathogen molecular genetic characteristics // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 575–581. doi: 10.15789/2220-7619-NVC-17787

© Монахова Е.В. и др., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-NVC-17787

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

комплекса *V. cholerae* O1. Нетоксигенные штаммы обычно не вызывают масштабных эпидосложнений, и заболевания, вызванные представителями каждого комплекса, могли быть связаны с ослабленным иммунитетом пациентов.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae O1, нетоксигенные штаммы, острые кишечные инфекции, факторы патогенности, полногеномное секвенирование, биоинформационный анализ, клональные комплексы.*

NON-TOXIGENIC *VIBRIO CHOLERAE* O1 STRAINS THAT CAUSED GASTROENTEROCOLITIS IN THE ZAPORIZHIA AND KHERSON REGIONS: CASE REPORTS AND PATHOGEN MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS

Monakhova E.V., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Gaevskaya N.E.

Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation

Abstract. In 2023–2024, two cases of gastroenterocolitis caused by non-toxigenic *Vibrio cholerae* O1 were documented in Zaporizhzhia and Kherson regions. Previously, diseases of this etiology had not been detected in Russia over the last 18 years, although CTX$^-$ strains were isolated from water bodies. The aim of the study was to determine the molecular genetic characteristics of clinical strains of *V. cholerae* O1 isolated in Russia and comparative bioinformatics analysis of their whole genome sequences (WGSs). *Materials and methods.* The strains were identified in accordance with MUK 4.2.3745-22, sequencing was performed on the MiSeq Illumina platform, bioinformatics analysis — using BioEdit, Vector NTI, CARD and author's software. *Results.* A patient from Zaporizhzhia region fell ill after consumption of market foods, and from the Kherson region — after bathing in the sea. Both were diagnosed with acute gastroenterocolitis, in the second case rotavirus was detected along with vibrio. The isolated cultures with identical PCR genotypes were identified as non-toxigenic *V. cholerae* O1. Both patogens belonged to Ogawa serotype. The WGSs of both strains lacked prophages CTX, preCTX, islands VPI and VSP-II, genes of heat-stable and cholix toxins, proteins OmpT and OmpU, but shared RTX and *msh* clusters, genes of hemolysin, metallo- and serine proteases; cytotonic factor Cef, represented in two pathogens by different alleles. Significant differences included the presence in the 2024 pathogen of VSP-I island, T3SS cluster integrated into VPI-3, *ompW* and β-lactamase *varG* genes which were absent in the 2023 one. The latter contained an incomplete VPI-2 and significantly altered genes *rtxA*, as well as genes encoding proteases VesC and VchC. On the dendrogram, the isolates formed 2 distant clusters, which also included environmental waterborne strains isolated in other Russian territories in different years; in each cluster all genes had the same repertoires of genetic determinants and gene alleles. These data evidence an opportunity for their long-term preservation in water reservoirs and the absence of importations from abroad. *Conclusion*. Two new clonal complexes of CTX$^-$ *V. cholerae* O1 have been identified in the territory of Russian Federation. Non-toxigenic strains usually do not cause large-scale epidemiological complications, and the diseases caused by representatives of each complex could be associated with compromised immunity of patients.

Key words: *Vibrio cholerae nonO1, non-toxigenic strains, acute intestinal infections, pathogenicity factors, whole genome sequencing, bioinformatics analysis, clonal complexes.*

Введение

Кроме возбудителей эпидемической холеры, содержащих гены ключевого фактора патогенности холерного токсина *ctxAB* в составе профага CTX, существует большая, достаточно гетерогенная группа штаммов *Vibrio cholerae*, лишенных этих генов, но способных к экспрессии целого ряда других токсических субстанций [5]. В большинстве своем они являются естественными обитателями поверхностных водоемов, где могут сохраняться в течение продолжительного времени благодаря наличию генетических детерминант факторов персистенции, многие из которых могут выступать и в роли факторов патогенности [12, 14]. В определенных условиях такие штаммы способны вызывать спорадические случаи и локальные вспышки острых кишечных инфекций (ОКИ) легкой и среднетяжелой степени, а также тяжелые формы холероподобных заболеваний. Так, в Китае с 2015 по 2021 г. нетоксигенные штаммы выделялись в 9 провинциях в основном от спорадических больных с диагнозом «Холера» [11], а в 2021 г. были выявлены штаммы, относящиеся к двум генетическим линиям (L3b и L9), которые авторы даже называют «эпидемическими» и связывают с ними риски распространения и потенциальную угрозу здоровью населения [10]. На территории Российской Федерации (РФ) ОКИ, обусловленные нетоксигенными штаммами холерных вибрионов O1 серогруппы, регистрируются крайне редко. За последние 25 лет было выявлено лишь 2 случая в Адлере (1999 г.) и Сочи (2004 г.) [9], а также вспышка в 2005 г. в Каменском районе Ростовской области, связанная с завозом возбудителя трудовыми мигрантами из Таджикистана [6]. В дальнейшем о выделении нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 от людей в каком-либо регионе РФ не сообщалось.

Только спустя 18 лет, в 2023 г., в Мелитопольском районе Запорожской области был выявлен больной ОКИ, от которого получен изолят *V. cholerae* O1 [8], а в 2024 г. — еще один в г. Геническе Херсонской области. В связи с территориальной близостью этих городов возник вопрос о том, имеются ли родственные связи между двумя возбудителями, а также со штаммами, циркулирующими в водных объектах окружающей среды (ООС) на этих и других территориях РФ. Кроме того, известно, что нетоксигенные штаммы содержат и экспрессируют разные наборы детерминант факторов патогенности [5], поэтому возникла необходимость определить, какие именно из них могли явиться причиной реализации возбудителями патогенного потенциала.

Цель настоящего исследования состояла в молекурно-генетической характеристике клинических штаммов *V. cholerae* O1, изолированных в РФ, и в сравнительном биоинформационном анализе результатов их полногеномного секвенирования.

Материалы и методы

Объектами исследования служили штаммы *V. cholerae* O1, выделенные от больных ОКИ в Мелитопольском районе в 2023 г. и в г. Геническе в 2024 г. В сравнительный филогенетический анализ были также включены изоляты из ООС других сроков и мест выделения.

Идентификацию штаммов, включавшую бактериологический метод и ПЦР в режиме реального времени с использованием набора «АмплиСенс® Vibrio cholerae-FL» (Регистрационное удостоверение № ФСР 2011/11139), а также определение чувствительности к антибиотикам проводили в соответствии с МУК 4.2.3745-22 [4].

Полногеномное секвенирование осуществляли на платформе MiSeq Illumina, SNP-анализ проводили по 55 тыс. SNP как описано ранее [1]. Для поиска в полных геномах (WGSs) отдельных генов и их кластеров использовали программу BioEdit 7.2.5 (http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit), генетических детерминант лекарственной устойчивости — базу CARD (https://card.mcmaster.ca). Трансляцию генов, анализ их нуклеотидных последовательностей и аминокислотных последовательностей их продуктов осуществляли с помощью пакета программ Vector NTI Advance 11 (Invitrogen). Прототипами служили WGSs референс-штамма *V. cholerae* N16061 (AE003852, AE003853) и *V. cholerae* O37 AM-19226 (AATY0200000000). Потенциальные активные домены в белках идентифицировали online с использованием программы BLASTP (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov).

Результаты и обсуждение

Описание случаев, выделение и идентификация возбудителей

1. Больной А, 16,5 лет, житель с. Вознесенка Мелитопольского района Запорожской области, заболел остро 21.06.2023 г., наблюдались тошнота, многократная рвота, температура до 37°С, жидкий стул до 2 раз в день. 26.06.2023 г. обратился в амбулаторию самостоятельно с теми же жалобами. Был поставлен диагноз «Острый гастроэнтероколит». 30.06.2023 г. повторно обратился в амбулаторию. Состояние — без положительной динамики (обильная рвота, слабость, недомогание, температура 36,9°С). Пациента направили в инфекционное отделение Мелитопольской областной больницы, где было произведено промывание желудка и кишечника, взят материал для лабораторной диагностики. 04.07.2023 г. в бактериологической лаборатории была выделена культура *V. cholerae* O1 Ogawa. От госпитализации больной отказался, на момент обследования очага оставался дома, в контакте с ним находились 2 человека (отец и мать), симптомы ОКИ у них отсутствовали. Сам пациент связывал заболевание с употреблением консервов кильки, купленной на оптовом рынке, а также лапши быстрого приготовления, вареной колбасы, растворимого напитка, который разводил бутилированной питьевой водой. Купание в водоемах, употребление воды из-под крана, контакты с больными с симптоматикой ОКИ отрицал. По состоянию на 04.07.2023 г. у больного и контактных лиц никаких симптомов и жалоб не было. В материале от контактных лиц по месту проживания и при обращении в медучреждение, а также в пробах воды из разводящей сети возбудитель холеры обнаружен не был, однако штамм *V. cholerae* O1 Ogawa был выделен из содержимого надворного туалета по месту жительства.

2. Больной Б, 3 года, житель г. Геническа Херсонской области, выявлен при обращении за медпомощью 13.07.2024 г. и направлен в педиатрическое отделение Генической центральной районной больницы с предварительным диагнозом «ОКИ». В первые дни болезни симптомы включали насморк, общую слабость, повышенную температуру (38,6°С), на 3–4-день присоединились рвота и понос. При исследовании клинического материала (ректальный мазок) методом ПЦР обнаружены РНК ротавируса и ДНК нетоксигенного *(ctxA⁻tcpA⁻)* штамма *V. cholerae* O1 Ogawa и поставлен окончательный диагноз «Острый гастроэнтероколит смешанной этиологии». Присутствие холерного вибриона было подтверждено бактериологическим методом.

Выяснилось, что ребенок купался в Азовском море на неорганизованном пляже в пределах города. В биоматериале от родителей и родственницы патогенов не обнаружено. Поскольку ребенок посещал ясли, обследованы были также дети из его группы и все сотрудники учреждения, а также соседи по палате и медперсонал больницы. У всех обследованных результаты были отрицательными. По месту жительства ребенок не употреблял пищевых продуктов повышенного эпидриска и сырую воду, поэтому наиболее вероятным источником его заражения послужила морская вода. По результатам контрольных лабораторных исследований проб от ребенка, отобранных после лечения с 18.07 по 20.07.2024 г., холерный вибрион не был выявлен ни в ПЦР, ни бактериологически, и 23.07.2024 г. пациент был выписан из больницы.

Идентификация генетических детерминант факторов патогенности в полногеномных сиквенсах и их характеристика

В Ростовский-на-Дону противочумный институт в 2023 г. поступили штаммы из Мелитопольского района: 2 субкультуры от больного (№ 32 и № 32а) и изолят (№ 201) из содержимого туалета, а в 2024 г. — 2 субкультуры клинического штамма (№ 286 и № 291) из г. Геническа. Все они обладали фенотипическими свойствами, типичными для *V. cholerae* O1, относились к серовару Огава. Все были чувствительны почти ко всем использованным антибиотикам (тетрациклину, азитромицину, гентамицину, левомицетину, левофлоксацину, триметоприму, моксифлоксацину, ципрофлоксацину), устойчивы к фуразолидону; различия состояли в устойчивости штаммов из Мелитопольского района к стрептомицину, из Геническа — к ампициллину. По результатам первичной идентификациии в ПЦР те и другие имели один и тот же генотип $wbe^{+}wbf^{-}$ $ctxA^{-}tcpA^{-}hly^{+}$, то есть были нетоксигенными холерными вибрионами O1 серогруппы.

В WGSs всех штаммов отсутствовали профаги CTX, preCTX и RS1, остров патогенности VPI-1, остров пандемичности VSP-II, дополнительные кластеры системы секреции шестого типа (T6SS) AUX-1 и AUX-4, гены cholix-токсина *chxA*, термостабильного токсина *stn*, белков наружной мембраны *ompT* и *ompU*, но присутствовали кластеры RTX и *msh*, основной кластер T6SS и дополнительный AUX-2, интактные гены гемолизина *hlyA*, металлопротеаз — PrtV из *hly*-локуса, гемагглютинин/протеазы *hapA*, коллагеназы *vchC*, а также сериновых протеаз: *vesA, vesB, vesC, ivaP, rssP*; цитотонического фактора *cef*, компонентов эффлюкс-помп CRP, VC1634, *vcrM, vcm-B, -D, -H, -N*. При этом перечисленные гены у двух групп исследуемых изолятов в большинстве своем существенно различались по нуклеотидному составу, то есть были представлены разными аллелями, но их продукты сохраняли характерные для них активные домены (кроме продукта укороченного гена *rtxA* штаммов 2023 г.).

Также у штаммов из Геническа присутствовал ген β-лактамазы *varG*, который, возможно, обусловил устойчивость к ампициллину, а у стрептомицин-резистентных штаммов из Мелитопольского района никаких известных детерминант устойчивости к этому антибиотику не обнаружено. Предположительно резистентость могла быть связана с еще неизвестным геном либо с работой эффлюкс-помп. Чувствительность обоих возбудителей к остальным антибиотикам совпала с отсутствием соответствующих генов в их геномах.

Наиболее существенные различия между генетическими детерминантами изолятов 2023 и 2024 гг. показаны в таблице.

Приведенные данные свидетельствуют о глубоких различиях между исследуемыми штаммами из двух близко расположенных регионов. Тем не менее те и другие вызвали у людей одну и ту же клиническую картину острого диарейного синдрома, что еще раз подтверждает предложенную нами ранее концепцию взаимозаменяемости факторов патогенности холерных вибрионов [5]. Так, возбудитель из Геническа обладал островом патогенности VPI-3 с кластером системы секреции третьего типа (T3SS), экспрессия которой значительно повышает вирулентность холерных вибрионов [15]. Он также имел интактный ген *rtxA* такой же длины, как у прототипа, но с множеством SNP, никак не повлиявших на сохранение продуктом его трансляции всех характерных активных доменов. В данном случае оценить вклад этого штамма в патогенез затруднительно, поскольку в клиническом материале присутствовала и РНК ротавируса, однако такие же штаммы ранее вызвали ОКИ у двух больных в РФ [9]. В то же время возбудитель из Мелитопольского района, лишенный T3SS и имеющий укороченный за счет делеций *rtxA*, в продукте которого отсутствовал ключевой домен ACD, вызвал у конкретного больного такие же клинические проявления. То же можно сказать и о гене протеазы, обозначенном здесь как *vesC-like*, существенно отличающемся от прототипного *vesC* по длине и нуклеотидному составу: продукт его трансляции сохранил активные домены трипсиноподобных сериновых протеаз и приобрел новый домен «choice_anch_D», характерный для некоторых экстрацеллюлярных белков, но его функция у холерных вибрионов неясна. Прототипный белок VesC известен как мощный фактор патогенности, способный вызывать воспаление и геморрагическую диарею [13].

Таблица. Генетические маркеры, существенно различающиеся у штаммов, выделенных в Геническе и в Мелитопольском районе

Table. Genetic markers, significantly differing in strains isolated in Genichesk and Melitopol region

	32, 32a, 201 Ogawa, 2023 **Мелитопольский район** | Melitopol region	**286, 291 Ogawa, 2024** **Геническ** | Genichesk
VSP-I	–	+
VPI-2	**Неполный** | Incopmlete **ΔVC1760–1771, 1775–1806**	–
VPI-3	–	**Полный: кластер T3SS + дистальные гены VPI-2** Complete: T3SS cluster + distal genes of VPI-2 **VC1786,1786, 1789,1790, 1804–1806**
T6SS-AUX3	–	+
***rtxA* (13677 bp)**	**13110 bp, нуклеотидный состав отличен от прототипа, продукт утратил домен ACD** nucleotide composition differs from prototype, the product lacks ACD domain	**13677 bp, нуклеотидный состав отличен от прототипа, но продукт имеет все активные домены** nucleotide composition differs from prototype, but the product has all active domains
***cef* (2391 bp)**	**2391 bp, аллель E7 (новый)** 2391 bp, allele E7 (new)	**2394 bp, аллель E4** 2394 bp, allele E4
***vchC* (2457 bp)**	**2448 bp, Δ9 bp**	**2457 bp**
***vesC* (1647 bp)**	**vesC-like, 1617 bp**	**1647 bp**
***ivaP* (1608 bp)**	**1617 bp**	**1641 bp**
***ompW* (654 bp)**	–	+
***varG* β-lactamase**	–	+

Примечание. В таблице показаны детерминанты, имеющие наиболее заметные различия между двумя группами штаммов. Остальные гены, перечисленные в тексте, также представлены неидентичными аллелями. В скобках приведена длина прототипных генов, bp = п.н.

Note. The table shows the determinants that have the most noticeable differences between the two groups of strains. The remaining genes listed in the text are also represented by non-identical alleles. The length of the prototype genes, bp, is given in brackets.

Что касается измененного белка VesC-like, его биологическая активность не изучена, но вполне возможно, что он вносит в патогенез более или менее значимый вклад. Ген *cef* был отнесен к новому аллелю, который мы обозначили как E7, тогда как у возбудителя из Геническа он был представлен уже известным аллелем E4.

Детерминанты прототипной T6SS представлены основным и дополнительными кластерами [2], а у обоих исследуемых возбудителей присутствовали только основной и AUX-2, у штаммов из Геническа — также AUX-3, который может служить одним их отличительных маркеров, но достоверно оценить функциональное состояние этой системы секреции на данном этапе невозможно, для этого требуются дополнительные исследования.

Для выяснения степени родства исследуемых штаммов между собой, а также с другими штаммами, выделенными на территории РФ, мы провели филогенетический анализ их геномов в сравнении с множеством таковых других нетоксигенных *V. cholerae* O1. Как и следовало ожидать, на полученной дендрограмме штаммы из Мелитопольского района и из Геническа вошли в состав двух совершенно различных и удаленных друг от друга кластеров (рис.). При этом первые сгруппировались также с изолятами из водных ООС Мелитополя (2024 г.), Республики Калмыкия (Элиста, 2010, 2013), а вторые — с большой группой штаммов, выделенных в 2024 г. в Краснодарском крае (Сочи) из воды рек Мацеста и Агура; близкородственными оказались также 3 водных штамма 2023 г. из Республики Крым, один из Херсонской области (2024), один их Приморского края (2024), 3 — из Ростова-на-Дону (2008, 2016) и 2 клинических (Адлер, 1999, и Сочи, 2004).

Таким образом, два удаленных друг от друга кластера могут рассматриваться как отдельные клональные комплексы, существующие на нескольких территориях РФ в водных ООС, они также включали и отдельные клинические изоляты. В пределах каждого из этих комплексов все штаммы не только имели, согласно данным программы BioEdit, одинаковые наборы генетических детерминант, но и содержали практически идентичные (99–100%) аллели генов, имеющиеся у представителей обоих кластеров, но отличных по структуре от таковых другого кластера.

Присутствие в каждом клональном комплексе штаммов, выделенных в разных регионах РФ в разные годы из разных объектов, свидетельствует о близком родстве нетоксигенных клинических и водных изолятов, о возможности их длительного сохранения в ООС, а также о вероятности водного фактора передачи инфекции. По всей видимости, клинические штаммы не связаны с заносами из-за рубежа, хотя такая возможность не может быть исключена полностью, поскольку клональные комплексы обнаруживаются и в других странах, например в Китае, США, Франции [6, 7].

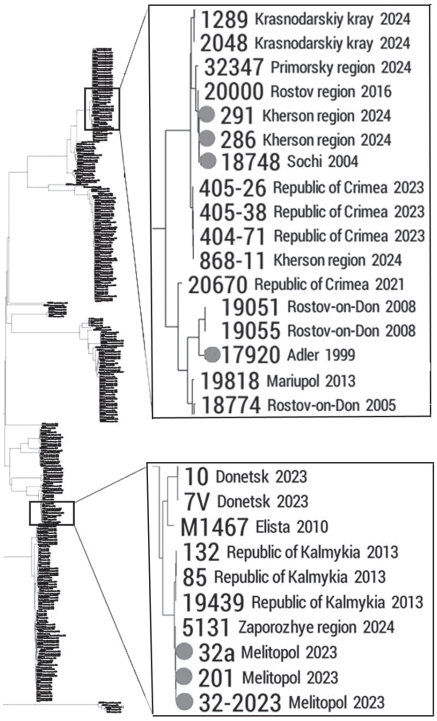


Рисунок. Фрагмент дендрограммы, построенной по итогам анализа данных полногеномного секвенирования нетоксигенных (*ctxAB*$^{-}$) штаммов *V. cholerae* O1

Figure. Fragment of a dendrogram constructed based on the results of analysis of whole-genome sequencing data of non-toxigenic (*ctxAB*$^{-}$) *V. cholerae* O1 strains

Примечание. Клинические изоляты отмечены серыми кружками. На дендрограмме показаны только 2 из 21 идентичного штамма из Краснодарского края 2024 г.

Note. Clinical isolates are marked with grey circles. The dendrogram shows only 2 of 21 identical strains from Krasnodarsky krai in 2024.

Заключение

В результате проведенных исследований на территории РФ были выявлены два новых клональных комплекса *V. cholerae* O1, отличающихся по фено- и генотипическим признакам друг от друга и от таковых, обнаруженных ранее в ООС Ростовской области [6, 9], Республики Калмыкия [3], Краснодарского края (р. Агура, 2015) [9], Сибири и Дальнего Востока [7]. Однако за все время их циркуляции о выделении вибрионов O1 серогруппы от людей до 2023 г. не сообщалось. Два последних случая гастроэнтероколита могли возникнуть на фоне ослабленного иммунитета у заболевших, обусловленного возрастными особенностями, возможным наличием сопутствующих хронических болезней, а также стрессом в условиях ЧС. Если в первом случае по анамнестическим данным водный путь заражения не очевиден, и скорее всего имел место пищевой путь передачи инфекции, то во втором случае трехлетний ребенок мог заразиться при купании в море, причем симптоматику могло утяжелить присутствие ротавируса, что позволяет предположить микст-инфекцию.

На основе многолетних наблюдений мы полагаем, что нетоксигенные штаммы обычно не вызывают масштабных эпидосложнений, хотя и обладают множеством различных генетических детерминант факторов патогенности и потенциальной способностью к их экспрессии. Это свидетельствует об актуальности обследования на холерные вибрионы больных ОКИ и водных ООС в рамках мониторинга за холерой на территории РФ.

Список литературы/References

1. Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Мишанькин Б.Н., Олейников И.П., Кругликов В.Д., Титова С.В. Молекулярная эпидемиология Vibrio cholerae — разработка алгоритма анализа данных полногеномного секвенирования // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2016. № 3. С. 146–152. [Vodopyanov A.S., Pisanov R.V., Vodopyanov S.O., Mishankin B.N., Oleynikov I.P., Kruglikov V.D., Titova S.V. Molecular epidemiology of Vibrio cholerae — development of the algorithm for data analysis of whole genome sequencing. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases, 2016, vol. 21, no. 3, pp. 146–152. (In Russ.)*] *doi: 10.17816/EID40917*
2. Заднова С.П., Плеханов Н.А., Кульшань Т.А., Швиденко И.Г., Крицкий А.А. Система секреции шестого типа Vibrio cholerae // Проблемы особо опасных инфекций. 2022. № 2. С. 27–35. [Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Kul'shan' T.A., Shvidenko I.G., Kritsky A.A. Vibrio cholerae secretion system of the type VI. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections, 2022, no. 2, pp. 27–35. (In Russ.)*] *doi: 10.21055/0370-1069-2022-2-27-35*
3. Крицкий А.А., Смирнова Н.И., Каляева Т.Б., Оброткина Н.Ф., Грачева И.В., Катышев А.Д., Кутырев В.В. Сравнительный анализ молекулярно-генетических свойств нетоксигенных штаммов Vibrio cholerae O1 биовара Эль Тор, изолированных в России и на эндемичных по холере территориях // Проблемы особо опасных инфекций. 2021. № 3. С. 72–82. [Kritsky A.A., Smirnova N.I., Kalyaeva T.B., Obrotkina N.F., Gracheva I.V., Katyshev A.D., Kutyrev V.V. Comparative analysis of molecular-genetic properties of non-toxigenic strains of Vibrio cholerae O1 biovar El Tor isolated in Russia and in cholera endemic territories. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections, 2021, no. 3, pp. 72–82. (In Russ.)*] *doi: 10.21055/0370-1069-2021-3-72-82*
4. Методы лабораторной диагностики холеры: Методические указания МУК 4.2.3745-22. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2022. [Methods of laboratory diagnosis of cholera: Guidelines MUK 4.2.2218-07. *Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor, 2022. (In Russ.)*]
5. Монахова Е.В. Стратегия вирулентности холерных вибрионов и пути ее реализации (обзор) // Проблемы особо опасных инфекций. 2013. № 4. С. 60–68. [Monakhova E.V. Cholera vibrio virulence strategy and ways of its realization (scientific review). *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections, 2022, no. 4, pp. 60–68. (In Russ.)*] *doi: 10.21055/0370-1069-2013-4-60-68*

6. Монахова Е.В., Носков А.К., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Селянская Н.А., Меньшикова Е.А., Ежова М.И., Непомнящая Н.Б., Швиденко И.Г., Подойницына О.А., Писанов Р.В. Генотипическая характеристика клональных комплексов CTX$^-$VPI$^+$ Vibrio cholerae O1, обнаруживаемых в водоемах Ростовской области // Проблемы особо опасных инфекций. 2023. № 3. С. 99–107. [Monakhova E.V., Noskov A.K., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Selyanskaya N.A., Men'shikova E.A., Ezhova M.I., Nepomnyashchaya N.B., Shvidenko I.G., Podoinitsyna O.A., Pisanov R.V. Genotypic characteristics of CTX$^-$VPI$^+$ clonal complexes of Vibrio cholerae O1 found in water bodies of the Rostov Region. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections, 2023, no. 3, pp. 99–107. (In Russ.)*] *doi: 10.21055/0370-1069-2023-3-99-107*
7. Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Соболева Е.Г., Чемисова О.С., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Меньшикова Е.А., Подойницына О.А., Ежова М.И., Евтеев А.В. Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Прогноз на 2023 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2023. № 1. С. 56–66. Noskov A.K., Kruglikov V.D., Moskvitina E.A., Mironova L.V., Monakhova E.V., Soboleva E.G., Chemisova O.S., Vodop'yanov A.S., Lopatin A.A., Ivanova S.M., Men'shikova E.A., Podoynitsyna O.A., Ezhova M.I., Evteev A.V. Cholera: analysis and assessment of epidemiological situation around the world and in Russia (2013–2022). Forecast for 2023. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections, 2023, no. 1, pp. 56–66. (In Russ.)*] *doi: 10.21055/0370-1069-2023-1-56-66*
8. 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., Podoynitsyna 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*
9. Титова С.В., Москвитина Э.А., Кругликов В.Д., Самородова А.В., Тюленева Е.Г., Монахова Е.В., Писанов Р.В., Водопьянов А.С., Архангельская И.В., Ковалева Т.В., Водопьянов С.О. Холера: оценка эпидемиологической обстановки в мире и России в 2006–2015 гг. прогноз на 2016 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2016. № 1. С. 20–27. [Titova S.V., Moskvitina E.A., Kruglikov V.D., Samorodova A.V., Tyuleneva E.G., Monakhova E.V., Pisanov R.V., Vodop'yanov A.S., Arkhangel'skaya I.V., Ivanova S.M., Kovaleva T.V., Vodop'yanov S.O. Cholera: Analysis of Epidemiological Situation across the World and in Russia within a Period of 2006–2015. Prognosis for 2016. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections, 2016, vol. 1, pp. 20–27. (In Russ.)*] *doi: 10.21055/0370-1069-2016-1-20-27*
10. Hao T., Zheng W., Wu Y., Yu H., Qian X., Yang C., Zheng Z., Zhang X., Guo Y., Cui M., Wang H., Pan J., Cui Y. Population genomics implies potential public health risk of two non-toxigenic Vibrio cholerae lineages. *Infect. Genet. Evol., 2023, vol. 112: 105441. doi: 10.1016/j.meegid.2023.105441*
11. Huang Y., Jia L., Tian Y., Lyu B., Qu M., Zhang X., Liu B.W., Huo D., Wu X.N., Yan H.Q., Yang P. Etiological and epidemiological characteristics of Vibrio cholerae in Beijing, 2015–2021. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi, 2022, vol. 43, no. 5, pp. 734–738. (In Chinese). doi: 10.3760/cma.j.cn112338-20220123-00064*
12. Islam A., Labbate M., Djordjevic S.P., Alam M., Darling A., Melvold J., Holmes A.J., Johura F.T., Cravioto A., Charles I.G., Stokes H.W. Indigenous Vibrio cholerae strains from a non-endemic region are pathogenic. *Open Biol., 2013, no. 3: 120181. doi: 10.1098/rsob.120181*
13. Mondal A., Tapader R., Chatterjee N.S., Ghosh A., Sinha R., Koley H., Saha D.R., Chakrabarti M.K., Wai S.N., Pal A. Cytotoxic and inflammatory responses induced by outer membrane vesicle-associated biologically active proteases from Vibrio cholerae. *Infect. Immun., 2016, vol. 84, no. 5, pp. 1478–1490. doi: 10.1128/IAI.01365-15*
14. Sakib S.N., Reddi G., Almagro-Moreno S. Environmental role of pathogenic traits in Vibrio cholerae. *J. Bacteriol., 2018, vol. 200, no. 15: e00795-17. doi: 10.1128/JB.00795-17*
15. Zeb S., Shah M.A., Yasir M., Awan H.M., Prommeenate P., Klanchui A., Wren B.W., Thomson N., Bokhari H. Type III secretion system confers enhanced virulence in clinical non-O1/non-O139 Vibrio cholerae. *Microb. Pathog., 2019, vol. 135: 103645 doi: 10.1016/j.micpath.2019.103645*

Авторы:

Монахова Е.В., д.б.н., главный научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;
Кругликов В.Д., д.м.н., начальник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;
Водопьянов А.С., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;
Гаевская Н.Е., к.м.н., директор ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия.

Authors:

Monakhova E.V., DSc (Biology), Head Researcher, Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don, Russian Federation;
Kruglikov V.D., DSc (Medicine), Head of the Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation;
Vodop'yanov A.S., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biology of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation;
Gaevskaya N.E., PhD (Medicine), Director, Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Поступила в редакцию 28.09.2024
Принята к печати 06.12.2024

Received 28.09.2024
Accepted 06.12.2024

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 582–586

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 582–586

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ *FOXO1, FOXO3* И *BECN1* В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ТЕЧЕНИИ САРКОИДОЗА ЛЕГКИХ

И.Е. Малышева[1], О.В. Балан[1], Э.Л. Тихонович[2]

[1] Институт биологии — обособленное подразделение ФГБУН Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», г. Петрозаводск, Россия
[2] Республиканская больница им. В.А. Баранова, г. Петрозаводск, Россия

Резюме. Среди семейства белков FOXO (Forkhead box O), которые наиболее исследованы и широко представлены в различных органах и тканях человека, выделяют транскрипционные факторы FOXO1 и FOXO3. Многочисленные исследования свидетельствуют о важной роли этих белков в поддержании метаболизма и гомеостаза клеток, а также в патогенезе различных патологических состояний. Вовлечение FOXO-сигнального пути в патогенез саркоидоза легких подтверждается и результатами секвенирования РНК. Активация FOXO связана с регуляцией процессов аутофагии, нарушение которых отмечается при саркоидозе легких. Это системное иммуновоспалительное заболевание неустановленной этиологии, характерным признаком которого является образование эпителиоидноклеточных гранулем в различных органах, преимущественно в легких. Цель настоящего исследования заключалась в изучении экспрессии генов FOXO1, FOXO3 и BECLN1 в лейкоцитах периферической крови больных саркоидозом легких с хроническим течением заболевания в сравнении с условно здоровыми донорами (контроль). Показано, что экспрессия генов транскрипционных факторов FOXO1 и FOXO3 значимо выше в лейкоцитах периферической крови (ЛПК) больных саркоидозом легких II стадии, при хроническом течении заболевания (стабилизация состояния), в отсутствии терапии по сравнению с контролем ($p < 0,01$ и $p < 0,001$). Содержание мРНК гена *BECN1* в лейкоцитах периферической крови больных с хроническим течением саркоидоза легких также выше по сравнению с условно здоровыми донорами. По результатам корреляционного анализа выявлена тесная положительная связь между экспрессией генов *FOXO1, FOXO3* и *BECN1.* Коэффициенты ранговой корреляции Спирмена составили 0,69 *(FOXO1/BECN1)* и 0,61 *(FOXO3/BECN1)* ($p = 0.0002$ и $p = 0.0016$ соответственно). Таким образом, у больных саркоидозом легких II стадии, без терапии, активация FOXO1/3 вероятно связана с усилением экспрессии гена BECN1, кодирующего белок аутофагии BECLIN1 (ATG6). В настоящее время установлены многочисленные молекулярно-генетические маркеры, которые вносят вклад в риск развития саркоидоза легких. Изучение молекулярных механизмов этого системного воспалительного заболевания имеет важное значение для более полного понимания патогенеза болезни. Это не только позволяет понять клиническую симптоматику, но также прогно-

Адрес для переписки:
Малышева Ирина Евгеньевна
185910, Россия, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11,
Институт биологии — обособленное подразделение
ФГБУН ФИЦ «Карельский научный центр» РАН.
Тел.: 8 (8142) 57-31-07. Факс: 8 (8142) 76-98-10.
E-mail: i.e.malysheva@yandex.ru

Contacts:
Irina E. Malysheva
185910, Russian Federation, Petrozavodsk, Pushkinskaya str., 11,
Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the RAS.
Phone: +7 (8142) 57-31-07. Fax: +7 (8142) 76-98-10.
E-mail: i.e.malysheva@yandex.ru

Для цитирования:
Малышева И.Е., Балан О.В., Тихонович Э.Л. Экспрессия генов FOXO1, FOXO3 и BECN1 в лейкоцитах периферической крови при хроническом течении саркоидоза легких // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 582–586. doi: 10.15789/2220-7619-IOF-17856

Citation:
Malysheva I.E., Balan O.V., Tikhonovich E.L. Expression of FOXO1, FOXO3 and BECN1 genes in peripheral blood leukocytes in chronic course of pulmonary sarcoidosis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 582–586. doi: 10.15789/2220-7619-IOF-17856

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания Карельского научного центра Российской академии наук (тема FMEN-2022-0009).

Financial support of the research was provided from the federal budget funds for the state assignment of the Karelian Research Center of the Russian Academy of Sciences (topic FMEN-2022-0009).

© Малышева И.Е., Балан О.В., Тихонович Э.Л., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-IOF-17856

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

зировать исход заболевания. Кроме того, расширение знаний о патогенезе способствует разработке более целенаправленных, эффективных и безопасных методов лечения саркоидоза легких с учетом индивидуальных особенностей состояния здоровья каждого пациента.

Ключевые слова: *саркоидоз легких, воспаление, транскрипционные факторы FOXO, аутофагия, экспрессия генов, FOXO1, FOXO3, BECLN1.*

EXPRESSION OF *FOXO1, FOXO3* AND *BECN1* GENES IN PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTES IN CHRONIC COURSE OF PULMONARY SARCOIDOSIS

Malysheva I.E.[a], Balan O.V.[a], Tikhonovich E.L.[b]

[a] *Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation*
[b] *V.A. Baranov Republican Hospital, Petrozavodsk, Russian Federation*

Abstract. Among the FOXO (Forkhead box O) family proteins, which are the most studied and widely represented in various human organs and tissues, transcription factors FOXO1 and FOXO3 are of special importance. Numerous studies evidence about their crucial role in maintaining cell metabolism and homeostasis, as well as in the pathogenesis of various pathological conditions. The involvement of the FOXO-signaling pathway in the pathogenesis of pulmonary sarcoidosis is also confirmed by RNA sequencing data. FOXO activation is related to the regulation of autophagy processes, the disruption of which is noted in pulmonary sarcoidosis, a systemic immunoinflammatory disease of unknown etiology, characterized by the formation of epithelioid cell granulomas in various organs, primarily in the lungs. The study was aimed at investigating expression of FOXO1, FOXO3 and BECLN1 genes in peripheral blood leukocytes from patients with chronic pulmonary sarcoidosis compared with apparently healthy donors (control). It is shown that the expression of transcription factors FOXO1 and FOXO3 genes is significantly higher in peripheral blood leukocytes (PBL) from patients with pulmonary sarcoidosis stage II, with chronic course (stabilization of the condition), in the absence of therapy compared to the control ($p < 0.01$ and $p < 0.001$). The PBL *BECN1* gene mRNA level from patients with chronic pulmonary sarcoidosis is also higher compared to control group. Correlation analysis revealed a close positive relation between the expression of *FOXO1, FOXO3* and *BECN1* genes, with Spearman rank correlation coefficients comprising 0.69 *(FOXO1/BECN1)* and 0.61 *(FOXO3/BECN1)* ($p = 0.0002$ and $p = 0.0016$, respectively). Thus, in stage II pulmonary sarcoidosis patients without therapy, FOXO1/3 activation is likely associated with upregulated BECN1 gene expression encoding the autophagy protein BECLIN1 (ATG6). Numerous molecular genetic markers that contribute to the risk of pulmonary sarcoidosis have been identified. Studying the underlying molecular mechanisms is essential to better understand the disease pathogenesis not only allowing to gain insight into the clinical symptomatology but also to predict the disease outcome. In addition, increased knowledge on pathogenesis contributes to developing more targeted, effective and safe treatment methods for pulmonary sarcoidosis, taking into account individual characteristics of each patient's health status.

Key words: *pulmonary sarcoidosis, inflammation, FOXO transcription factors, autophagy, FOXO1, FOXO3, BECLN1, gene expression.*

Введение

Транскрипционные факторы семейства Forkhead box O (FOXO) принимают участие в контроле широкого спектра клеточных процессов. Это эволюционно-консервативные белки, являющиеся ключевыми компонентами множества сигнальных путей в клетке. Они принимают участие в активации/ингибировании транскрипции нижестоящих генов-мишеней, играя важную роль в регуляции пролиферации, дифференцировки, апоптоза, роста и старения клеток и других внутриклеточных процессов [3, 14]. Белки FOXO локализуются в ядре клетки (активируют транскрипцию генов-мишеней) и перемещаются в цитоплазму под действие регуляторных механизмов [7, 9]. Их активность регулируется посттрансляционными модификациями, включая фосфорилирование, ацетилирование и убиквитинирование [14]. Показано, что белки FoxO участвуют в поддержании иммунного гомеостаза и регуляции иммунных реакций. Они играют важную роль в развитии и функционировании регуляторных Т-клеток, регуляции развития и созревания Т- и В-лимфоцитов, а также других лейкоцитов [12]. Среди белков семейства FoxO, наиболее изучены и широко экспрессируются в различных органах и тканях человека белки FOXO1 и FOXO3 [14]. Показана их значимая роль в регуляции воспалительного ответа. Указанные белки способствуют повышению экспрессии генов провоспалительных цитокинов, Toll-подобных рецепторов [14].

В настоящее время установлено, что транскрипционные факторы FOXO вовлечены в патогенез многих заболеваний, в том числе саркоидоза (болезнь Бенье–Бека–Шаумана). Это системное иммунновоспалительное заболевание неустановленной этиологии, характеризующееся образованием эпителиоидно-клеточных гранулем в различных органах, преимущественно в легких. Результаты эпидемиологических исследований и использование мышиных моделей гранулематозного заболевания свидетельствуют

о значимой роли инфекционных агентов (микобактерии, пропионобактерии) в этиологии саркоидоза легких [1, 4]. В работе Чжао и соавт. отмечено, что сигнальный путь FOXO вовлечен в патогенез данного заболевания [15]. По данным литературы, транскрипционные факторы FOXO участвуют в регуляции и дисрегуляции аутофагии [15]. Этот процесс имеет важное значение для поддержании клеточного гомеостаза, посредством удаления из клеток поврежденных органелл, агрегированных белков, внутриклеточных патогенов [2, 6]. Транскрипционные факторы FOXO (в частности, FOXO1 и FOXO3) хорошо известны как важнейшие индукторы аутофагии. Активация FOXO связана с повышением экспрессии генов аутофагии, что также регулируется белком аутофагии BECLIN 1 (Atg6). BECLIN 1 связывается с макромолекулярным комплексом, который активирует аутофагию. По данным литературы, нарушение процесса аутофагии имеет место при саркоидозе [2]. Цель настоящего исследования заключалась в изучении экспрессии генов *FOXO1, FOXO3* и *BECLN1* в ЛПК крови больных саркоидозом легких с хроническим течением заболевания и у здоровых людей.

Материалы и методы

Обследовано 44 человека (20 больных с хроническим течением саркоидоза легких, II стадия заболевания (средний возраст — 42,11±2,21)) и 24 человека из группы контроля (условно здоровые доноры) (средний возраст — 43,03±1,84). Диагноз саркоидоз легких установлен в соответствии с критериями на основе клинико-рентгенологических и лабораторных изменений. Саркоидоз у всех пациентов (100%) был верифицирован гистологически на основании исследования биоптата. Больные саркоидозом легких со стабильным течением, при отсутствии активности данного заболевания находились без терапии и не получали других видов лечения на момент проведения исследования. От всех пациентов было получено информированное согласие до проведения исследований. Критерии исключения из исследования: наличие сахарного диабета, выраженные нарушения функции внутренних органов, а также перенесенные в последний месяц инфекционные заболевания, курение табака, беременность и лактация, алкогольная зависимость, индекс массы тела ≥ 30 кг/м. Работа была выполнена с соблюдением этических норм согласно критериям Всемирной ассоциации медицинских редакторов (The World Association of Medical Editors — WAME) и одобрено локальным этическим комитетом ГБУЗ «Республиканская больница им. В.А. Баранова» г. Петрозаводска, протокол № 165 от 02.11.2023 г. Пробы периферической крови использовали в качестве материала для исследования.

Из лейкоцитов крови выделяли тотальную РНК, с помощью реагента для выделения РНК PureZol (Bio-Rad). Синтез кДНК осуществляли с помощью набора «MMLV RT kit» (Евроген, Россия). Уровень транскриптов генов *FOXO1, FOXO3, BECN1* в ЛПК оценивали с помощью

Таблица. Нуклеотидная последовательность праймеров для ПЦР-РВ
Table. Nucleotide sequence of primers for RT-PCR

Ген (№ в NCBI) Gene (No. in NCBI)	**Праймер** Primer	**Последовательность праймера 5'→3'** Primer sequence 5'→3'	**Источник** Source
18sRNA (NR_145819.1)	**Прямой** Forward	**agaaacggctaccacatcca**	**Pinto et al., 2010**
	Обратный Reverse	**caccagacttgccctcca**	
RPL19 (NM_000981.4)	**Прямой** Forward	**aatcgccaatgccaactc**	**Собственный дизайн** Own design
	Обратный Reverse	**ccttccgcttacctatgc**	
FOXO1 (NM_002015.4)	**Прямой** Forward	**aacagccaccactctatcatc**	**Собственный дизайн** Own design
	Обратный Reverse	**gcaccaagttcagttacatacc**	
FOXO3 (NM_001455.4)	**Прямой** Forward	**tgagtgagaggcaatagcatac**	**Собственный дизайн** Own design
	Обратный Reverse	**agcacctatacagcaccataac**	
BECN1 (NM_004849.4)	**Прямой** Forward	**gctgccgttatactgttctgg**	**Собственный дизайн** Own design
	Обратный Reverse	**cctcctgtgtcttcaatcttgc**	

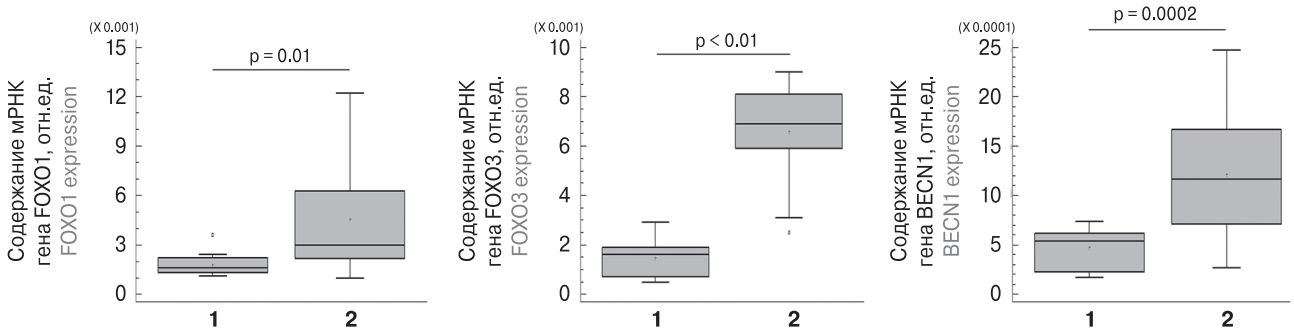


Рисунок. Уровень транскриптов генов *FOXO1, FOXO3* и *BECN1* в лейкоцитах периферической крови пациентов с хроническим течением саркоидоза легких (2) и в контрольной группе (1)

Figure. *FOXO1, FOXO3* and *BECN1* gene expression in peripheral blood leukocytes of patients with chronic pulmonary sarcoidosis (2) and in controls (1)

полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ), используя наборы «qPCRmix-HS SYBR» (Евроген, Россия). Гены *18sRNA* и *RPL19* были выбраны в качестве референсных. Для каждого образца ПЦР-РВ проводили не менее трех раз. Конструирование праймеров осуществляли в программе Beacon Designer 5.0. Нуклеотидная последовательность праймеров представлена в табл.

Статистическая обработка данных проведена в программе StatGraphics Centurion XVI версия 16.1.11. Достоверность различий уровня транскриптов гена между группами оценивали с помощью непараметрического критерия U Вилкоксона–Манна–Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Результаты и обсуждение

Представителей семейства FOXO объединяет наличие в структуре белков высококонсервативного ДНК-связывающего домена Forkhead (FKH). В его составе есть уникальная вставка из пяти аминокислотных остатков, что делает их более дивергентной группой белков семейства Fox [10]. FoxO являются нижестоящими мишенями сигнального пути фосфоинозитид-3-киназы (PI3K)/Akt и играют важную роль в регуляции клеточного цикла, включая пролиферацию, рост, апоптоз, экспрессию белков-антиоксидантов и белков аутофагии [5]. Согласно результатам исследований, в ЛПК пациентов с хроническим течением саркоидоза легких, без терапии, значимо повышена экспрессия мРНК генов транскрипционных факторов FOXO1 и FOXO3 по сравнению с контролем ($p < 0,01$ и $p < 0,001$) (рис.).

По данным литературы, FOXO3 может действовать на свой собственный промотор, промотор гена *FOXO1*, а также связываться с промоторами генов аутофагии, индуцируя их экспрессию. При этом отмечается транслокация FOXO3 из цитоплазмы в ядро клетки [5]. Согласно полученным нами данным, в лейкоцитах периферической крови больных саркоидозом легких отмечено достоверное повышение уровня транскриптов гена *BECN1* по сравнению с контролем, $p = 0,0002$ (рис.). По результатам корреляционного анализа выявлена тесная положительная связь между экспрессией генов *FOXO1, FOXO3* и *BECN1.* Коэффициенты ранговой корреляции Спирмена составили 0,69 *(FOXO1/BECN1)* и 0,61 *(FOXO3/BECN1)* ($p = 0,0002$ и $p = 0,0016$, соответственно). Активация FOXO1/FOXO3, вероятно, связана с усилением экспрессии гена BECN1 (ATG6), который является важным регулятором процессов аутофагии. BECN1 взаимодействует с ATG14L и фосфатидилинозитол-3-фосфат-киназами Vps34 и Vps15, образуя белковый комплекс, который индуцирует образование фосфатидилинозитол-3-фосфата (PI3P), участвуя в мембране зарождающегося фагофора [8, 11].

Таким образом, по результатам исследований, у больных саркоидозом легких II стадии, при хроническом течении заболевания (стабилизация состояния, без терапии), в лейкоцитах периферической крови значимо повышена экспрессия генов транскрипционных факторов FOXO и аутофагии.

Заключение

В настоящее время установлены многочисленные молекулярно-генетические маркеры, которые вносят вклад в развитие саркоидоза легких. Более полное понимание патогенеза данного заболевания, имеет важное значение для разработки более эффективных и безопасных методов лечения.

Список литературы/References

1. Визель А.А., Гурылева М.Э. Потенциальные инфекционные триггеры при саркоидозе // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2002. Т. 4, № 4. С. 313–324. [Vizel A.A., Gurileva M.E. Potential Infectious Triggers in Sarcoidosis. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy, 2002, vol. 4, no. 4, pp. 313–324. (In Russ.)*]
2. Adouli J., Fried A., Swier R., Ghio A., Petrache I., Tilley S. Cellular Recycling Gone Wrong: The Role of Dysregulated Autophagy and Hyperactive mTORC1 in the Pathogenesis of Sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis., 2023, vol. 40, no. 2: e2023016. doi: 10.36141/svdld.v40i2.13498*
3. Carter M.E., Brunet A. FOXO transcription factors. *Curr. Biol., 2007, vol. 17, no. 4, pp. R113–R114. doi: 10.1016/j.cub.2007.01.008*
4. Chen E., Moller D. Etiologies of Sarcoidosis. *Clin. Rev. Allergy Immunol., 2015, vol. 49, no. 1, pp. 6–18. doi: 10.1007/s12016-015-8481-z*
5. Cheng Z. The FoxO-Autophagy Axis in Health and Disease. *Trends Endocrinol. Metab., 2019, vol. 30, no. 9, pp. 658–671. doi: 10.1016/j.tem.2019.07.009*
6. Deretic V. Autophagy in inflammation, infection, and immunometabolism. *Immunity., 2021, vol. 54, no. 3, pp. 437–453. doi: 10.1016/j.immuni.2021.01.018*
7. Guo X., Peng K., He Y., Xue L. Mechanistic regulation of FOXO transcription factors in the nucleus. *Biochim. Biophys. Acta Rev. Cancer, 2024, vol. 1879, no. 2: 189083. doi: 10.1016/j.bbcan.2024.189083*
8. Kang R., Zeh H.J., Lotze M.T., Tang D. The Beclin 1 network regulates autophagy and apoptosis. *Cell Death Differ., 2011, vol. 18, no. 4, pp. 571–580. doi: 10.1038/cdd.2010.191*
9. Lasick K.A., Jose E., Samayoa A.M., Shanks L., Pond K.W., Thorne C.A., Paek A.L. FOXO nuclear shuttling dynamics are stimulus-dependent and correspond with cell fate. *Mol. Biol. Cell., 2023, vol. 34, no. 3: ar21. doi: 10.1091/mbc.E22-05-0193*
10. Obsil T., Obsilova V. Structure/function relationships underlying regulation of FOXO transcription factors. *Oncogene., 2008, vol. 27, no. 16, pp. 2263–2275. doi: 10.1038/onc.2008.20*
11. Ohashi Y. Activation Mechanisms of the VPS34 Complexes. *Cells., 2021, vol. 10, no. 11: 3124. doi: 10.3390/cells10113124*
12. Peng S.L. Forkhead transcription factors in chronic inflammation. *Int. J. Biochem. Cell Biol., 2010, vol. 42, no. 4, pp. 482–485. doi: 10.1016/j.biocel.2009.10.013*
13. Pinto J., Dias V., Zoller H., Porto G., Carmo H., Carvalho F., de Sousa M. Hepcidin messenger RNA expression in human lymphocytes. *Immunology., 2010, vol. 130, no. 2, pp. 217–230. doi: 10.1111/j.1365-2567.2009.03226.x*
14. Wang Y., Zhou Y., Graves D.T. FOXO transcription factors: their clinical significance and regulation. *Biomed. Res. Int., 2014, vol. 2014: 925350. doi: 10.1155/2014/925350*
15. Zhao M., Tian C., Di X., Cong S., Cao Y., Zhou X., Wang K. Systematic and Comprehensive Analysis of tRNA-Derived Small RNAs Reveals Their Potential Regulatory Roles and Clinical Relevance in Sarcoidosis. *J. Inflamm. Res., 2023, vol. 16, no. 1, pp. 2357–2374. doi: 10.2147/JIR.S406484*

Авторы:

Малышева И.Е., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории генетики Института биологии — обособленного подразделения ФГБУН ФИЦ Карельский научный центр РАН, г. Петрозаводск, Россия;

Балан О.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории генетики Института биологии — обособленного подразделения ФГБУН ФИЦ Карельский научный центр РАН, г. Петрозаводск, Россия;

Тихонович Э.Л., к.м.н., зав. отделением респираторной терапии Республиканской больница им. В.А. Баранова, г. Петрозаводск, Россия.

Authors:

Malysheva I.E., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Genetics, Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation;

Balan O.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Genetics, Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russian Federation;

Tikhonovich E.L., PhD (Medicine), Head of the Respiratory Therapy Department, V.A. Baranov Republican Hospital, Petrozavodsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 28.01.2025
Принята к печати 18.05.2025

Received 28.01.2025
Accepted 18.05.2025

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 587–591

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 587–591

HEPATITIS B SURFACE ANTIGEN PREVALENCE IN PREGNANT WOMEN BEFORE AND AFTER NATIONAL VACCINATIONS

Hedayati F., Lotfi S., Ebrahimi P., Javanian M., Bayani F., Darbandi Z., Bayani M.

Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

Abstract. *Background*. Hepatitis B in pregnant mothers can pose a risk to both the mother and the baby. If left untreated or undiagnosed, hepatitis B can be passed from mother to child during childbirth, leading to chronic hepatitis B infection in the baby. However, with proper prenatal care, including testing and vaccination, the risk of transmission can be significantly reduced. This study investigates the hepatitis B surface antigen (HBsAg) prevalence in pregnant women before and after the start of the national hepatitis B vaccination plan. *Materials and methods*. This cross-sectional study was conducted on all pregnant mothers in Babol County who gave birth between 2018 and 2020. Then the mothers' information, including a history of vaccination, place of residence, and HBsAg status, was recorded and checked through the online system and their health records. The obtained data were analyzed using SPSS software version 22 and were displayed as frequency and percentage. Qualitative variables were analyzed with Chi-square tests. Finally, with the logistic regression model, we investigated the effect of variables on hepatitis. In all tests, P-value less than 0.05 is significant. *Results*. The prevalence of positive HBsAg among 11 282 pregnant women in Babol city was 61 (0.5%). The prevalence rate among vaccinated and unvaccinated mothers was 8 (0.2%) and 53 (0.7%), respectively, and this difference was statistically significant ($p = 0.001$). The Prevalence of positive HBsAg among city and village residents was 26 people (0.4%) and 35 people (0.7%), respectively, and this difference was not significant ($p = 0.07$). Also, rural ($p = 0.02$, OR = 1.82, 95%CI: 1.08–302) and unvaccinated ($p < 0.001$, OR = 3.79, 95%CI: 1.79–8.01) mothers had a higher chance of contracting hepatitis B. *Conclusion*. The results indicated that national hepatitis B vaccination in newborns has notably decreased infection rates in future childbearing women. Hepatitis B is a preventable disease through vaccination. The vaccine has demonstrated both safety and high immunogenicity. It is crucial to maintain the immunization of newborns and adhere to the screening guidelines for pregnant mothers as outlined in the national program.

Key words: *hepatitis B antigens, pregnant women, hepatitis B vaccines, prevalence, immunity, neonate.*

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПОВЕРХНОСТНОГО АНТИГЕНА ГЕПАТИТА В У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН ДО И ПОСЛЕ СТАРТА НАЦИОНАЛЬНЫХ ПРОГРАММ ВАКЦИНАЦИЙ

Хедаяти Ф., Лотфи С., Эбрахими П., Яваниан М., Баяни Ф., Дарбанди З., Баяни М.

Бабольский университет медицинских наук, г. Баболь, Иран

Введение. Гепатит В у беременных матерей может представлять риск как для матери, так и для ребенка. Если его не лечить или не диагностировать, вирус гепатита В (ВГВ) может передаваться от матери к ребенку во время родов, что приводит к хронической ВГВ-инфекции у ребенка. Однако при надлежащем дородовом уходе, включая тестирование и вакцинацию, риск передачи может быть значительно снижен. В приводимом исследовании изучается распространенность поверхностного антигена гепатита В (HBsAg) у беременных женщин

Адрес для переписки:
Масоме Баяни
Бабольский университет медицинских наук, г. Баболь, Иран.
Тел.: 09113112559.
E-mail: rohanresearch88@gmail.com; m_baiany@yahoo.com

Contacts:
Masomeh Bayani
Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran.
Phone: 09113112559.
E-mail: rohanresearch88@gmail.com; m_baiany@yahoo.com

Для цитирования:
Хедаяти Ф., Лотфи С., Эбрахими П., Яваниан М., Баяни Ф., Дарбанди З., Баяни М. Распространенность поверхностного антигена гепатита В у беременных женщин до и после старта национальных программ вакцинаций // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 587–591. doi: 10.15789/2220-7619-HBS-15617

Citation:
Hedayati F., Lotfi S., Ebrahimi P., Javanian M., Bayani F., Darbandi Z., Bayani M. Hepatitis B surface antigen prevalence in pregnant women before and after national vaccinations // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 587–591. doi: 10.15789/2220-7619-HBS-15617

© Hedayati F. et al., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-HBS-15617

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

до и после старта национального плана вакцинации против гепатита B. *Материалы и методы.* Проведенное поперечное исследование включало всех беременных женщин в округе Баболь, родивших в период с 2018 по 2020 г. Затем информация о матерях, включая историю вакцинации, место жительства и статус HBsAg, была записана и проверена через онлайн-систему и их медицинские карты. Полученные данные были проанализированы с помощью программного обеспечения SPSS версии 22 и представлены как частота и процентное содержание. Качественные переменные были проанализированы с помощью теста хи-квадрат. Наконец, с помощью модели логистической регрессии исследовалось влияние переменных на гепатит. Во всех тестах значение $p < 0,05$ принято, как статистически достоверное. *Результаты.* Распространенность положительного HBsAg среди 11282 беременных женщин в городе Баболь составила 61 (0,5%). Показатель распространенности среди вакцинированных и невакцинированных матерей составил 8 (0,2%) и 53 (0,7%) соответственно, и эта разница была статистически значимой ($p = 0,001$). Распространенность положительного HBsAg теста среди жителей города и деревни составила 26 человек (0,4%) и 35 человек (0,7%) соответственно ($p = 0,07$). Кроме того, у сельских ($p = 0,02$, ОШ = 1,82, 95% ДИ: 1,08–302) и невакцинированных ($p < 0,001$, ОШ = 3,79, 95% ДИ: 1,79–8,01) матерей риск заражения гепатитом B был выше. *Вывод.* Результаты показали, что национальная вакцинация новорожденных от гепатита B значительно снизила уровень инфицирования у будущих матерей. Гепатит B является заболеванием, которое можно предотвратить с помощью вакцинации. Вакцина продемонстрировала как безопасность, так и высокую иммуногенность. Крайне важно поддерживать иммунизацию новорожденных и придерживаться рекомендаций по скринингу беременных женщин, отраженных в национальной программе.

Ключевые слова: *антигены гепатита B, беременные женщины, вакцины против гепатита B, распространенность, иммунитет, новорожденные.*

Introduction

The World Health Organization (WHO) predicted that in 2019, 296 million people were infected with chronic hepatitis B, and 1.5 million new cases were registered yearly [22]. Viral hepatitis is also estimated to cause 1.34 million deaths annually, 96% of which are caused by long-term consequences and chronicity. Viral hepatitis is also estimated to cause 1.34 million deaths annually, 96% of which are caused by long-term consequences and chronicity [17, 21]. The prevalence rate of HBV among pregnant Iranian mothers is between 0.35 and 6.5%, which is essential considering horizontal and vertical transmission from mother to baby [6, 21]. According to previous studies, children born to infected mothers have between a 70% and 90% chance of being infected with HBV before birth [4].

HBV vaccine was created in 1980, and in 1991, according to the recommendation of the World Health Organization, all countries, especially countries with endemic areas of this disease, included the hepatitis B vaccine in their routine newborn immunization program. This action led to a significant reduction in disease incidence [13, 18]. HBV vaccination has been routinely performed for infants and high-risk groups since 1993 and for adults since 2007. It is believed that this vaccination changes the epidemiological pattern of HBV infection, especially in children and adolescents, and these effects are now seen in young iranians. Continuous monitoring of this infection and risk factors is essential for better health planning [10]. Since 2007, vaccination was also carried out in Iran for adolescents under 18 years of age [18]. Recombinant hepatitis B vaccines are available to applicants free of charge in primary care centers [16]. Despite receiving it, 5–20% vaccine failure has been reported among individuals with varying levels of response or non-response to HBV vaccination [11].

Studies have shown that various factors such as the type of vaccine, vaccination time, genetic background, age, weight, smoking, and alcohol consumption can be involved in the effectiveness of the hepatitis B vaccine [1, 7, 9]. Considering the importance of this issue, in the present study, we try to investigate the prevalence of hepatitis B surface antigen as a parameter to evaluate the vaccine's effectiveness in pregnant women.

Materials and methods

Study design and setting. This cross-sectional study was conducted on all women who gave birth in urban and rural centers of Babol County during 2018–2020.

Participants and variables. The inclusion criteria included all women who gave birth in Babol County from 3/21/2018 to 3/19/2020. The exclusion criteria included the lack of sufficient information about the items in the checklist and delivery at home and outside health centers.

After receiving the code of ethics by referring to the online system for registering the births of pregnant mothers during the mentioned years, we prepared a pre-arranged checklist for all urban and rural centers of Babol County. We collected the necessary information, which included vaccination history, place of residence, and HBsAg.

It is worth mentioning that the national vaccination plan for hepatitis B started in Iran at the begin-

Table 1. Frequency of demographic information of pregnant women and their relationship with HBsAg

Variables		Frequency (%) N = 11 282	HBsAg		P-value*
			Positive N = 61	Negative N = 11 221	
Place of living	**Urban**	3071 (53.8)	26 (42.6)	6045 (53.8)	0.001
	Rural	5211 (46.2)	35 (57.4)	5176 (46.2)	
HBV Vaccination history	**Yes**	3852 (34.1)	8 (13.1)	3844 (34.2)	0.07
	No	7430 (65.9)	53 (86.9)	7377 (65.8)	

Note. *Independent T-test.

ning of April 1993, and it was mandatory for all babies born after this date. Therefore, all mothers born after 3/21/1993 were vaccinated, and mothers born before this date were unvaccinated.

Statistical analysis. The obtained data were analyzed using SPSS software version 22 and were displayed as frequency and percentage. Qualitative variables were analyzed with Chi-square tests. Finally, with the logistic regression model, we investigated the effect of variables on hepatitis. In all tests, P-value less than 0.05 is significant.

Results

In this study, 11282 pregnant women gave birth in two years in urban and rural centers of Babol city. Considering that hepatitis B vaccination started at the beginning of April 1993, all mothers born after this year were considered vaccinated, which was nearly a third of our samples. Among vaccinated mothers, eight people (0.2%), and among unvaccinated mothers, 53 people (0.7%) were HBsAg positive. The difference between these groups is statistically significant ($p = 0.001$). Nevertheless, in the investigation of the correlation between the place of residence and HBsAg, it was found that 26 (0.4%) of the urban mother and 35 (0.7%) of the rural mother were positive for HBsAg, and this difference was not statistically significant ($p = 0.07$) (Table 1).

Next, the variables of vaccination history and residence were entered separately in the logistic regression model using the Enter method. Being rural and not having a vaccination history significantly predict HBV contacting (Table 2).

Discussion

In the present study, less than one percent of the mothers who gave birth had positive HBsAg. The frequency of HBsAg varies in different parts of the world. The highest prevalence rates in the Western Pacific and Africa were 6.2% and 6.1% of the population, respectively, but the Eastern Mediterranean, Southeast Asia, and Europe had lower prevalence rates In Iran, different studies have reported different frequencies, from 2.2 to 3 percent of hepatitis B, and according to the reports of these studies, Golestan province has the highest prevalence rate. Kermanshah, Kurdistan, and Mazandaran provinces have the lowest Prevalence of hepatitis B, respectively [16, 15, 12]. During the last two decades, there has been an epidemiological shift among pregnant women, especially in Mazandaran province. The first epidemiological report of HBV infection among pregnant women in Mazandaran province was conducted in 2008 among 1219 pregnant women who had been referred to 27 hospitals in 14 cities of Mazandaran province in 2000–2001 [2]. In Bayani et al.'s study, only 2 cases (0.18%) of 1065 pregnant women were positive for HBsAg [5]. In our study, the Prevalence of HBV is almost the same to this study. Also, in another study in 2017, the prevalence rate of hepatitis B among pregnant women in Mazandaran province was reported as 0.47% [3], which comparison of these results shows that the rate of hepatitis B among pregnant women in Babol is low.

Also, the results are consistent with our study conducted by Safar et al. in 2014 on the youth of the eastern region of Mazandaran [14], in which 224 people (39.47%) among 510 young people had anti-HBS positive. However, no results of positive HBsAg and symptomatic hepatitis were seen. Based on this study, neonatal HBV provides long-term protection and is very effective in reducing the rate of chronic HBV infection among vaccinated young people in Iran. In the current study, eight people (0.2%) were positive for HBsAg, possibly due to vaccine failure due to age [13]. Also, Gil Klinger et al.'s study has shown that following anti-HBS-Ab vaccination, it gradually decreased, and only one-third of the population maintained a protective level after 15 years, which can be a justification for the positivity of HBsAg in the vaccinated mothers in the present study [8].

According to the findings of our study, a significant relationship was found between the place of living or HBV vaccination history and HBsAg positivity. Also, Not having a history of vaccination and being rural were independent predictors of HBV infection. National hepatitis B vaccination was effective in reducing HBsAg infection in reproductive age.

Table 2. Logistic regression to calculate predictive variables in hepatitis B variables

Variables	OR	95% CI	P-value
Place of living (rural)	1.82	1.08–3.02	0.02
HBV Vaccination history (no)	3.79	1.79–8.01	< 0.001

Note. *Independent T-test; OR; Odds Ratio, CI; Confidence Interval.

Our study shows that its prevalence has increased significantly, which calls for further investigation to find appropriate causes and preventative measures. our finding is consistent with the study conducted by Staneva Tsankova et al. in 2016 among pregnant women in the Varna region of Bulgaria. Data analysis showed that rural residence was one of the critical risk factors for hepatitis B in pregnant women compared to urban residents [19]. Also, the study by Feng Wang et al. in 2019 showed that the prevalence of positive HBsAg was 1.2% in urban areas and 2.4% in rural areas [20]. Also, this study showed that the HBsAg positive Prevalence in both urban and rural populations decreased significantly over time from 2002 to 2015, which is consistent with our study.

Conclusion

According to our results, the prevalence of hepatitis B among pregnant women vaccinated at birth was significantly lower than among unvaccinated mothers, which indicated the effectiveness of the national hepatitis B vaccination plan among the general population, especially pregnant mothers. Also, two of the most crucial risk factors for HBV infection are being rural and not having a vaccination history.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Deputy for Research and Technology of Babol University of Medical Sciences and Rouhani hospital Clinical Research Development Unit for their support.

Additional information

Funding. This research did not receive any specific grant.

Availability of data and materials. All relevant data are within the paper however, any question or other file data is required you can contact us using the email address, upon reasonable request.

Ethics approval. This study is approved under the ethical approval code of IR.MUBABOL.HRI.REC.1398.325

Consent for publication. The authors declare that they have no competing interests.

Authors' Contribution. Concept and design: Mostafa Javanian, Masomeh Bayani; data collection, writing of the draft: Faeghe Hedayati, Sam Lotfi, Pouyan Ebrahimi, Zeinab Darbandi.

All authors read and approved the final manuscript.

References

1. Alimonos K., Nafziger A.N., Murray J., Bertino J.S. Jr. Prediction of response to hepatitis B vaccine in health care workers: whose titers of antibody to hepatitis B surface antigen should be determined after a three-dose series, and what are the implications in terms of cost-effectiveness? *Clin. Infect. Dis., 1998, vol. 26, no. 3, pp. 566–571. doi: 10.1086/514575*
2. Amini S., Andalibi Mahmoudabadi S., Taghavinejad F., Joulaie M., Farahani M., Hekmat S. Transplacental Transmission of Hepatitis B Virus in Mazandaran Province of Iran. *Iran. J. Virol., 2008, vol. 2, no. 3–4, pp. 14–18.*
3. Badfar G., Shohani M., Nasirkandy M.P., Mansouri A., Abangah G., Rahmati S., Azami M., Soleymani A., Mohammadi M., Gholami F., Mahmoudi L., Khatony A. Epidemiology of hepatitis B in pregnant Iranian women: a systematic review and meta-analysis. *Arch. Virol., 2018, vol. 163, no. 2, pp. 319–330. doi: 10.1007/s00705-017-3551-6*
4. Batayneh N., Bdour S. Risk of perinatal transmission of hepatitis B virus in Jordan. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol., 2002, vol. 10, no. 3, pp. 127–132. doi: 10.1155/S1064744902000121*
5. Bayani M., Biazar T., Hasanjani R.M., Bayani F., Siadati S. The effect of hepatitis B vaccination at birth on reducing the prevalence of hepatitis B surface antigen among rural pregnant women in Babol, Iran. *N. U. Monthly, 2016. doi: 10.5812/numonthly.37878*
6. Herman A., Bullen C., Finau S., Ofanoa M. Mobilising Pacific people for health: insights from a hepatitis B screening program in Auckland, New Zealand. *Pac. Health Dialog., 2006, vol. 13, no. 2, pp. 9–15.*
7. Jafarzadeh A., Khoshnoodi J., Ghorbani S., Mohaghegh Hazrati S., Faraj Mazaheri B., Shokri F. Differential Immunogenicity of A Recombinant Hepatitis B Vaccine in Iranian Neonates: Influence of Ethnicity and Environmental Factors. *Iran. J. Immunol., 2004, vol. 1, no. 2, pp. 98–104.*
8. Klinger G., Chodick G., Levy I. Long-term immunity to hepatitis B following vaccination in infancy: Real-world data analysis. *Vaccine, 2018, vol. 36, no. 17, pp. 2288–2292. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.03.028*
9. Koike Y., Yoo Y.C., Mitobe M., Oka T., Okuma K., Tono-oka S., Saito S., Sato K., Sato S., Sato Y. Enhancing the activity of mycobacterial cell-derived adjuvants on the immunogenicity of recombinant human hepatitis B virus vaccine. *Vaccine, 1998, vol. 16, no. 20, pp. 1982–1989. doi: 10.1016/s0264-410x(98)00084-x*
10. Merat S., Rezvan H., Nouraie M., Jamali J., Assari S., Abolghasemi H., Pourshams A., Malekzadeh R. The prevalence of hepatitis B surface antigen and anti-hepatitis B core antibody in Iran: a population-based study. *Arch. Iran. Med., 2009, vol. 12, no. 3, pp. 225–231.*
11. Milich D.R., Leroux-Roels G.G. Immunogenetics of the response to HBsAg vaccination. *Autoimmun. Rev., 2003, vol. 2, no. 5, pp. 248–257. doi: 10.1016/s1568-9972(03)00031-4*
12. Mohammadi Z., Keshtkar A., Eghtesad S., Jeddian A., Pourfatholah A.A., Maghsudlu M., Amini Kafi-Abad S., Abolghasemi H. Epidemiological profile of hepatitis B virus infection in Iran in the past 25 years; a systematic review and meta-analysis of general population studies. *Middle East J. Dig. Dis., 2016, vol. 8, no. 1, pp. 5–18. doi: 10.15171/mejdd.2016.01*
13. Rezaee R., Aghcheli B., Poortahmasebi V., Qorbani M., Alavian S.M., Jazayeri S.M. Prevalence of national responsiveness to HBV vaccine after 22 years of Iranian expanded program on immunization (EPI): a systematic review and meta-analysis study. *Hepat. Mon., 2015, vol. 15, no. 5: e23618. doi: 10.5812/hepatmon.15(04)2015.23618*

14. Saffar H., Ajami A., Saffar M.J., Shojaei J., Sotudeh-Anvari M., Shams-Esfandabad K., Khalilian A.R., Saffar M.J. Prevalence of hepatitis B virus ser o markers in young adults vaccinated at birth; impact on the epidemiology of hepatitis B infection in Iran. *Hepat. Mon., 2014, vol. 14, no. 5: e17263. doi: 10.5812/hepatmon.17263*
15. Salehi-Vaziri M., Sadeghi F., Hashiani A.A., Fesharaki M.G., Alavian S.M. Hepatitis B virus infection in the general population of Iran: an updated systematic review and meta-analysis. *Hepat. Mon., 2016, vol. 16, no. 4: e35577. doi: 10.5812/hepatmon.35577*
16. Shoghli A., Nabavi S.M., Alavian S.M., Kolifarhood G., Goya M.M., Namazi R., Sharifi H., Eshrati B., Haghdoost A.A. Hepatitis B surface antigen prevalence in pregnant women: a cross-sectional survey in Iran. *Int. J. Prev. Med., 2014, vol. 5, suppl. 3, pp. S213–S217.*
17. Somi M.H., Khayatzadeh S., Nalbandy M., Naghashi S., Nikniaz Z. Estimating the incidence rate of hepatitis B and C in East Azerbaijan, Islamic Republic of Iran. *East. Mediterr. Health J., 2020, vol. 26, no. 7, pp. 803–809. doi: 10.26719/emhj.19.077*
18. Tazhibi M., Hajivandi A., Tafti A.D., Fallahzadeh H. The efficacy of hepatitis B vaccine in Iranian population: a systematic review and meta-analysis. *J. Educ. Health Promot., 2014, vol. 3: 53. doi: 10.4103/2277-9531.134741*
19. Tsankova G.S., Kostadinova T., Todorova T.T. Seroprevalence of Hepatitis B among pregnant women in Varna Region, Bulgaria. *J. Med. Virol., 2016, vol. 11, no. 88, pp. 2012–2018. doi: 10.1002/jmv.24543*
20. Wang F., Kang W., Zhou W., Su Q., Bi S., Qiu F., Li Q. Investigation of the risk factors associated with the failure of hepatitis B vaccination of neonates in Yunnan province, China. *Int. J. Infect. Dis., 2018, vol. 77, pp. 90–95. doi: 10.1016/j.ijid.2018.09.026*
21. WHO. Hepatitis B [Internet] 2020 [cited 2020 Nov 2]. *URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b*
22. WHO. Hepatitis B [Internet] 2022 [cited 2022 July 27]. *URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b*

Авторы:
Хедаяти Ф., Студенческий исследовательский комитет, Бабольский университет медицинских наук, г. Баболь, Иран;
Лотфи С., Студенческий исследовательский комитет, Бабольский университет медицинских наук, г. Баболь, Иран;
Эбрахими П., Студенческий исследовательский комитет, Бабольский университет медицинских наук, г. Баболь, Иран;
Яваниан М., доцент исследовательского центра инфекционных заболеваний и тропической медицины, Научно-исследовательский институт здравоохранения, Бабольский университет медицинских наук, г. Баболь, Иран;
Баяни Ф., главный врач, проректор по здравоохранению, Бабольский университет медицинских наук, г. Баболь, Иран;
Дарбанди З., Студенческий исследовательский комитет, Бабольский университет медицинских наук, г. Баболь, Иран;
Баяни М., профессор исследовательского центра инфекционных заболеваний и тропической медицины, Научно-исследовательский институт здравоохранения, Бабольский университет медицинских наук, г. Баболь, Иран.

Authors:
Hedayati F., Student Research Committee, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran;
Lotfi S., Student Research Committee, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran;
Ebrahimi P., Student Research Committee, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran;
Javanian M., Associate Professor of Infectious Disease, Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran;
Bayani F., General Doctor (MPH), Health Vice-Chancellor, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran;
Darbandi Z., Student Research Committee, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran;
Bayani M., Professor of Infectious Disease, Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran.

Поступила в редакцию 31.07.2023
Принята к печати 02.06.2025

Received 31.07.2023
Accepted 02.06.2025

Инфекция и иммунитет
2025, Т. 15, № 3, с. 592–596

Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2025, vol. 15, no. 3, pp. 592–596

РЕДКИЙ СЛУЧАЙ КРИПТОКОККОЗА ЛЕГКИХ У ПАЦИЕНТА С СИНДРОМОМ ВИСКОТТА–ОЛДРИЧА НА ФОНЕ ЗАРАЖЕНИЯ ШТАММОМ FLiRT

О.В. Альпидовская

ФГОУ ВО Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, Россия

Резюме. Новый подвид FLiRT не представляет собой большую опасность, чем предыдущие вариации коронавирусной инфекции, наоборот, новый штамм обладает более низкой патогенностью, хотя и отличается высокой степенью заразности. В статье описывается редкий случай криптококкоза легких у пациента с синдромом Вискотта–Олдрича на фоне заражения штаммом FLiRT. Больной Г.П., 31 лет в течение нескольких часов находился на стационарном лечении. Поступил по экстренным показаниям с жалобами на боль в груди при вдохе, сухой кашель, повышение температуры тела до 38°С. Из анамнеза заболевания известно, что пациент болен около двух недель. В последние несколько дней, до госпитализации, отмечал повышение температуры тела до 37,3–38,1°С, усилился кашель. В связи с этим вызвал скорую помощь и был доставлен в приемное отделение для диагностики и лечения. В детском возрасте был выставлен диагноз «Синдром Вискотта–Олдрича». В последние годы жалоб со стороны внутренних органов не предъявлял. По данным эпидемиологического анамнеза выявлено, что пациент за 2 недели до начала заболевания не выезжал в эндемичные регионы, не имел контакта с людьми, подозрительными на инфицирование SARS-CoV-2, или больными, у которых диагноз был подтвержден лабораторно. В общем анализе крови лейкоцитоз, лимфопения, увеличение прокальцитонина до 4 нг/мл. На компьютерной томографии органов грудной клетки выявлялись признаки интерстициальной пневмонии и мелкие очаги (2–7 мм) в окружающей легочной паренхиме. Несмотря на начатое лечение внезапно начался кашель с выделением розоватой мокроты и наступил летальный исход. На аутопсии отмечалось чередование умеренно воздушных альвеол с очаговыми эмфизематозными альвеолами. В просвете альвеол определялась лейкоцитарная инфильтрация, отечная жидкость, на межальвеолярных перегородках фокусы гранулем с криптококками, лимфогистиоцитами, макрофагами и единичными многоядерными гигантскими клетками. *Заключение.* На основании патологоанатомического исследования и описании одного из представленных случаев, можно предположить, что новый штамм FLiRT в сочетании с *Cryptococcus neoformans* способны привести к тяжелой форме заболевания.

Ключевые слова: *штамм FLiRT, пневмония, криптококкоз, морфология.*

Адрес для переписки:
Альпидовская Ольга Васильевна
428015, Россия, г. Чебоксары, Московский пр., 15,
ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет
им. И.Н. Ульянова.
Тел.: 8 927 858-05-18 (моб.).
E-mail: olavorobeva@mail.ru

Contacts:
Olga V. Alpidovskaya
428045, Russian Federation, Cheboksary, Moskovskii pr., 15,
I.N. Ulyanov Chuvash State University.
Phone: +7 927 858-05-18 (mobile).
E-mail: olavorobeva@mail.ru

Для цитирования:
Альпидовская О.В. Редкий случай криптококкоза легких у пациента с синдромом Вискотта–Олдрича на фоне заражения штаммом FLiRT // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, № 3. С. 592–596. doi: 10.15789/2220-7619-ARC-17846

Citation:
Alpidovskaya O.V. A rare case of pulmonary cryptococcosis in a patient with Wiskott–Aldrich syndrome infected with FLiRT COVID variant // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2025, vol. 15, no. 3, pp. 592–596. doi: 10.15789/2220-7619-ARC-17846

© Альпидовская О.В., 2025

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-ARC-17846

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

A RARE CASE OF PULMONARY CRYPTOCOCCOSIS IN A PATIENT WITH WISKOTT–ALDRICH SYNDROME INFECTED WITH FLiRT COVID VARIANT

Alpidovskaya O.V.

Chuvash State University after I.N. Ulyanova, Cheboksary, Russian Federation

Abstract. The new COVID FLiRT vs. previous variant does not pose a greater danger; on the contrary, the new strain has a lower pathogenicity, although it is highly contagious. The article describes a rare case of pulmonary cryptococcosis in a patient with Wiskott-Aldrich syndrome co-infected with the FLiRT strain. Case description. Patient G.P., 31 years old, was in hospital for several hours. He was admitted for emergency indications with complaints of inhale chest pain, dry cough, and body temperature increased to 38°C. It is known from the medical history that the patient had been ill for about two weeks. In the last few days, before hospitalization, he noted a rise in body temperature to 37.3–38.1°C, and his cough worsened. In this regard, he called an ambulance and was taken to the emergency room for diagnosis and treatment. In childhood, he was diagnosed with Wiskott-Aldrich syndrome. In recent years, he presented no complaints from the internal organs. According to the epidemiological history, it was revealed that the patient did not travel to endemic regions 2 weeks before the onset of the disease, nor contact with people suspected of being infected with SARS-CoV-2, or patients whose diagnosis was confirmed by laboratory tests. A general blood test revealed leukocytosis, lymphopenia, an increase in procalcitonin to 4 ng/ml. Computed tomography of the chest organs revealed signs of interstitial pneumonia and small foci (2–7 mm) in the surrounding lung parenchyma. Despite the treatment started, a cough with discharged pinkish sputum suddenly began and death occurred. Autopsy showed alternation of moderately airy alveoli with focal emphysematous alveoli. In the lumen of the alveoli, leukocyte infiltration, edematous fluid, foci of granulomas with cryptococci, lymphohistiocytes, macrophages and single multinucleated giant cells were determined, on the interalveolar septa. *Conclusion.* Based on the pathological examination and the description of one of the presented cases, it can be assumed that the new COVID FLiRT variant in combination with *Cryptococcus neoformans* can lead to a severe form of the disease.

Key words: *strain FLiRT, pneumonia, Cryptococcus neoformans, morphology*

Введение

После относительного уменьшения случаев заражения инфекцией в теплые месяцы, количество инфицированных SARS-CoV-2 [1, 2, 3, 4, 5, 6] снова увеличивается из-за штамма коронавируса из числа «Омикрона» — FLiRT. Новый подвид FLiRT не представляет собой большую опасность, чем предыдущие вариации коронавирусной инфекции, наоборот, новый штамм обладает более низкой патогенностью, хотя и отличается высокой степенью заразности [5], что связано с изменениями в структуре спайкового (S) белка, которые позволяют вирусу легче проникать в клетки организма и быстрее распространяться внутри него. Клинические признаки заболевания, обусловленного FLiRT, имеют сходство с симптомами ОРВИ. Тем не менее у людей, которые находятся в группе риска, оно нередко может протекать в тяжелой форме, особенно у некоторых пациентов с наследственными заболеваниями [1, 2, 3, 4]. Синдром Вискотта–Олдрича — редкое заболевание, проявляющееся недостаточностью гуморального и клеточного иммунитета [7]. Болезнь может протекать бессимптомно или проявлятся хроническими рецидивирующими микробными воспалительными заболеваниями, геморрагическим синдромом и экземой.

Криптококк *(Cryptococcus neoformans)* часто вызывает инвазивный микоз легких у взрослых с иммунодефицитными состояниями. Может поражать и здоровых взрослых людей, но гораздо реже и в менее тяжелой форме: у здоровых носителей могут отсутствовать симптомы или они могут быть слабо выраженными. В настоящей статье описан редкий случай криптококкоза легких у пациента с синдромом Вискотта–Олдрича на фоне заражения штаммом FLiRT.

Материалы и методы

Представлены данные истории болезни и результаты патологоанатомического исследования.

Описание клинического случая

Больной Г.П., 31 лет в течение нескольких часов находился на стационарном лечении в Бюджетном учреждении Чувашской Республики «Больница скорой медицинской помощи» Министерства здравоохранения Чувашской Республики.

Поступил по экстренным показаниям с жалобами на боль в груди при вдохе, сухой кашель, повышение температуры тела до 38°С.

Анамнез заболевания. Болен около двух недель. Пациента беспокоил незначительный сухой кашель. В амбулаторных условиях применял амброксол. В последние несколько дней, до госпитализации отмечал повышение температуры тела до 37,3–38,1°С, усиление кашля. В связи с этим вызвал скорую помощь и был доставлен в приемное отделение для диагностики и лечения.

Анамнез жизни. В детском возрасте на основании проведенного молекулярно-генетического анализа и выявления делеции гена WASP

больному был поставлен диагноз «Синдром Вискотта–Олдрича» . Клинически была выявлена геморрагическая сыпь, в анализе крови — амегакариоцитарная тромбоцитопения. В детстве проходил лечение по основному заболеванию с положительной динамикой. В последние годы жалоб со стороны внутренних органов не предъявлял.

Эпидемиологический анамнез. Пациент за 2 недели до начала заболевания не выезжал в эндемичные регионы, не имел контакта с людьми, подозрительными на инфицирование SARS-CoV-2, или больными, у которых диагноз был подтвержден лабораторно.

Объективно: общее состояние тяжелое. При аускультации выслушивалось ослабленное дыхание, влажные мелкопузырчатые хрипы, число дыхательных движений — 24 в минуту, SaO_2 — 56%. Сердечно-сосудистая система: тоны сердца приглушены, глухие, ЧСС — 90 ударов в минуту. АД — 110/70 мм рт. ст. Оценка состояния по шкале NEWS2 составляла — 11 баллов.

Проведенные обследования. Общий анализ крови: лейкоциты: 21,6 (3,39–8.86) × 10^9/л, нейтрофилы: 13 (1,50–5,00) × 10^9/л, лимфоциты: 0,5 (1,05–2,87) × 10^9/л, СОЭ: 56,0 (0,0–35,0) мм/час.

Коагулограмма: D-димер: 477,00 (0,00–440,00) нг/мл, АЧТВ: 22 (23,0–34,7) с, Протромбиновый индекс: 126,4 (80,0–125,0)%, Фибриноген: 4,1 (1,6–4,0) г/л. Прокальцитонин: 4 (0–0,064) нг/мл.

По данным компьютерной томографии органов грудной клетки (КТ ОГК), в обоих легких на фоне диффузного снижения воздушности легочной паренхимы по типу «матового стекла» выявлены очаги инфильтрации (65%). В окружающей легочной паренхиме рассеянно определялись мелкие очаги (2–7 мм).

Диагноз COVID-19 был подтвержден при исследовании назофарингеального мазка методом ПЦР.

Несмотря на начатое лечение (моксифлоксацин и ванкомицин, криоплазменно-антиферментный комплекс (свежезамороженная плазма (1000 мл), гепарин (20 000 ЕД), ингибиторы протеаз (200 000 ЕД), ИВЛ внезапно начался кашель с выделением розоватой мокроты, клокочущее дыхание и наступил летальный исход.

Клинический диагноз: Основное заболевание: Новая коронавирусная инфекция (COVID-19), тяжелое течение. Осложнения основного заболевания: Двусторонняя интерстициальная пневмония (степень поражения — 65%). ОРДС. Отек легких. Сопутствующее заболевание: синдром Вискотта–Олдрича. Труп отправлен на секционное исследование.

На аутопсии — легкие с наружной поверхности красно-серого цвета, тестовато-отечной консистенции. С поверхности разреза с обильным геморрагически-пенистым содержимым; в нижних отделах легкие темно-синюшно-красного цвета, плотные, с мелкими очагами в легочной паренхиме. При микроскопическом исследовании отмечалось чередование умеренно воздушных альвеол с очаговыми эмфизематозными альвеолами. Межальвеолярные перегородки неравномерно утолщены за счет полнокровия. В просвете альвеол очагово-распространенно лейкоцитарная инфильтрация (рис. 1А), отечная жидкость, гемосидерофаги; в единичных полях зрения на межальвеолярных перегородках фокусы гранулем с криптококками (рис. 1В), лимфогистиоцитами, макрофагами и единичными многоядерными гигантскими клетками. Сосуды полнокровные.

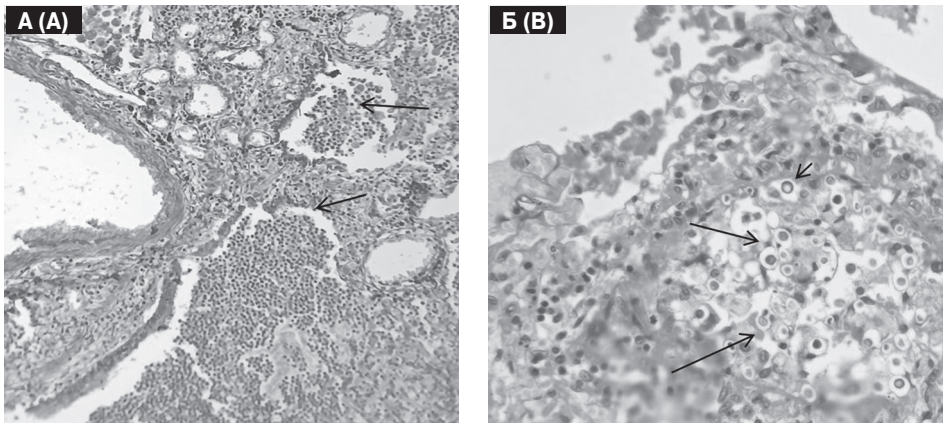


Рисунок. Микроскопические изменения в легких: А. В альвеолах скопление нейтрофильной инфильтрации (черные стрелки); Б. Гранулема с криптококками (черные стрелки). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: А. ×100; Б. ×400

Figure. Microscopic changes in the lungs: A. Accumulation of neutrophilic infiltration in the alveoli (black arrows); B. Granuloma with cryptococci (black arrows). Stained with hematoxylin. Magnification: A. ×100; B. ×400

Результат вирусологического исследования секционного материала («Центр гигиены и эпидемиологии в Чувашской Республике-Чувашии». Лаборатория вирусологических исследований и диагностики особо опасных инфекций»): выявлен штамм FLiRT в ткани легких. Результат микробиологического исследования ткани легкого (лаборатория БУ «Городская клиническая больница № 1» Минздрава Чувашии): массивный рост *Cryptococcus neoformans*.

Патологоанатомический диагноз: Основное заболевание: Новая коронавирусная инфекция (COVID-19), тяжелое течение. Осложнения основного заболевания: Двусторонняя вирусная интерстициальная пневмония. Криптококковая инфекция с поражением легких. Осложнения основного заболевания: ОРДС. Отек легких. Сопутствующий: синдром Вискотта–Олдрича.

Обсуждение

Согласно данным литературы, степень тяжести иммунных нарушений у лиц с синдромом Вискотта–Олдрича вариабельна. В большинстве случаев формируется комбинированный иммунодефицит с недостаточностью Т-лимфоцитов [7], в редких случаях возможно благоприятное течение болезни. Частыми осложнениями являются отиты, синуситы, менингиты, а также инфекции, обусловленные *H. simplex*, CMV, EBV [7]. В 40–70% случаев развиваются аутоиммунные заболевания (гломерулонефрит, васкулит, аутоиммунная гемолитическая анемия, тромбоцитопения), у 13–22% больных — злокачественные новообразования (лейкоз, лимфома, EBV-ассоциированная опухоль головного мозга).

По мере накопления статистических данных о влиянии COVID-19 на организм человека ученые рассматривают новую коронавирусную инфекцию как системное заболевание, затрагивающее не только дыхательную, сердечно-сосудистую, желудочно-кишечную, кроветворную, но и иммунную системы. Согласно статистике, лимфопения при коронавирусе выявляется примерно у 83% пациентов. При этом стойкое снижение лимфоцитов после коронавируса в крови отмечается даже через 4–11 недель после выздоровления. По мнению ученых, вирус SARS-CoV-2 имеет сильное влияние на лимфоциты и приводит к длительным дисфункциям. Таким образом, коронавирусная инфекция ослабляет иммунитет на длительный срок, и даже после полного выздоровления от COVID-19 организм человека будет более восприимчив к различного рода инфекциям [8]. Вероятно, у пациента после заражения штаммом FLiRT присоединилось криптококковое поражение легких с формированием гранулем с наличием криптококков, лимфогистиоцитов, многоядерных гигантских клеток. Гигантские клетки инородных тел образуются под воздействием IL-4 и IL-13, выделяемых TH2, или Т-хелперами, и тучными клетками. Появление этих клеток указывает о развитии продуктивного воспаления с образованием гранулем.

На основании патологоанатомических исследований и описании одного из представленных случаев, можно предположить, что новый штамм FLiRT в сочетании с *Cryptococcus neoformans* способны привести к тяжелой форме заболевания.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование отсутствует.

Список литературы/References

1. Альпидовская О.В. Случай развития острого инфаркта миокарда правого желудочка с миомаляцией и тампонадой сердца после повторного инфицирования SARS-CoV-2 у пациента с синдромом Лоеса–Дитца // Профилактическая медицина. 2024. Т. 27, № 7. С. 73–76. [Alpidovskaya O.V. A case of acute myocardial infarction of right ventricle with myomalacia and tamponade development after SARS-CoV-2 re-infection in the Loeys–Dietz syndrome patient. *Profilakticheskaya meditsina = Russian Journal of Preventive Medicine, 2024, vol. 27, no. 7, pp. 73–76. (In Russ.)*] *doi: 10.17116/profmed20242707173*
2. Альпидовская О.В. Острая расслаивающая аневризма аорты с разрывом у пациента с синдромом Нунана после повторного инфицирования SARS-CoV-2 // Профилактическая медицина. 2024. Т. 27, № 8. С. 73–75. [Alpidovskaya O.V. Acute dissecting aortic aneurysm with rupture in a patient with Noonan syndrome following SARS-CoV-2 re-infection. *Profilakticheskaya meditsina = Russian Journal of Preventive Medicine, 2024, vol. 27, no. 8, pp. 73–75. (In Russ.)*] *doi: 10.17116/profmed20242708173*
3. Белых Н.А., Глотова И.А., Деева Ю.В., Пизнюр И.В. Семейный случай синдрома Вискотта–Олдрича // Вестник Авиценны. 2024. Т. 26, № 4. С. 700–709. [Belykh N.A., Glotova I.A., Deeva YuV., Piznyur I.V. A familial case of Wiskott–Aldrich syndrome. *Vestnik Avitsenny = Avicenna Bulletin, 2024, vol. 26, no. 4, pp. 700–709. (In Russ.)*] *doi: 10.25005/2074-0581-2024-26-4-700-709*
4. Воробьева О.В., Ласточкин А.В. Патоморфологические изменения в органах при COVID-19 // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 587–590. [Vorobeva O.V., Lastochkin A.V. Organ-specific pathomorphological changes during COVID-19. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 587–590. (In Russ.)*] *doi: 10.15789/2220-7619-PCI-1483*

5. Коронавирус FLiRT: симптомы, последствия и лечение нового штамма // РБК Тренды. Дата публикации: 29.05.2024. [Coronavirus FLiRT: symptoms, consequences and treatment of the new strain. RBC Trends. Publication date: 29.05.2024. *(In Russ.)*] *URL: https://trends.rbc.ru/trends/social/664f5eae9a79470647d28ee6*
6. Юсов А.А., Альпидовская О.В., Гималдинова Н.Е., Романова Л.П. Случай летального исхода у пациента с синдромом Элерса–Данло после повторного инфицирования COVID-19 // Профилактическая медицина. 2024. Т. 27, № 1. С. 7275. [Yusov A.A., Alpidovskaya O.V., Gimaldinova N.E., Romanova L.P. A fatal case in a patient with Ehlers–Danlo syndrome after re-infection with COVID-19. *Profilakticheskaya meditsina = Russian Journal of Preventive Medicine, 2024, vol. 27, no. 1, pp. 7275. (In Russ.)*] *doi: 10.17116/profmed20242701172*
7. Hou X., Sun J., Liu C., Hao J. Case report: Wiskott–Aldrich syndrome caused by extremely skewed X-chromosome inactivation in a Chinese girl. *Front. Pediatr., 2021, vol. 9: 691524. doi: 10.3389/fped.2021.691524*
8. New COVID Variant: FliRT. *Continental Hospitals. Publication date: 17.05.2024. URL: https://continentalhospitals.com/blog/new-covid-variant-flirt*

Автор:

Альпидовская О.В., к.м.н., доцент, доцент кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВО Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, Россия.

Author:

Alpidovskaya O.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of General and Clinical Morphology and Forensic Medicine, I.N. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary, Russian Federation.

Поступила в редакцию 09.01.2025
Принята к печати 18.05.2025

Received 09.01.2025
Accepted 18.05.2025

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. Appletion & 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, kDa 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, нарисуночные 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»**.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Альпидовская О.В. ... 592
Апт А.С. ... 431
Афиногенова А.Г. ... 505
Бабайкина О.Н. ... 415
Балан О.В. ... 582
Башкетова Н.С. ... 517
Бугоркова С.А. ... 568
Бурак М.Ю. ... 446
Буц Л.В. ... 517
Бычкова Н.В. ... 489
Водопьянов А.С. ... 575
Гаевская Н.Е. ... 575
Глинская Е.В. ... 505
Горбунова А.Ю. ... 517
Данилова Е.М. ... 517
Дрозд И.В. ... 517
Егорова С.А. ... 517
Ежлова Е.Б. ... 517
Жимбаева О.Б. ... 517
Заиченко И.Е. ... 415
Зубова К.В. ... 505
Иванова А.Р. ... 517
Калашникова А.А. ... 489
Каленова Л.Ф. ... 543
Каневский М.В. ... 505
Касторнов А.А. ... 543
Клюева С.Н. ... 568
Кожевников В.А. ... 568
Кондратенко О.В. ... 505
Кондратьева Е.В. ... 431
Кондратьева Т.К. ... 431
Костоломова Е.Г. ... 543
Кравцов А.Л. ... 568
Кругликов В.Д. ... 575
Кубарь О.И. ... 409
Кузнецова В.А. ... 505
Куркова Е.В. ... 415
Лысакова Е.В. ... 446
Малышева И.Е. ... 582
Мельникова А.А. ... 517
Миличкина А.М. ... 517
Монахова Е.В. ... 575
Навроцкий М.Б. ... 446
Нечаева О.В. ... 505
Останкова Ю.В. ... 517
Петров С.А. ... 543
Попкова М.И. ... 476
Попова А.Ю. ... 517
Ракитянская И.А. ... 489
Рейнгардт Д.Э. ... 517
Рыбцов С.А. ... 446
Сахарнов Н.А. ... 476
Светлова М.В. ... 415
Суслов Н.А. ... 476
Суховей Ю.Г. ... 543
Талаев В.Ю. ... 415
Тихонович Э.Л. ... 582
Тотолян А.А. ... 517
Уткин О.В. ... 476
Филатова Е.Н. ... 476
Щемелев А.Н. ... 517
Arsentieva N.A. ... 529
AzhdaryMoghaddam Ye. ... 551
Bayani F. ... 587
Bayani M. ... 587
Chayeb V.A. ... 559
Darbandi Z. ... 587
Dedkov V.G. ... 559
Dolgova A.S. ... 559
Ebrahimi P. ... 587
Elezov D.S. ... 529
Hedayati F. ... 587
Jalambadani Z. ... 551
Javanian M. ... 587
Kannika Parameshwari K. ... 536
Khatibi S.A.Ak. ... 551
Korobova Z.R. ... 529
Kudryavtsev I.V. ... 529
Lotfi S. ... 587
Mehdipour A. ... 465
Mohammad Hassan K.N. ... 465
Ravanshad Ya. ... 551
Samadi K. ... 551
Shabalina A.V. ... 559
Shirobokova S.A. ... 559
Smiline Girija A.S. ... 536
Sukhikh I.S. ... 559
Supreeta M.S. ... 536
Totolian A.A. ... 529
Vijayashree Priyadharsini J. ... 536
Zeraati Ab.A. ... 551
Zeraati T. ... 551

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

адаптивные NK ... 489
активация нейтрофилов ... 568
антитела ... 517
аутофагия ... 582
биоинформационный анализ ... 575
вакцинация ... 446
вакциноуправляемые инфекции ... 517
вакцины ... 415
ВГЧ6В ... 476
вирус гепатита Е ... 517
вирусный гепатит Е ... 517
возрастные патологии ... 446
воспаление ... 582
вторичные экзометаболиты бактерий рода *Bacillus* ... 543
ВЭБ-инфекция ... 489
генетическая нестабильность ... 446
генетический контроль ... 431
геновариант ... 476
гены вирулентности ... 505
гранулема ... 431
динамика инфекции ... 431
доверие ... 409
забота ... 409
иммунное истощение ... 431
иммунные клетки ... 431
ингибитор обратной транскриптазы ... 446
инфекционный мононуклеоз ... 476
инфекция ... 415
клинические симптомы ... 476
клональные комплексы ... 575
когортное исследование ... 517
криптококкоз ... 592
лабораторные показатели ... 476
Ленинградская область ... 517
миграция ... 415
микроорганизмы многолетнемерзлых пород ... 543
молекулярно-генетическое разнообразие ... 476
мононуклеозоподобный синдром ... 476
морфология ... 592
муковисцидоз ... 505
население ... 517
нетоз ... 568
нетоксигенные штаммы ... 575
нравственный кодекс ... 409
онковирусы ... 446
острые кишечные инфекции ... 575
ответственность в клинических исследованиях ... 409
пневмония ... 592
полногеномное секвенирование ... 575
популяционный иммунитет ... 517
постковидный синдром ... 568
потеря этики клинических исследований ... 409
проточная цитометрия ... 568
профилактическая медицина ... 446
ретровирусы ... 446
ретроэлементы ... 446
Санкт-Петербург ... 517
сапрофитные бактерии ... 505
саркоидоз легких ... 582
сенесцентность ... 446
серопревалентность ... 517
содержание внеклеточной ДНК в крови ... 568
справедливость ... 409
температура ... 543
тканевые резидентные Т-клетки памяти ... 415
транскрипционные факторы FOXO ... 582
трогоцитоз ... 489
туберкулез ... 431
уважение ... 409
факторы патогенности ... 575
факторы регуляции дифференцировки лимфоцитов ... 543
ферментативная активность бактерий ... 505
ЦМВ-инфекция ... 489
штамм FLiRT ... 592
экспрессия генов ... 582
этика партнерства ... 409
A. baumannii ... 536
bacterial infection ... 465
B-cells ... 529
BECLN1 ... 582
BKV infection ... 551
CD19^{+} NK-клетки ... 489
CD25 ... 543
CD4^{+}CD25^{hi}CD127^{-} Treg ... 543
CD56^{+}CD19^{+dim} ... 489
CD69 ... 543
CD8^{+} Т-клетки ... 415
co-infection ... 465
COVID-19 ... 568
CXCR3 ... 529
diagnostics ... 559
Flavobacteriales ... 505
flow cytometry ... 529
FOXO1 ... 582
FOXO3 ... 582
Hendra virus ... 559
Henipavirus ... 559
hepatitis B antigens ... 587
hepatitis B vaccines ... 587
hepatitis C ... 529
herpes simplex virus ... 465
HLA-DR Т-лимфоциты ... 543
host microbial interactions ... 465
immunity ... 587
liver fibrosis ... 529
neonate ... 587
Nipah virus ... 559
pgaABCD ... 536
pneumonia ... 536
pregnant women ... 587
prevalence ... 587
public health ... 465
renal failure ... 551
RT-qPCR ... 559
TaqMan probes ... 559
transplant rejection ... 551
transplanted kidney ... 551
ventilator-associated pneumonia ... 536
Vibrio cholerae O1 ... 575
viral infections ... 465
viral load ... 529
virulence ... 536
Weeksellaceae ... 505

Иллюстрация к статье «Взаимодействия между вирусными и бактериальными патогенами в развитии инфекций: обзор с акцентом на вирус простого герпеса» (авторы: М.Х. Калантар Нейестанаки, А. Мехдипур) (с. 465–475)

Illustration for the article “The interaction between viral and bacterial infections: a comprehensive review focusing on Herpes Simplex Virus (HSV)” (authors: Kalantar Neyestanaki M.H., Mehdipour A.) (pp. 465–475)

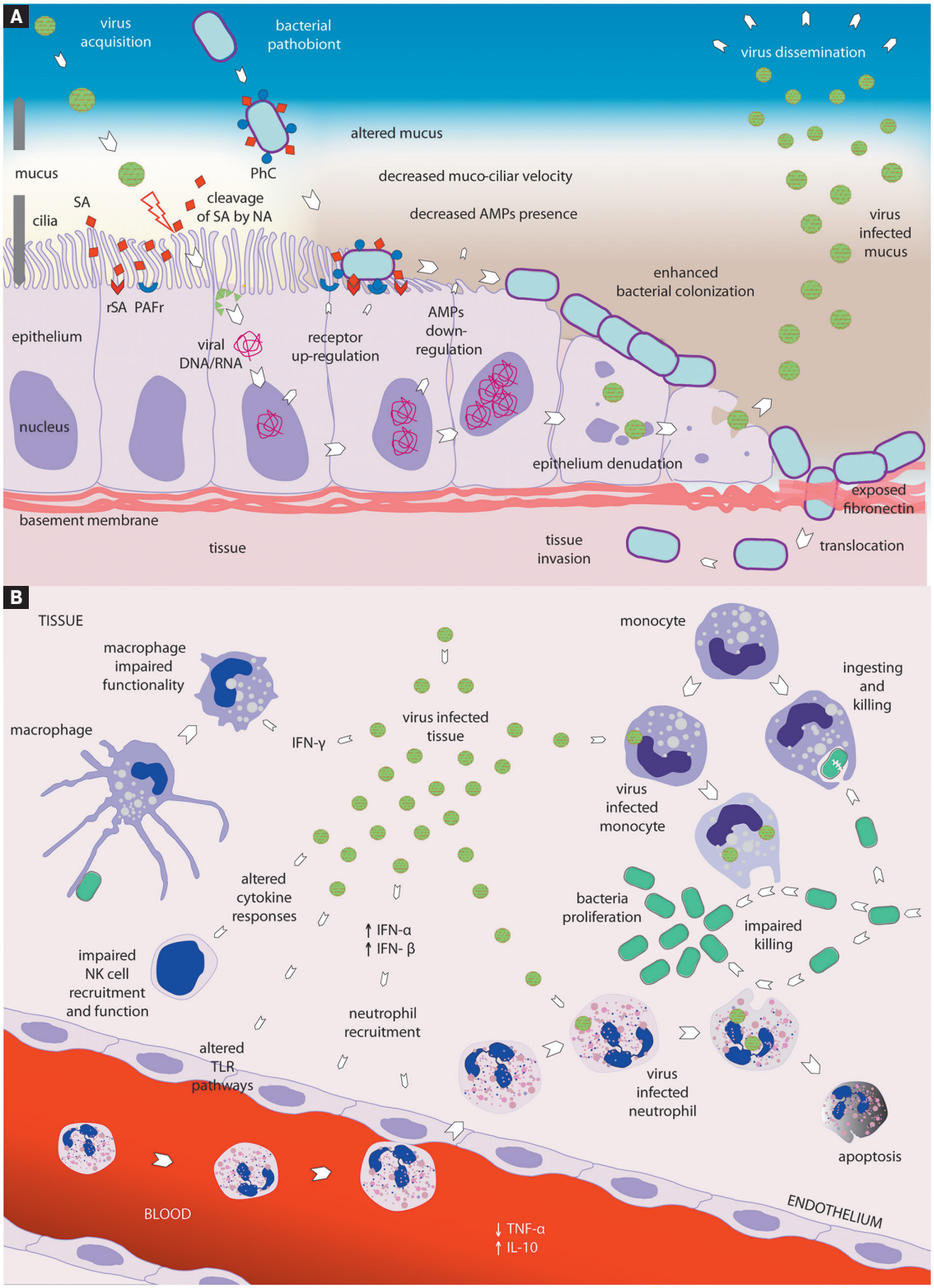


Figure 2. Two main aspects of viral-bacterial interactions

Note. (A) Interaction on the respiratory epithelial surface: Viruses can make the respiratory tract more vulnerable to bacterial colonization by damaging mucosal surfaces, reducing ciliary function, and compromising epithelial integrity. Infected cells may also decrease antimicrobial peptide expression and expose bacterial receptors through neuraminidase activity. Additionally, viruses can directly or indirectly enhance bacterial colonization by upregulating receptors required for bacterial adherence. (B) Interaction with the host immune system: Viral infections can alter immune function, favoring bacterial invasion. This includes reducing the recruitment and functionality of NK cells and impairing neutrophil recruitment and function. Viral-induced interferons may also affect macrophage activity and decrease pro-inflammatory cytokine levels, leading to impaired immune responses to bacterial infections [4].

Подписной индекс:
Урал-Пресс – 41392

ISSN 2220-7619