

ISSN 2541-9420 (Print)
ISSN 2587-9596 (Online)

16+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

TOM 7
№ 5-1
2022



ISSN 2541-9420 (Print)
ISSN 2587-9556 (Online)



ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Tom 7
№ 5-1
2022

Главный редактор

Колесников С.И., академик РАН (РФ, Иркутск – Москва)

Зам. главного редактора

Рычкова Л.В., член-корр. РАН (РФ, Иркутск)

Сорокинов В.А., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

Щуко А.Г., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

Ответственный секретарь

Жовкля Н.А. (РФ, Иркутск)

Редакционная коллегия

Аль-Джефут М., доктор медицины, профессор (Иордания, Карак)

Балахонов С.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

Григорьев Е.Г., член-корр. РАН (РФ, Иркутск)

Грибовский А.М., д.м.н., профессор (РФ, Архангельск)

Колесникова Л.И., академик РАН (РФ, Иркутск)

Мадаева И.М., д.м.н. (РФ, Иркутск)

Малов И.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

Никитенко Л.Л., д.б.н. (Великобритания, Оксфорд)

Нямдаваа К., академик Монгольской академии медицинских наук (Монголия, Улан-Батор)

Савилов Е.Д., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

Семёнова Н.В., д.б.н. (РФ, Иркутск)

Сычёв Д.А., академик РАН (РФ, Москва)

Хавинсон В.Х., академик РАН (РФ, Санкт-Петербург)

Шпрах В.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

Юрьева Т.Н., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск)

Янагихара Р., доктор наук, профессор (США, Гавайи)

Редакционный совет

Айзман Р.И., д.б.н. (РФ, Новосибирск); Атшабар Б.Б., д.м.н., профессор (Казахстан, Алматы); Белокриницкая Т.Е., д.м.н., профессор (РФ, Чита); Бохан Н.А., академик РАН (РФ, Томск); Бывальцев В.А., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск); Данчинова Г.А., д.б.н. (РФ, Иркутск); Дубровина В.И., д.б.н. (РФ, Иркутск); Дыгай А.М., академик РАН (РФ, Томск); Ковров Г.В., д.м.н. (РФ, Москва); Колосов В.П., академик РАН (РФ, Благовещенск); Константинов Ю.М., д.б.н., профессор (РФ, Иркутск); Кривошапки А.Л., член-корр. РАН (РФ, Москва); Кудлай Д.А., член-корр. РАН (РФ, Москва); Макаров Л.М., д.м.н., профессор (РФ, Москва); Малышев В.В., д.м.н., профессор (РФ, Калининград); Манчук В.Т., член-корр. РАН (РФ, Красноярск); Огарков О.Б., д.м.н. (РФ, Иркутск); Осипова Е.В., д.б.н., профессор (РФ, Иркутск); Петрова А.Г., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск); Плеханов А.Н., д.м.н. (РФ, Улан-Удэ); Погодина А.В., д.м.н. (РФ, Иркутск); Протопопова Н.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск); Савченков М.Ф., академик РАН (РФ, Иркутск); Сутурина Л.В., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск); Сэргэлэн О., д.м.н. профессор (Монголия, Улан-Батор); Уварова Е.В., д.м.н., профессор (РФ, Москва); Хохлов А.Л., член-корр. РАН (РФ, Ярославль); Эпштейн О.И., член-корр. РАН (РФ, Москва); Янг Ионгхонг, иностранный член РАН (Китай, Пекин).

Авторы опубликованных материалов несут ответственность за подбор и точность приведённых фактов, цитат, статистических данных и прочих сведений, а также за то, что в материалах не содержится данных, не подлежащих открытой публикации.

Мнение автора может не совпадать с мнением редакции.

Адрес издателя и редакции: 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16. ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ.

Тел.: (3952) 20-90-48.

<http://actabiomedica.ru>

E-mail: journalirk@gmail.com

Журнал «Acta Biomedica Scientifica» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (РОСКОМНАДЗОР). Свидетельство о регистрации СМИ – ПИ № ФС 77–69383 от 06 апреля 2017 г.

До апреля 2017 г. журнал имел название «Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской Академии медицинских наук» (Бюллетень ВСНЦ СО РАМН). Основан в 1993 году.

Соучредители – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ) (664003, Иркутская обл., г. Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16), Федеральное государственное бюджетное учреждение «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (ИНЦХТ) (664003, Иркутская обл., г. Иркутск, ул. Борцов Революции, д. 1), Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С. Н. Фёдорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Фёдорова» Минздрава России) (127486, г. Москва, Бескудниковский б-р, д. 59А).

Журнал включён в Реферативный журнал и базу данных ВИНТИ. Сведения о журнале публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory». Журнал индексируется в таких базах данных, как РИНЦ, Scopus, DOAJ и др.

Журнал «Acta Biomedica Scientifica» входит в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёной степени кандидата и доктора наук».

Подписной индекс 243447. Свободная цена.

ISSN 2541–9420 (Print)

ISSN 2587–9596 (Online)

Ключевое название: Acta Biomedica Scientifica

ISSN 2541-9420 (Print)
ISSN 2587-9556 (Online)



ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Vol. 7
N 5-1
2022

Chief Editor

Kolesnikov S.I., Member of RAS (Russia, Irkutsk – Moscow)

Deputy Chief Editor

Rychkova L.V., Corresponding Member of RAS (Russia, Irkutsk)

Sorokovikov V.A., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Shchuko A.G., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Executive secretary

Zhovklaya N.A. (Russia, Irkutsk)

Editorial board

Al-Jefout M., MD, Professor (Jordan, Karak)

Balakhonov S.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Grigoryev E.G., Corresponding Member of RAS (Russia, Irkutsk)

Grzhibovskii A.M., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Arkhangelsk)

Kolesnikova L.I., Member of RAS (Russia, Irkutsk)

Madaeva I.M., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Irkutsk)

Malov I.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Nikitenko L.L., Dr. Sc. (Biol.) (UK, Oxford)

Nyamdavaa K., Member of Mongolian Academy of Sciences (Mongolia, Ulaanbaatar)

Savilov E.D., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Semenova N.V., Dr. Sc. (Biol.) (Russia, Irkutsk)

Sychev D.A., Member of RAS (Russia, Moscow)

Khavinson V.Kh., Member of RAS (Russia, Saint Petersburg)

Shprakh V.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Iureva T.N., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Yanagihara R., MD, Professor (USA, Hawaii)

Editorial Council

Aizman R.I., Dr. Sc. (Biol.) (Russia, Novosibirsk); Atshabar B.B., Dr. Sc. (Med.), Professor (Kazakhstan, Almaty); Belokrinitskaya T.E., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Chita); Bokhan N.A., Member of RAS (Russia, Tomsk); Byvaltsev V.A., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk); Danchinova G.A., Dr. Sc. (Biol.) (Russia, Irkutsk); Dubrovina V.I., Dr. Sc. (Biol.) (Russia, Irkutsk); Dygai A.M., Member of RAS (Russia, Tomsk); Kovrov G.V., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Moscow); Kolosov V.P., Member of RAS (Russia, Blagoveshchensk); Konstantinov Yu.M., Dr. Sc. (Biol.), Professor (Russia, Irkutsk); Krivoshepin A.L., Corresponding Member of RAS (Russia, Moscow); Kudlay D.A., Corresponding Member of RAS (Russia, Moscow); Makarov L.M., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Moscow); Malyshev V.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Kaliningrad); Manchouk V.T., Corresponding Member of RAS (Russia, Krasnoyarsk); Ogarkov O.B., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Irkutsk); Osipova E.V., Dr. Sc. (Biol.), Professor (Russia, Irkutsk); Petrova A.G., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk); Plekhanov A.N., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Ulan-Ude); Pogodina A.V., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Irkutsk); Protopopova N.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk); Savchenkov M.F., Member of RAS (Russia, Irkutsk); Suturina L.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk); Sergelen O., Dr. Sc. (Med.), Professor (Mongolia, Ulaanbaatar); Uvarova E.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Moscow); Khokhlov A.L., Corresponding Member of RAS (Russia, Yaroslavl); Epshtein O.I., Corresponding Member of RAS (Russia, Moscow); Yang Yonghong, Foreign Member of the RAS (China, Beijing).

The authors of the published articles account for choice and accuracy of the presented facts, quotations, historical data and other information; the authors are also responsible for not presenting data which are not meant for open publication.

Authors and the Editorial Board's opinions may not coincide.

Address of publisher and editorial board: SC FHHRP. 16 Timiryazev str., Irkutsk, Russia, 664003

Tel. (3952) 20-90-48.

<http://actabiomedica.ru> E-mail: journalirk@gmail.com

Acta Biomedica Scientifica is registered in Federal Service of Supervision in communication sphere, information technologies and mass media (ROSKOMNADZOR). Certificate of Mass Media Registration – PI No FS 77-69383 from 06 April 2017.

Previous title changed after April 2017 – “Bulletin of Eastern-Siberian Scientific Center of Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences”.

Acta Biomedica Scientifica has been founded in 1993.

Co-founders – Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (16 Timiryazev str., Irkutsk, Russia, 664003), Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (1 Bortsov Revolyutsii str., Irkutsk, Russia, 664003), S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (59A Beskudnikovskiy blvd, Moscow, 127486).

Acta Biomedica Scientifica is in Abstract Journal and Data base of All-Russian Institute of Scientific and Technical Information. Information about our journal is published in Ulrich's Periodicals Directory. The journal is indexed in Russian Science Citation Index (Russian platform), Scopus, DOAJ, etc.

Acta Biomedica Scientifica is included in «List of Russian reviewed scientific periodicals where main scientific results of dissertations for a degree of Candidate and Doctor of Science should be published».

Subscription index is 24347 in Russia. Open price.

ISSN (Print) 2541-9420

ISSN (Online) 2587-9596

Key title: Acta Biomedica Scientifica

ПРЕДИСЛОВИЕ ЗАМЕСТИТЕЛЯ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE

ПРЕДИСЛОВИЕ ЗАМЕСТИТЕЛЯ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА К № 5-1 (2022)

**Рычкова
Любовь Владимировна**

**д.м.н., профессор,
член-корреспондент РАН**

Уважаемые читатели!

Представляем вашему вниманию новый номер нашего журнала. В этот раз он будет состоять из двух томов. В первом собраны статьи, опубликованные в рамках проведённой V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии», состоявшейся 27–28 октября 2022 года в г. Иркутск.

Открывает первый том данного номера передовая статья из Института биологического приборостроения с опытным производством Российской академии наук – обособленного подразделения ФГБУН ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН» (Пушино), в которой осуществлён систематический поиск пептидных и белковых лигандов человеческого сывороточного альбумина, способных модулировать его взаимодействие с β -амилоидным пептидом. Отобранные авторами пептидные и белковые кандидаты подлежат экспериментальной проверке в отношении их влияния на взаимодействие человеческого сывороточного альбумина с β -амилоидным пептидом и могут стать основой для разработки первых в своём классе препаратов для профилактики развития болезни Альцгеймера.

Особый интерес представляют работы, опубликованные на английском языке. В международном перекрёстном многоцентровом исследовании Е.А. Новикова и соавт. (Иркутск) проводили оценку отношения к вакцинации родителей из Индии и России и установили, что родители из обеих стран показали хорошую приверженность к вакцинации. Е.А. Баяндина и соавт. (Пермь) в своей работе раскрывают понимание сложных механизмов взаимодействия нанометаллов и биоплёнок, которое будет способствовать разработке эффективных биокатализаторов на основе иммобилизованных бактериальных клеток. Полученные авторами данные можно использовать для борьбы с нежелательными биоплёнками с помощью наночастиц металлов. В работе авторов из Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиала ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН (Пермь) изучена реакция бактерий кишечной палочки на действие четырёх антибиотиков, ингибиторов синтеза белка, с использованием комбинированного подхода и установлено, что использование электрохимических сенсоров в сочетании с традиционными методами является перспективным подходом к изучению механизмов действия антибиотиков.

Данный том включает большое количество экспериментальных работ, отличающихся высоким профессиональным методологическим уровнем. В качестве экспериментальных моделей были использованы крысы, мыши и даже радужная форель. Также хорошо освещены микробиологические работы, отражающие актуальность изучения микроорганизмов.

Ряд статей посвящён изучению патофизиологии различных заболеваний человека. Так, Е.В. Вырупаева и соавт. (Иркутск) провели оценку общего состояния и качества жизни женщин пострепродуктивного возраста, перенёсших COVID-19, а также через 12 месяцев после среднетяжёлой формы заболевания. В работе А.С. Лесной и соавт. проведена оценка функционального состояния глутатионовой системы у женщин бурятского этноса с инсомнией в климактерическом периоде,

что, несомненно, представляет интерес с точки зрения изучения этнических особенностей.

Не теряет своей актуальности и изучение вируса клещевого энцефалита. Авторами из г. Томска разработаны модели количественной оценки тяжести лихорадочной формы клещевого энцефалита на основе наиболее информативных предикторов тяжёлого течения. Сотрудники ФГБНУ «Научный центр здоровья семьи и репродукции человека» (Иркутск) в своей работе провели актуализацию информации о наличии и распространённости специфичных иммуноглобулинов классов М и G к *A. phagocytophilum* и *Ehrlichia* sp. среди жителей Прибайкалья, пострадавших от укусов клеща.

Том получился многопрофильный, интересный и вызывающий дискуссии. Благодарим наших авторов и рецензентов. До новых встреч!

Для цитирования: Рычкова Л.В. Предисловие заместителя главного редактора к № 5-1 (2022). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 5-8. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.1

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE ISSUE 5-1, 2022

Lyubov V. Rychkova

**Dr. Sc. (Med.), Professor,
Corresponding Member of RAS**

Dear readers!

We present to your attention the new issue of our journal.

This time the issue will consist of two parts. The first part includes articles published within the framework of the V All-Russian research/practice conference of young scientists with international participation "Fundamental and applied aspects in medicine and biology", which was held on October 27–28, 2022 in Irkutsk.

The first part of this issue opens with an article from the Institute for Biological Instrumentation, Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences (Pushchino). This study was aimed at a systematic search for peptide and protein ligands of human serum albumin capable of affecting its interaction with amyloid- β peptide. The peptide and protein candidates selected by the authors are subject to experimental verification regarding their effect on the interaction of human serum albumin with amyloid- β peptide and can become the basis for the development of first-in-class drugs for the prevention of Alzheimer's disease.

The articles published in English are of our particular interest. In an international cross-sectional multicenter study, E.A. Novikova et al. (Irkutsk) assessed the attitudes of parents from India and Russia towards vaccination and found that parents from both countries showed good vaccination compliance. E.A. Bayandina et al. (Perm) in their work describe the complex mechanisms of interaction between nanometals and biofilms, which will contribute to the development of effective biocatalysts based on immobilized bacterial cells. The data obtained by the authors can be used to eliminate unwanted biofilms using metal nanoparticles. The authors from the Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (Perm) studied the reaction of *E. coli* bacteria to the effect of four antibiotics, the inhibitors of protein synthesis, using a combined approach and found that the using electrochemical sensors in combination with traditional methods is a promising approach to studying the mechanisms of antibiotics effects.

This issue contains a large number of experimental works of a high professional methodological level. Rats, mice, and even rainbow trout have been used as experimental models. Microbiological works reflecting the relevance of the study of microorganisms are also well covered.

A number of articles are devoted to the study of the pathophysiology of various human diseases. E.V. Vyrupaeva et al. (Irkutsk) assessed the general condition and quality of life of women of post-reproductive age who had COVID-19, as well as 12 months after the moderate form of COVID-19. In the work of A.S. Lesnaya et al. assessed the functional state of the glutathione system in women of the Buryat ethnic group with insomnia in the menopause, which is undoubtedly of interest from the point of view of studying ethnic characteristics.

The studies of the tick-borne encephalitis virus continue to be relevant. The authors from Tomsk developed models for the quantitative assessment of the severity of the tick-borne encephalitis febrile form based on the most informative predictors of severe course. Authors from the Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Irkutsk) in their work updated information on the presence and prevalence of specific immunoglobulins M and G to *A. phagocytophilum* and *Ehrlichia* sp. among residents of the Baikal region affected by tick bites.

The issue turned out to be multidisciplinary, interesting and inviting to the discussion. We thank our authors and reviewers and look forward to meet you in our next issue!

For citation: Rychkova L.V. Deputy Editor-in-Chief's preface to Issue 5-1, 2022. *Acta bio-medica scientifica*. 2022; 7(5-1): 5-8. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.1

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

ПРЕДИСЛОВИЕ ЗАМЕСТИТЕЛЯ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Предисловие заместителя главного редактора к № 5-1 (2022). Рычкова Л.В.

ДИСКУССИОННЫЕ СТАТЬИ, ЛЕКЦИИ, НОВЫЕ ТРЕНДЫ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ

Comparison of attitude of Indian and Russian parents to children's vaccination. Novikova E.A., Maniyan Girija Manu Krishna, Ajitha Sureshkumar Aaromal, Suprasannan Abhiramy, Vanyarkina A.S., Moskaleva E.V., Petrova A.G., Rychkova L.V.

Систематический поиск пептидных и белковых лигандов человеческого сывороточного альбумина, способных модулировать его взаимодействие с β -амилоидным пептидом. Локтюшов Е.В., Литус Е.А., Дерюшева Е.И.

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

Миома матки и её ассоциация с метаболическим синдромом у женщин репродуктивного возраста (обзор литературы). Бабаева Н.И., Беленькая Л.В., Шолохов Л.Ф., Аталян А.В., Сутурина Л.В.

Нарушения обоняния и вкуса у беременных, больных COVID-19. Косовцева А.С., Баирова Т.А., Рычкова Л.В., Орлова Е.А., Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А., Михалевич И.М., Поляков В.М., Черевикова И.А., Мясищев Н.А., Прохорова Ж.В., Колесникова Л.И.

БИОХИМИЯ

Роль SH-групп в регуляции Gardos-каналов при дефиците глюкозы. Бирulina Ю.Г., Петрова И.В., Трубаева О.А., Гусакова С.В.

ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА

Некоторые фармакогенетические аспекты гена ABCB1 в вариативности концентрации лопинавира/ритонавира у детей с ВИЧ-инфекцией: пилотное исследование. Самбялова А.Ю., Баирова Т.А., Манаenkova Т.Л., Бельских А.В., Беляева Е.В., Ершова О.А., Кумратов Д.В., Парамонов А.И., Плотникова Ю.К., Колomeец Л.В., Рычкова Л.В.

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

Механизмы аутоиммунной патологии постковидного синдрома. Орлова Е.А., Кондратов И.Г., Огарков О.Б., Колесникова Л.И.

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE

Deputy Editor-in-Chief's preface to Issue 5-1, 2022. Rychkova L.V.

DISCUSSION PAPERS, LECTURES, NEW TRENDS IN MEDICAL SCIENCE

Отношение родителей из Индии и России к вакцинации детей. Новикова Е.А., Кришна М., Сурешкумар А., Супрасаннан А., Ваняркина А.С., Москалева Е.В., Петрова А.Г., Рычкова Л.В.

Systematic search for peptide and protein ligands of human serum albumin capable of affecting its interaction with amyloid β peptide. Loktyushov E.V., Litus E.A., Deryusheva E.I.

OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

Uterine fibroid and its association with metabolic syndrome in women of reproductive age (literature review). Babaeva N.I., Belenkaya L.V., Sholokhov L.F., Atalyan A.V., Suturina L.V.

Smell and taste disorders in pregnant women with COVID-19. Kosovtseva A.S., Bairova T.A., Rychkova L.V., Orlova E.A., Khasnatinov M.A., Danchinova G.A., Mikhalevich I.M., Polyakov V.M., Cherevikova I.A., Myasishchev N.A., Prokhorova Zh.V., Kolesnikova L.I.

BIOCHEMISTRY

The role of SH groups in the regulation of Gardos channels in glucose deficiency. Birulina Ju.G., Petrova I.V., Trubacheva O.A., Gusakova S.V.

GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

Some pharmacogenetic aspects of the ABCB1 gene in lopinavir/ritonavir concentration variability in children with HIV infection: A pilot study. Sambyalova A. Yu., Bairova T.A., Manaenkova T.L., Belskikh A.V., Belyaeva E.V., Ershova O.A., Kumratov D.V., Paramonov A.I., Plotnikova Yu.K., Kolomeets L.V., Rychkova L.V.

INFECTIOUS DISEASES

Mechanisms of autoimmune pathology in post-COVID syndrome. Orlova E.A., Kondratov I.G., Ogarkov O.B., Kolesnikova L.I.

Оценка общего состояния и качества жизни женщин пострепродуктивного возраста, перенёсших COVID-19 бессимптомно, и через 12 месяцев после среднетяжёлой формы заболевания. *Вырупаева Е.В., Семёнова Н.В., Рычкова Л.В., Петрова А.Г., Даренская М.А., Колесников С.И., Самбялова А.Ю., Колесникова Л.И.*

77

Assessment of the general condition and quality of life of women of post-reproductive age after asymptomatic COVID-19 and 12 months after moderate COVID-19. *Vyrupaeva E.V., Semenova N.V., Rychkova L.V., Petrova A.G., Darenskaya M.A., Kolesnikov S.I., Sambyalova A.Yu., Kolesnikova L.I.*

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Оценка референсных интервалов ацилкарнитин у новорождённых Сибири. *Немчинова Н.В., Байрова Т.А., Бельских А.В., Бугун О.В., Рычкова Л.В.*

86

CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS

Assessment of reference intervals of acylcarnitines in newborns in Siberia. *Nemchinova N.V., Bairova T.A., Belskikh A.V., Bugun O.V., Rychkova L.V.*

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

Resistance of *Rhodococcus ruber* biofilms to CuO nanoparticles depending on exopolymer matrix composition. *Bayandina E.A., Glebov G.G., Kuyukina M.S., Ivshina I.B.*

100

MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

Устойчивость биоплёнок *Rhodococcus ruber* к наночастицам CuO в зависимости от состава экзополимерного матрикса. *Баяндина Е.А., Глебов Г.Г., Куюкина М.С., Ившина И.Б.*

Study of the effect of protein synthesis inhibitors on growing *Escherichia coli* bacteria using electrochemical sensors. *Tyulenev A.V., Smirnova G.V., Muzyka N.G., Oktyabrsky O.N.*

110

Исследование действия ингибиторов синтеза белка на растущие бактерии *Escherichia coli* с помощью электрохимических сенсоров. *Тюленев А.В., Смирнова Г.В., Музыка Н.Г., Октябрьский О.Н.*

Динамика образования биоплёнок клинически значимыми штаммами условно-патогенных бактерий. *Ситникова К.О., Немченко У.М., Воропаева Н.М., Григорова Е.В., Савилов Е.Д., Маркова Ю.А., Белькова Н.Л.*

119

The effectiveness of biofilm formation of daily cultures of clinically significant strains of opportunistic bacteria. *Sitnikova K.O., Nemchenko U.M., Voropaeva N.M., Grigорова E.V., Savilov E.D., Markova Yu.A., Belkova N.L.*

Разработка моделей количественной оценки риска тяжёлого течения лихорадочной формы клещевого энцефалита. *Филатова Е.Н., Ильинских Е.Н., Решетова А.В., Пучкова Н.Н., Портнягина Е.В., Петрова Е.И., Минакова Ю.В., Воронкова О.В., Мотлохова Е.А., Найденова Н.Е., Ильинских Н.Н.*

129

Development of score models for severe course risk assessment of febrile form of tick-borne encephalitis. *Filatova E.N., Ilyinskikh E.N., Reshetova A.V., Puchkova N.N., Portnyagina E.V., Petrova E.I., Minakova Iu.V., Voronkova O.V., Motlokhova E.A., Naydenova N.E., Ilyinskikh N.N.*

Серопревалентность к *Anaplasma phagocytophilum* и *Ehrlichia* sp. у людей, пострадавших от укусов клещей. *Ляпунова Н.А., Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А.*

139

Seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia* sp. among people affected by tick bites. *Liapunova N.A., Khasnatinov M.A., Danchinova G.A.*

Частота встречаемости штаммов с множественной антибиотикорезистентностью в структуре условно-патогенных микроорганизмов. *Воропаева Н.М., Немченко У.М., Ситникова К.О., Савилов Е.Д., Чemezova Н.Н., Григорова Е.В., Сорокина А.В., Зугеева Р.Е., Белькова Н.Л.*

145

Frequency of strains with multiple antibiotic resistance in the structure of opportunistic pathogens. *Voropaeva N.M., Nemchenko U.M., Sitnikova K.O., Savilov E.D., Chemezova N.N., Grigорова E.V., Sorokina A.V., Zugeeva R.E., Belkova N.L.*

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

Влияние различных типов иммуносупрессивной терапии на параметры экспрессии рецепторов к TNF у пациентов с ревматоидным артритом. *Альшевская А.А., Жукова Ю.В., Лопатникова Ю.А., Киреев Ф.Д., Шкаруба Н.С., Чумасова О.А., Шевченко Ю.А., Ильина Н.А., Сизиков А.Э., Сенников С.В.*

154

MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

Effect of different types of immunosuppressive therapy on the parameters of TNF receptor expression in patients with rheumatoid arthritis. *Alshevskaya A.A., Zhukova J.V., Lopatnikova J.A., Kireev F.D., Shkaruba N.S., Chumasova O.A., Shevchenko J.A., Ilina N.A., Sizikov A.E., Sennikov S.V.*

Особенности метаболизма наивных CD4⁺T-лимфоцитов и CD4⁺T-клеток памяти в покое

Metabolic features of naïve and memory CD4⁺T cells in quiescence and during proliferation. *Vlasova V.V.,*

и при пролиферации. Власова В.В., Сайдакова Е.В., Королевская Л.Б., Шмагель Н.Г., Шмагель К.В.	167	Saidakova E.V., Korolevskaya L.B., Shmagel N.G., Shmagel K.V.
Продукция иммунорегуляторных молекул индуцированными эритроблантами на различных стадиях дифференцировки. Назаров К.В., Перик-Заводский Р.Ю., Кузнецова М.С., Филиппова Ю.Г., Шевченко Ю.А., Денисова В.В., Силков А.Н., Сенников С.В.	179	Production of immunoregulatory molecules by induced erythroblasts at various stages of cell differentiation. Nazarov K.V., Perik-Zavodsky R.Yu., Kuznetsova M.S., Philippova Yu.G., Shevchenko Yu.A., Denisova V.V., Silkov A.N., Sennikov S.V.
Формирование кардиопротекторного эффекта хронической непрерывной гипоксии у крыс при индуцированном метаболическом синдроме. Деркачев И.А.	188	Development of cardioprotective effect of chronic continuous hypoxia in rats with induced metabolic syndrome. Derkachev I.A.
Функциональное состояние глутатионовой системы у женщин бурятского этноса с инсомнией в климатическом периоде. Лесная А.С., Семёнова Н.В., Мадаева И.М., Колесникова Л.И.	195	Functional state of glutathione system in menopausal women of the Buryat ethnic group with insomnia. Lesnaya A.S., Semenova N.V., Madaeva I.M., Kolesnikova L.I.
ПЕДИАТРИЯ		PEDIATRICS
Сравнительная характеристика клинических, лабораторных и инструментальных показателей у детей с сезонным гриппом в зависимости от штамма вируса. Казанцева Е.Д., Петрова А.Г., Ваняркина А.С., Новикова Е.А., Москалева Е.В., Рычкова Л.В.	203	Comparative characteristics of clinical, laboratory and instrumental indicators in children with seasonal influenza depending on the virus strain. Kazantseva E.D., Petrova A.G., Vanyarkina A.S., Novikova E.A., Moskaleva E.V., Rychkova L.V.
ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА		PREVENTIVE MEDICINE
История, современные направления и перспективы развития про- и пребиотических препаратов в России и за рубежом. Савинова Ю.С., Белькова Н.Л., Семёнова Н.В., Рычкова Л.В.	211	History, current trends and prospects for the development of pro- and prebiotic drugs in Russia and abroad. Savinova Yu.S., Belkova N.L., Semenova N.V., Rychkova L.V.
ПСИХОЛОГИЯ И ПСИХИАТРИЯ		PSYCHOLOGY AND PSYCHIATRY
Взаимосвязь индивидуально-личностных качеств и динамики функциональных состояний участников морской арктической экспедиции. Тункина М.А., Корнеева Я.А., Симонова Н.Н., Трофимова А.А.	228	Interrelation of individual-personal qualities and dynamics of functional states participants of the sea Arctic expedition. Tunkina M.A., Korneeva Ya.A., Simonova N.N., Trofimova A.A.
Влияние психосоциальных факторов в работе на функциональные состояния сотрудников вневедомственной охраны Росгвардии. Корнеева А.В., Корнеева Я.А.	242	Influence of psychosocial factors at work on the non-departmental security officers of the National Guard of the Russian Federation. Korneeva A.V., Korneeva Ya.A.
ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ		PHARMACOLOGY AND PHARMACY
Продукция активных форм кислорода нейтрофилами и макрофагами мышей гибридов F1 (C57Bl6xCBA) в ответ на стимуляцию кукурбит(н)урилами (n = 6, 7, 8). Актанова А.А., Пашкина Е.А., Боева О.С., Феофанова Н.А., Козлов В.А.	259	Production of reactive oxygen species by neutrophils and macrophages of F1 hybrid mice (C57Bl6xCBA) in response to stimulation with cucurbit(n)urils (n = 6, 7, 8). Aktanova A.A., Pashkina E.A., Boeva O.S., Feofanova N.A., Kozlov V.A.
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ		EXPERIMENTAL RESEARCHES
Влияние эндоморфинов-1,2 на продукцию активных форм кислорода и поглотительную активность клеток врождённого иммунитета <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> . Кадочкикова Я.А., Гейн С.В.	266	The effect of endomorphins-1, -2 on the production of reactive oxygen species and the absorption activity of innate immunity cells <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> . Kadochnikova Ya.A., Gein S.V.

ДИСКУССИОННЫЕ СТАТЬИ, ЛЕКЦИИ, НОВЫЕ ТРЕНДЫ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ

DISCUSSION PAPERS, LECTURES, NEW TRENDS IN MEDICAL SCIENCE

COMPARISON OF ATTITUDE OF INDIAN AND RUSSIAN PARENTS TO CHILDREN'S VACCINATION

Novikova E.A.¹,
Maniyan Girija Manu Krishna²,
Ajitha Sureshkumar Aaromal²,
Suprasannan Abhiramy²,
Vanyarkina A.S.¹,
Moskaleva E.V.¹,
Petrova A.G.¹,
Rychkova L.V.¹

¹ Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

² Irkutsk State Medical University
(Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk
664003, Russian Federation)

Corresponding author:
Evgenia A. Novikova,
e-mail: europe411@mail.ru

ABSTRACT

Background. The vaccine preventable diseases outbreaks have become more frequent in recent decades and the lack of global vaccine awareness has been increasing and deteriorating vaccine compliance.

The aim. To assess the attitude towards vaccination of parents from India and Russia.

Methods. 1620 parents from Russia (Irkutsk city) and 214 parents from India (Kerala state) took part in the international cross-sectional multicenter study via survey method.

Results. Parents from both countries showed good adherence to vaccination, only 1 % of Indians and 2 % of Russians did not vaccinate their children. More than 90 % of Russians took information from pediatricians compared with other sources with a prevalence of pediatricians working in the public health system 91.7 % (95% CI: 90.2–92.9), whereas only 50 % of Indians were informed about vaccination from pediatricians ($p < 0.0001$). The main source of vaccine information for Indian parents was Internet (52.8 %; 95% CI: 46.1–59.3) and mass-media (83.6 %; 95% CI: 78.1–87.9), whereas Russians resorted to this source much less (0.3 %; 95% CI: 0.1–0.7 for Internet; and 4.3 %; 95% CI: 3.4–5.4 for mass-media; $p < 0.0001$). Interestingly, while the vast majority of Russians received information about vaccination from a pediatrician, 71.2 % (95% CI: 68.9–73.3) wanted to know more. Indians suffered from a lack of information too, but not as much (63.1 %; 95% CI: 56.4–69.3; $p = 0.01$).

Conclusion. Despite of a good attitude to vaccination of parents from India and Russia the lack of vaccine information was registered.

Key words: vaccination, children, vaccine preventable diseases, vaccine awareness, vaccine knowledge, vaccine hesitancy, vaccination refusal

Received: 10.06.2022

Accepted: 15.09.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Novikova E.A., Maniyan Girija Manu Krishna, Ajitha Sureshkumar Aaromal, Suprasannan Abhiramy, Vanyarkina A.S., Moskaleva E.V., Petrova A.G., Rychkova L.V. Comparison of attitude of Indian and Russian parents to children's vaccination. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 12-18. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.2

ОТНОШЕНИЕ РОДИТЕЛЕЙ ИЗ ИНДИИ И РОССИИ К ВАКЦИНАЦИИ ДЕТЕЙ

РЕЗЮМЕ

Новикова Е.А.¹,
Кришна М.²,
Сурешкумар А.²,
Супрасаннан А.²,
Ваняркина А.С.¹,
Москалева Е.В.¹,
Петрова А.Г.¹,
Рычкова Л.В.¹

¹ ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

² ФГБОУ ВО «Иркутский государственный
медицинский университет» Минздрава
России (664003, г. Иркутск,
ул. Красного Восстания, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Новикова Евгения Анатольевна,
e-mail: europe411@mail.ru

Введение. За последние десятилетия участились вспышки вакциноуправляемых заболеваний, при этом среди родителей наблюдается низкая осведомлённость о пользе и действии вакцин, что ухудшает приверженность вакцинации.

Цель исследования. Оценить отношение родителей из Индии и России к вакцинации детей.

Методы. В международном перекрёстном многоцентровом исследовании методом опроса приняли участие 1620 родителей из России (г. Иркутск) и 214 родителей из Индии (штат Керала).

Результаты. Родители из обеих стран показали высокую приверженность вакцинации; только 1 % индийцев и 2 % россиян не прививали своих детей. Более чем 90 % родителей из России и лишь 50 % родителей из Индии получали необходимую информацию о вакцинации от врача-педиатра, работающего в государственной системе здравоохранения ($p < 0,0001$). Основными источниками информации о вакцинах родителям из Индии служили интернет (52,8 %; 95%-й доверительный интервал (95% ДИ): 46,1–59,3) и СМИ (83,6 %; 95% ДИ: 78,1–87,9), тогда как россияне прибегали к этим ресурсам информации гораздо реже (интернет – 0,3 %; 95% ДИ: 0,1–0,7; СМИ – 4,3 %; 95% ДИ: 3,4–5,4; $p < 0,0001$). Интересно, что в то время как подавляющее большинство россиян получали информацию о вакцинации от педиатра, 71,2 % (95% ДИ: 68,9–73,3) хотели знать больше. Индийцы тоже отметили недостаток информации по вопросам вакцинопрофилактики – 63,1 % (95% ДИ: 56,4–69,3; $p = 0,01$).

Выводы. Несмотря на высокую приверженность вакцинации детей, большинство родителей из Индии и России хотели бы быть более осведомлёнными в вопросах вакцинопрофилактики.

Ключевые слова: вакцинация, дети, вакциноуправляемые заболевания, отношение к вакцинации, отказ от вакцинации

Для цитирования: Новикова Е.А., Кришна М., Сурешкумар А., Супрасаннан А., Ваняркина А.С., Москалева Е.В., Петрова А.Г., Рычкова Л.В. Отношение родителей из Индии и России к вакцинации детей. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 12-18. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.2

Статья поступила: 10.06.2022

Статья принята: 15.09.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

INTRODUCTION

The World Health Organization (WHO) calls specific immunoprophylaxis the best way to protect against infections. For example, before the invention of the smallpox vaccine by Edward Jenner in 1796, mortality in London varied at the level of 10–15 %. After the development of the vaccine, the UK managed to completely cope with the variola virus by 1934. The eradication of smallpox was officially declared by WHO in 1980 [1]. It is the first disease which was eradicated globally. Since the invention of the smallpox vaccine, the prevalence of vaccine preventable diseases rapidly decreased in the world. From 1990 to 2017, infant mortality from vaccine preventable infections decreased from 5.5 million to 1.8 million [2]. According to WHO, vaccination of the population prevents 4–5 million deaths every year from diseases like diphtheria, tetanus, pertussis, influenza and measles, and it could be increased by another 1.5 million if vaccination becomes truly global [3].

However, in recent years vaccine preventable disease outbreaks have become more frequent. For example, more than 17 thousand measles cases among children were reported worldwide by the beginning of 2022, compared to around 9 thousand during the first two months of 2021 [4]. This can be related to vaccine hesitancy or vaccination refusal. The main reason that supports the anti-vaccination movement is the lack of awareness, i. e. lack of understanding of vaccination meaning and the resulting fear of side effects. Therefore, in connection with the current trend of non-vaccination, it is necessary to monitor the attitude towards vaccination.

Research group of the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis in Pediatrics of the Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Irkutsk, Russia) has been investigating attitude and knowledge of parents and physicians to preventive vaccination since 2018 [5–7]. A comparison study for Russian and Indian parents has become another step since India and Russia, and Irkutsk region in particular, have established research and educational relations. Global data shows low awareness and knowledge about vaccination among people from these countries. The Wellcome Global Monitor project surveying over 140 000 people from over 140 countries reports 92 % people in the world thinking that it is important for children to be vaccinated whereas for Indians this number is bigger – 98 %, and for Russians it's much lower compared with global data and Indians – 77 % (Fig. 1).

Other similar researches have been done before for each of the countries [8–15], but there was no comparison between those. Collected data will allow to assess the attitude towards vaccination in India and Russia, and to make recommendations for improving compliance vaccine.

METHODS

1620 parents from Russia (Irkutsk city) and 214 parents from India (Kerala state) took part in the international cross-sectional multicenter study. Data were collected from November 2018 to July 2020. The study protocol, questionnaire form and informed consent were approved by the eth-

Share that agrees that vaccines are important for children to have, 2018

The share of people who responded that they "strongly agree" or "somewhat agree" with the statement 'Vaccines are important for children to have'.

Our World
in Data

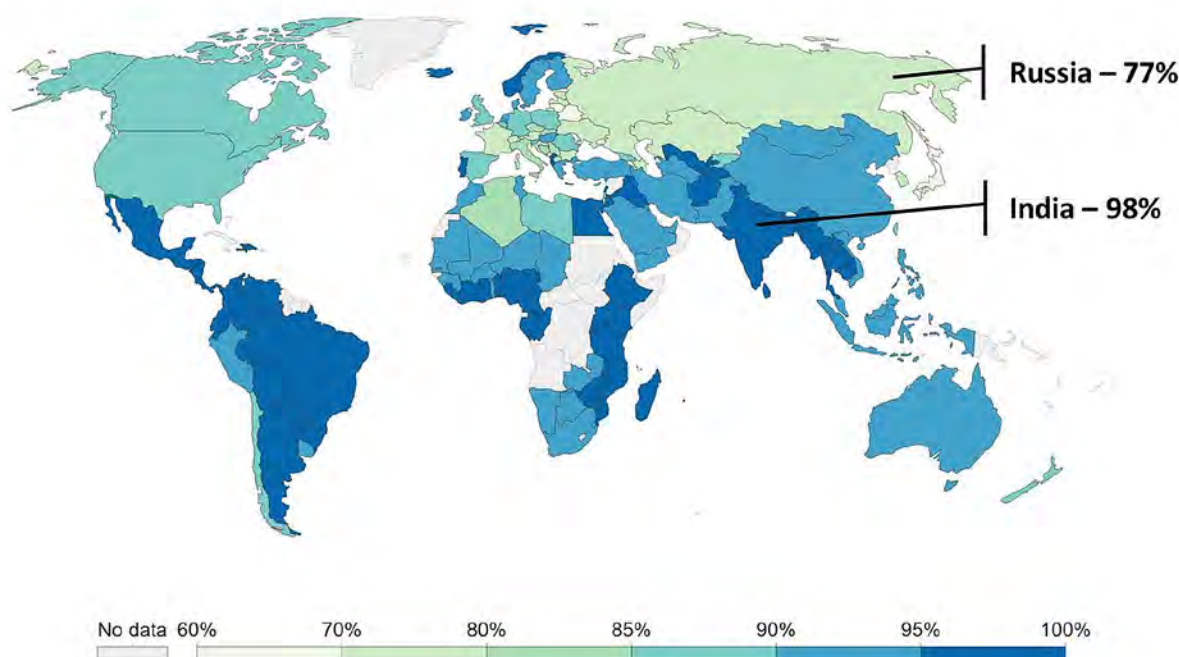


FIG. 1.

The opinion of people around the world that it is important for children to be vaccinated (The Wellcome Global Monitor, 2018) [2]

ics committee of the Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Irkutsk, Russia). Qualitative data were compared using the χ^2 test and reported as absolute values and percentages. 95 % confidence interval (95% CI) for a proportion was calculated using the website for statistical computation "VassarStats" [16]. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Portrait of a respondent from Russia: a female (70.6 %; 95% CI: 68.4–72.8), 21–40 years old, with university education (52.7 %; 95% CI: 54.9–59.7), having one (53.5 %; 95% CI: 51.0–55.9) or two children (36.7 %; 95% CI: 34.3–39.1) (Table 1). Women prevailed among Indian parents

TABLE 1
CHARACTERISTICS OF INDIAN AND RUSSIAN PARTICIPANTS

Variables	Indian parents (n = 214)			Russian parents (n = 1620)			p (by χ^2)
	n	%	95% CI	n	%	95% CI	
Your level of education							
School	17	7.9	5–12.3	213	17.8	11.6–14.9	0.09
College	65	30.4	24.6–36.8	479	29.5	27.4–31.8	
University	132	61.7	55–67.9	928	52.7	54.9–59.7	
Your gender							
Male	68	31.8	25.9–38.9	475	29.3	27.1–31.5	0.5071
Female	146	68.2	61.7–74	1145	70.6	68.4–72.8	
Your age							
Younger than 20 y. o.	3	1.4	0.5–4.0	97	6.0	4.8–7.2	< 0.0001 [†]
21–30 y. o.	85	39.7	33.4–46.4	672	41.5	39.1–43.9	
31–40 y. o.	86	40.2	33.8–46.8	695	42.9	40.5–45.3	
Older than 40 y. o.	40	18.7	14.0–24.4	156	9.6	8.2–11	
How many children do you have?							
One	141	65.9	59.3–71.9	835	53.5	51.0–55.9	0.0072 [†]
Two	56	26.2	20.7–32.4	573	36.7	34.3–39.1	
Three	15	7	4.2–11.2	141	9.0	7.7–10.6	
Four and more	2	0.9	0.2–3.3	13*	0.8	0.5–1.4	
Describe your financial situation							
Poverty	1	0.5	0.08–2	20	1.2	0.8–1.8	< 0.0001 [†]
Lower than the middle class	7	3.3	1.5–6.6	208	12.8	11.3–14.5	
The middle class	143	66.8	60.2–72.7	1098	67.7	65.3–70.1	
Higher than the middle class	47	22	16.9–27.9	262	16.1	14.4–18.0	
Wealth	16	7.5	4.6–11.8	32	1.98	1.4–2.7	
Describe your attitude towards vaccinations							
I vaccinate my child	211	99	96–100	1588	98	97.2–98.5	0.8065
I don't vaccinate my child	3	1	0.5–4.0	32	1.98	1.4–2.7	
Where do you get information about vaccinations?							
From a pediatrician working in a private clinic	109	50.9	44.2–57.5	15	0.9	0.5–1.5	< 0.0001 [†]
From a pediatrician working in the public health system	101	47.2	40.6–53.8	1486	91.7	90.2–92.9	
From friends/relatives with a medical background	129	60.3	53.6–66.6	11	0.7	0.3–1.2	
From friends and relatives without medical background	18	8.4	5.3–12.9	179	11.1	9.6–12.6	
From mass-media (television, radio, newspapers and magazines)	179	83.6	78.1–87.9	70	4.3	3.4–5.4	
From Internet (social network)	113	52.8	46.1–59.3	5	0.3	0.1–0.7	
From flyers and disks	2	0.9	0.02–3.3	89	5.5	4.4–6.7	
Parents want to know more about vaccination							
Yes	135	63.1	56.4–69.3	1153	71.2	68.9–73.3	0.0187 [†]
No	79	36.9	30.5–43.8	467	28.8	26.7–31.1	

Note. * – data for 1562 respondents; [†] – difference is significant ($p < 0.05$); 95% CI – 95 % confidence interval; y. o. – years old.

as well (68.2 %; 95% CI: 61.7–74), being older (> 40 years old) and younger (< 20 years old) compared with Russians ($p < 0.0001$), having graduated from university as well (61.7 %; 95% CI: 55–67.9) and having one child more often (65.9 %; 95% CI: 59.3–71.9 for Indians and 53.5 %; 95% CI: 51.0–55.9 for Russians; $p = 0.0072$). Financial situation of Indians was better than that one of Russians ($p < 0.0001$): answers “lower than the middle class” appeared more often in Russian responses (12.8 %; 95% CI: 11.3–14.5 vs 3.3 %; 95% CI: 1.5–6.6 in Indians) while “wealthy” was more common for Indians (7.5 %; 95% CI: 4.6–11.8 vs 1.98 %; 95% CI: 1.4–2.7).

The attitude towards children vaccination of parents from both India and Russia was extremely positive (Table 1). Only 1 % of Indians and 2 % of Russians did not vaccinate their children. Our data coincide with the global – 90–94 % (Fig. 1).

More than 90 % of Russian parents took information from pediatricians compared with other sources with a prevalence of pediatricians working in the public health system 91.7 % (95% CI: 90.2–92.9), whereas only 50 % of Indians were informed about vaccination from pediatricians ($p < 0.0001$). The main source of information about vaccination for Indian parents was the social media with the Internet (52.8 %; 95% CI: 46.1–59.3) and mass-media with television, radio, newspapers and magazines specifically (83.6 %; 95% CI: 78.1–87.9). Russians resorted to this source less often, in less than 5 % of cases ($p < 0.0001$). Other sources about vaccination for parents are presented in the Table 1. Perhaps this is due to the fact that vaccination is free in Russia, and it has governmental support, so the main source of such information is pediatric outpatient department. In India not all vaccines necessarily are free and healthcare specialists' consultations are not easily available, so parents had to address to other sources such as Internet and mass media, which surprisingly didn't reduce compliance towards vaccination as other studies showed [17]. This in turn may be because Indian parents use trusted sources of vaccine information such as websites of the WHO, Centers for Disease Control and Prevention, Vaxopedia, etc.

Interestingly, while the vast majority of Russians received information about vaccination from a pediatrician, 71.2 % (95% CI: 68.9–73.3) wanted to know more. Indians experienced lack of information too, but not as much (63.1 %; 95% CI: 56.4–69.3; $p = 0.01$). Results can be explained by a high workload of the pediatric outpatient departments in Russia and lack of time for giving proper consultation and answering parents' questions. Since the pediatric outpatient department in Russia is overloaded, sharing reliable information about vaccination via mass media and Internet may be considered. Thus, recently it was shown that 76 % of Russians ($n = 208$) think that vaccines should be more discussed in mass media in a positive light [15]. But at the same time sources of information in Internet and mass media may be unreliable and be the reason why parents have negative attitude and do not want to vaccinate their children [12]. The most reliable source of vaccine information in Russia is the website of the Union of Pediatricians of Rus-

sia [18], which should be recommended for pediatricians and parents as well.

Another possible reason may be the lack of knowledge about vaccination among pediatricians themselves. According to our previous research, only 56 % of pediatricians considered their knowledge about vaccination as adequate [7]. Doctors received vaccine information mainly via professional medical literature (82.6 %), at conferences and congresses (63 %), and via professional Internet sources (51.6 %) [5]. Low awareness is one of the most frequent reasons of negative attitude towards vaccination. Studies show that the main cause of vaccine refusal among doctors is an opinion that vaccines are dangerous [9], which is the most common myth of the anti-vaccine movement and is explained by lack of valid information [10]. Providing physicians with detailed, evidence-based, up-to-date vaccine information will help parents to make a right decision without doubts and to increase adherence to immunization. It will also reduce cases of medical dissonance, when doctors begin to speak out against vaccinations, without giving a clear reasoned answer why they are against this.

Our results correspond to the data of colleagues from India. Thapar et al. in the cross-sectional study of vaccine hesitancy among mothers of under-five children in Coastal South India showed low hesitation about vaccination (3.4 %), and the most common reason for their refusal was uncertainty about the vaccine safety [13]. Indian mothers chose government clinics for immunization of their children (60.5 %) and took information regarding vaccines mostly from doctors (46 %). Such similarities between studies might be explained by the same geographic localization of responders, because Kerala is located on the southwestern coast of India. Degarege et al. presenting the results of the bigger cross-sectional survey ($n = 1599$) also reported low vaccine refusal among Indian parents (5.2 %), especially among parents who were not convinced of the benefits of routine vaccination, as well as among parents with a low level of education [11]. Rising of awareness of the vaccination benefits could help to increase the rate of full childhood vaccination both in India and Russia.

CONCLUSION

Our screening study showed good adherence to vaccination. The majority of Russian parents vaccinate their children, and they want to know more about vaccination, even though they get vaccination knowledge from pediatricians. Almost all Indian parents vaccinate their children too, and the main source of information is mass media, not healthcare specialists. Perhaps this is due to the fact that vaccination is free in Russia and it has governmental support, so the main source of such information is pediatric outpatient department. In India not all vaccines are necessarily free and healthcare specialists' consultation are not easily available, therefore for making a right decision about vaccination Indians use trustworthy and verified

sources information in mass media. Since the pediatric outpatient department in Russia is overloaded, sharing information about vaccination via mass media may be considered. Upgrading healthcare specialists' knowledge about immunization has to be considered as another effective measure. These measures taken together will help to increase parental awareness and compliance towards vaccination, and prevent future outbreaks.

Acknowledgments

We thank the Clinic of Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems for the assistance.

Conflict of interest

The authors declare no potential conflicts of interest.

REFERENCES

1. Our World in Data. *Eradication of diseases*. URL: <https://ourworldindata.org/eradication-of-diseases> [date of access: 08.06.2022].
2. Our World in Data. *Vaccination*. URL: <https://ourworldindata.org/vaccination> [date of access: 08.06.2022].
3. World Health Organization. *Immunization*. URL: <https://www.who.int/news-room/facts-in-pictures/detail/immunization> [date of access: 08.06.2022].
4. World Health Organization. *UNICEF and WHO warn of perfect storm of conditions for measles outbreaks, affecting children*. URL: <https://www.who.int/news/item/27-04-2022-unicef-and-who-warn-of-perfect-storm-of-conditions-for-measles-outbreaks-affecting-children> [date of access: 08.06.2022].
5. Vanyarkina AS, Petrova AG, Pokrovskaya SA, Bakhmat YA, Vekesser OA. Modern view of physicians about vaccine prevention: Survey results. *Jurnal infektologii*. 2019; 11(151): 31-32. (In Russ.).
6. Vanyarkina AS, Petrova AG, Bayanova TA, Kazantseva ED, Krivolapova OA, Bugun OV, et al. Preventive vaccination in children: Parents' knowledge or physician's competence. *Pacific Medical Journal*. 2019; 3: 23-28. (In Russ.). doi: 10.34215/1609-1175-2019-4-23-28
7. Petrova AG, Bayanova TA, Vanyarkina AS, Rychkova LV. Views of the physicians of different specialties on the vaccination: Concerns and expectations. *Jurnal infektologii*. 2020; 12(2): 104-112. (In Russ.). doi: 10.22625/2072-6732-2020-12-2-104-112
8. Di Pietro ML, Poscia A, Teleman AA, Maged D, Ricciardi W. Vaccine hesitancy: parental, professional and public responsibility. *Ann Ist Super Sanita*. 2017; 53(2): 157-162. doi: 10.4415/ANN_17_02_13
9. Budnikova EA, Kharit SM, Fridman IV. Attitude of medical workers to vaccine prevention. *Medicine of Extreme Situations*. 2019; 21(4): 492. (In Russ.).
10. Girina AA, Petrovski FI, Zaplatnikov AL. Pediatricians adherence to immunoprophylaxis of infectious diseases: Current state of the problem. *Russian Journal of Woman and Child Health*. 2020; 3(4): 290-294. (In Russ.). doi: 10.32364/2618-8430-2020-3-4-290-294
11. Degarege A, Krupp K, Srinivas V, Ibrahimou B, Madhivanan P. Structural equation modeling to detect correlates of childhood vaccination: A moderated mediation analysis. *PLoS One*. 2020; 15(10): e0240749. doi: 10.1371/journal.pone.0240749
12. Tretyakova OS, Beloborodova AB, Grechka PS. Comparative analysis of childhood vaccination and attitude of parents to vaccinal prevention, depending on place of residence. *International Research Journal*. 2020; 1-1(91): 69-72. (In Russ.). doi: 10.23670/IRJ.2020.91.1.014
13. Thapar R, Kumar N, Surendran P, Shahdiya A, Mahendran V, Ramesh R, et al. Vaccine hesitancy among mothers of under-five children in Coastal South India: A facility-based cross-sectional study. *F1000Res*. 2021; 10: 186. doi: 10.12688/f1000research.28293.2
14. Wagner AL, Shotwell AR, Boulton ML, Carlson BF, Mathew JL. Demographics of vaccine hesitancy in Chandigarh, India. *Front Med (Lausanne)*. 2021; 7: 585579. doi: 10.3389/fmed.2020.585579
15. Arakhova MA, Trusova AS. The attitude of the population of the Russian Federation to vaccination. *Innovation Science*. 2022; 5(1): 100-104. (In Russ.).
16. *VassarStats: Website for statistical computation*. URL: <http://vassarstats.net> [date of access: 15.07.2022].
17. Jones AM, Omer SB, Bednarczyk RA, Halsey NA, Moulton LH, Salmon DA. Parents' source of vaccine information and impact on vaccine attitudes, beliefs, and non-medical exemptions. *Adv Prev Med*. 2012; 2012: 932741. doi: 10.1155/2012/932741
18. The Union of Pediatricians of Russia. URL: <https://www.pediatr-russia.ru/en/about-union-en> [date of access: 15.07.2022].

Information about the authors

Evgenia A. Novikova – Research Officer at the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis in Pediatrics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: europe411@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9353-7928>

Maniyana Girija Manu Krishna – Student, Irkutsk State Medical University, e-mail: manumedic27@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4843-6538>

Ajitha Sureshkumar Aaromal – Student, Irkutsk State Medical University, e-mail: aaromalas@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8655-1780>

Suprasannan Abhiramy – Student, Irkutsk State Medical University, e-mail: abhiramyroses@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5343-3019>

Anastasiya S. Vanyarkina – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis in Pediatrics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nasty-191@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8434-1600>

Ekaterina V. Moskaleva – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis in Pediatrics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: mkatena@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4196-0713>

Alla G. Petrova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis in Pediatrics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: rudial75@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7965-8061>

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5292-0907>

Сведения об авторах

Новикова Евгения Анатольевна – научный сотрудник лаборатории инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: eugene411@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9353-7928>

Кришна Ману – студент, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: manumedic27@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4843-6538>

Сурешкумар Ааромал – студент, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: aaromalas@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8655-1780>

Супрасаннан Абхирами – студент, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: abhiramyroses@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5343-3019>

Ваняркина Анастасия Сергеевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nasty-191@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8434-1600>

Москалева Екатерина Владимировна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: mkatena@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4196-0713>

Петрова Алла Германовна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: rudial75@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7965-8061>

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5292-0907>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

СИСТЕМАТИЧЕСКИЙ ПОИСК ПЕПТИДНЫХ И БЕЛКОВЫХ ЛИГАНДОВ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА, СПОСОБНЫХ МОДУЛИРОВАТЬ ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С β -АМИЛОИДНЫМ ПЕПТИДОМ

Локтюшов Е.В.,
Литус Е.А.,
Дерюшева Е.И.

Институт биологического
приборостроения с опытным
производством Российской академии
наук – обособленное подразделение
ФГБУН ФИЦ «Пушкинский научный центр
биологических исследований РАН»
(142290, Московская область, г. Пушкино,
пр-т Науки, 3, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Локтюшов Евгений Владимирович,
e-mail: zhenyaloktushov@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Человеческий сывороточный альбумин (ЧСА) является природным буфером β -амилоидного пептида (А β), ключевого фактора развития болезни Альцгеймера (БА). Перспективным подходом к профилактике БА является снижение концентрации свободного А β путём направленной стимуляции взаимодействия ЧСА с А β . Данный подход может быть реализован за счёт воздействия лигандов ЧСА, что было ранее продемонстрировано для некоторых его низкомолекулярных лигандов.

Целью исследования стал поиск пептидных и белковых лигандов человеческого сывороточного альбумина, способных модулировать его взаимодействие с А β .

Материалы и методы. Для систематического поиска пептидов/белков, являющихся лигандами ЧСА, были проанализированы базы данных DrugBank, BioGRID и IntAct. В качестве критериев отбора кандидатов наряду с физико-химическими характеристиками (молекулярный вес, растворимость, прохождение через гематоэнцефалический барьер, молярная концентрация) использовали требования внеклеточной локализации белка и строгой ассоциации с БА, согласно базам данных DisGeNET и Open Targets Platform, а также онлайн-ресурсу Alzforum. Алгоритмы поиска и анализа данных реализованы с использованием высокоуровневого языка программирования Python.

Результаты. Сформирована панель кандидатов из 11 пептидов и 34 белков. К наиболее перспективным кандидатам отнесены 4 пептида (лираглутид, эксенатид, семаглутид, инсулин детемир) и 4 белка (S100A8, трансферрин, ингибитор С1-эстеразы, цистатин С).

Заключение. Отобранные пептидные и белковые кандидаты подлежат экспериментальной проверке в отношении их влияния на взаимодействие ЧСА-А β и могут стать основой для разработки первых в своём классе препаратов для профилактики развития БА.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера, β -амилоидный пептид, человеческий сывороточный альбумин, пептидные/белковые лиганды

Статья поступила: 03.06.2022

Статья принята: 07.10.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Локтюшов Е.В., Литус Е.А., Дерюшева Е.И. Систематический поиск пептидных и белковых лигандов человеческого сывороточного альбумина, способных модулировать его взаимодействие с β -амилоидным пептидом. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 19-26. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.3

SYSTEMATIC SEARCH FOR PEPTIDE AND PROTEIN LIGANDS OF HUMAN SERUM ALBUMIN CAPABLE OF AFFECTING ITS INTERACTION WITH AMYLOID- β PEPTIDE

Loktyushov E.V.,
Litus E.A.,
Deryusheva E.I.

Institute for Biological Instrumentation,
Pushchino Scientific Center for Biological
Research of the Russian Academy
of Sciences (Nauki av. 3, Pushchino 142290,
Moscow Region, Russian Federation)

Corresponding author:
Eugene V. Loktyushov,
e-mail: zhenyaloktyushov@gmail.com

ABSTRACT

Background. Human serum albumin (HSA) is a natural buffer of amyloid- β peptide (A β), a key factor in the development of Alzheimer's disease (AD). A promising approach to the AD prevention is to reduce the concentration of free A β by targeted stimulation of the interaction between HSA and A β . This approach can be implemented by increasing the affinity of HSA to A β through the action of HSA ligands, which was previously demonstrated for some low molecular weight ligands.

The aim of the study was to search for peptide and protein ligands of human serum albumin capable of affecting its interaction with A β .

Materials and methods. To perform a systematic search for peptides/proteins, HSA ligands that are capable of affecting A β -HSA interaction, we analyzed the DrugBank, BioGRID, and IntAct databases. As criteria for selecting candidates, along with physicochemical characteristics (molecular weight, solubility, blood-brain barrier passage, molar concentration), we used the requirements of extracellular proteins localization and strict association with AD, according to the DisGeNET and Open Targets Platform databases as well as Alzforum online resource. The algorithms for searching and analyzing the obtained data were implemented using the high-level programming language Python.

Results. A candidate panel of 11 peptides and 34 proteins was formed. The most promising candidates include 4 peptides (liraglutide, exenatide, semaglutide, insulin detemir) and 4 proteins (S100A8, transferrin, C1 esterase inhibitor, cystatin C).

Conclusions. Selected peptide and protein candidates are subject to experimental verification regarding their effect on the HSA-A β interaction and can become the basis for the development of first-in-class drugs for the prevention of Alzheimer's disease.

Key words: Alzheimer's disease, amyloid- β peptide, human serum albumin, peptide/protein ligands

Received: 03.06.2022

Accepted: 07.10.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Loktyushov E.V., Litus E.A., Deryusheva E.I. Systematic search for peptide and protein ligands of human serum albumin capable of affecting its interaction with amyloid β peptide. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 19-26. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.3

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Альцгеймера (БА) – наиболее распространённая причина деменции. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), на долю БА приходится 60–70 % всех зарегистрированных случаев данной патологии. Люди, страдающие БА, постепенно утрачивают когнитивные функции, что в итоге приводит к неизбежной дезадаптации и инвалидизации таких пациентов [1]. Смертность от БА стремительно растёт: на данный момент БА и другие формы деменции занимают 7-е место среди причин смерти в мире (по данным ВОЗ). Несмотря на огромное количество исследований, посвящённых изучению БА, до сих пор нет полного представления о её этиологии и патогенезе, что осложняет поиск эффективных средств профилактики и терапии данного заболевания [2]. В то же время накоплены данные, подтверждающие значимость β -амилоидного пептида (А β) в развитии БА. Показано, что генетические формы БА связаны с нарушением метаболизма А β [3], а ген *APP* белка-предшественника А β строго ассоциирован с БА (согласно базе данных DisGeNET, gene-disease association score составляет 0,9). Данные *in vivo* и *in vitro* исследований подтверждают нейротоксичность различных форм А β [4]. Более того, у пациентов с диагнозом БА были обнаружены нарушение выведения А β из центральной нервной системы [5] и снижение концентрации и активности ферментов, отвечающих за протеолиз А β [6]. В результате сложилось представление о дисбалансе продукции и клиренса А β в центральной нервной системе как об одном из ключевых факторов развития БА. В свою очередь накопление А β в тканях головного мозга инициирует образование нейрофибриллярных клубков [7], воспаление [8], нарушение синаптической передачи [9] и гибель нейронов [10].

Человеческий сывороточный альбумин (ЧСА) связывает ~90 % А β и считается его основным «депо» в сыворотке крови [11]. По предварительным оценкам, в цереброспинальной жидкости от 40 до 94 % А β образует комплекс с ЧСА [12]. ЧСА подавляет агрегацию А β и снижает риск развития БА и её прогрессирование [13]. ЧСА, являясь компонентом интерстициальной жидкости, присутствует в межклеточном пространстве паренхимы головного мозга [14] и входит в состав амилоидных отложений (бляшек) в головном мозге пациентов, умерших от БА [15]. Показано, что клетки микроглии головного мозга синтезируют альбумин в ответ на стимуляцию А β [16]. Перечисленные факты указывают на первостепенное значение ЧСА в метаболизме А β . По этой причине ЧСА рассматривается как терапевтическая мишень для лечения БА [13]. Предварительные данные рандомизированных плацебо-контролируемых исследований подтверждают эффективность лечения БА посредством плазмафереза с заменой сывороточного альбумина пациента на очищенный фармакологический препарат ЧСА: после курса лечения у пациентов с диагнозом БА лёгкой и умеренной степени тяжести были зафиксированы улучшения памяти и речевой функции [13]. Однако этот подход сопровождается выводом из кровотока множества физиологически значимых лигандов ЧСА, что может привести к нарушению их ме-

таболизма. Плазмаферез сопряжён с рисками многочисленных осложнений, имеет противопоказания, требует специального оборудования и обученного медицинского персонала [17]. Более физиологичным и удобным подходом является увеличение сродства ЧСА к А β путём изменения концентрации лигандов ЧСА в крови. Наши исследования показывают возможность увеличения сродства ЧСА к А β с помощью таких низкомолекулярных лигандов ЧСА, как линолевая кислота [18], серотонин [19] и ибупрофен [20]. Полученные для этой панели веществ *in vitro* данные хорошо согласуются с результатами клинических и эпидемиологических исследований. Было показано, что уровень линолевой кислоты снижен у пациентов с диагнозом БА [21]. В то же время приём ингибиторов обратного захвата серотонина [22] снижает количество амилоидных отложений в мозге возрастных пациентов, а длительный приём ибупрофена ассоциирован с значительным снижением риска развития БА [23].

До сих пор остаётся неизученной способность пептидных и белковых лигандов ЧСА модулировать его взаимодействие с А β . Решение этой задачи требует проведения систематического поиска пептидов и белков, лигандов ЧСА, способных влиять на его взаимодействие с А β , с последующим экспериментальным изучением свойств отобранных кандидатов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Формирование панелей веществ

Для формирования панели пептидов/белков, лигандов ЧСА, потенциально способных модулировать образование комплекса ЧСА-А β , были проанализированы базы данных DrugBank [24, 25], BioGRID [26] и IntAct [27]. База BioGRID содержит 226 записей белковых лигандов, непосредственно относящихся к ID_UniProt: P02768 (*H. sapiens*), соответствующей ЧСА. База IntAct содержит 139 записей белковых лигандов ЧСА. Пересечение списков белковых лигандов ЧСА баз BioGRID и IntAct дало конечную панель, содержащую 242 записи. DrugBank содержит 407 записей лигандов ЧСА, из которых 21 запись соответствует пептидам; записи о белковых лигандах ЧСА в данной базе данных отсутствуют.

Ассоциация с БА

Анализ ассоциации исследуемой панели пептидных лигандов ЧСА с патогенезом БА был проведён путём поиска наличия литературных данных, подтверждающих ассоциацию конкретного пептида с БА. Поиск и анализ соответствующих литературных источников (взаимосвязь с БА) были проведены на основе данных онлайн-ресурса Alzforum [28], который является исследовательским проектом по разработке и управлению научными знаниями, информацией и данными о БА. Ассоциация белковых лигандов с БА проверялась по базам DisGeNET [29] и Open Targets Genetics [30]. Использование базы данных Open Targets Genetics позволило также оценить степень ассоциации конкретного белка (гена) с заболеванием (association score).

Характеристики веществ

Для каждой записи о пептиде, лиганде ЧСА, из DrugBank были собраны данные об ID вещества (Accession

Number: DB00000), название вещества (Name), название близкородственных соединений веществу с данным ID (Direct Parent), а также поля, относящиеся к классификации вещества: Drug Kingdom, Drug Superclass и Drug Class. Дополнительно были собраны физико-химические характеристики: молекулярная масса (Average Mass), значения экспериментальной и теоретической растворимости (Experimental Water Solubility/Calculated Water Solubility), вероятность прохождения гематоэнцефалического барьера (BBB Probability), значение полулетальной дозы (Rat Acute Toxicity).

Для каждого белка, лиганда ЧСА, дополнительно были собраны данные о доступных трёхмерных (3D) структурах, DisProt ID – для оценки степени внутренней неупорядоченности, а также данные о структурной классификации (SCOP [31]) и молекулярной функции. Изоэлектрическая точка и коэффициенты экстинкции были рассчитаны с помощью ProtParam Tool. Привязка каждой записи лиганда к номеру UniProt ID позволила также собрать данные о клеточной локализации лиганда (Subcellular Location), параметре, необходимом для отбора только тех лигандов, которые могут образовывать комплексы с ЧСА *in vivo*.

Критерии отбора

В качестве основного критерия отбора для формирования конечной панели пептидных лигандов ЧСА, способных модулировать образование его комплекса с Аβ, была использована строгая ассоциация с БА. Для белков дополнительно к ассоциации с БА в качестве критерия отбора была использована клеточная локализация белка.

Оценка сайтов связывания

Для оценки специфичности сайтов связывания исследуемых лигандов были смоделированы трёхмерные комплексы пептидных и некоторых белковых лигандов, отобранных из сформированных панелей. Трёхмерная структура ЧСА была получена из Protein Data Bank. Трёхмерные структуры низкомолекулярных пептидных лигандов были получены в формате sdf с сервера PubChem и преобразованы в файлы pdb с помощью PyMOL v. 1.6.9.0. Для остальных лигандов (высокомолекулярных пептидов и белков) структуры были получены из Protein Data Bank. Сервер ClusPro [32] использовался для моделирования комплексов ЧСА – лиганд. Для низкомолекулярных пептидных лигандов для моделирования комплексов ЧСА – лиганд использовалась программа AutoDock Vina [33].

Реализация

Реализация алгоритма идентификации и извлечения данных была осуществлена на свободно распространяемом высокоуровневом языке программирования Python 3.6 в среде разработки PyCharm v. 2020. Специализированная библиотека Python Requests была использована для составления HTTP-запросов, а библиотека BeautifulSoup, предназначенная для парсинга веб-страниц, использовалась для обработки HTML-документов, поиска и сбора данных в локальную базу. Синтаксический анализ HTML проводили с использованием методов parse(), get(), find(), findall(), get_text(). Характеристики взаимодействий в комплексах белков – лиганд были получены с помощью скрипта, написанного на языке программирования Python 3.6.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Панель пептидных лигандов ЧСА, способных модулировать образование его комплекса с Аβ

Для формирования панели пептидных лигандов ЧСА, потенциально способных модулировать образование комплекса ЧСА-Аβ, из 407 записей из DrugBank (относящихся к ID_UniProt: P02768, *H. sapiens*, соответствующей ЧСА) был отобран 21 пептид. Пептиды, являющиеся лигандами ЧСА, в базах данных BioGRID и IntAct пересекались с данными DrugBank. Применение критериев отбора и анализ соответствующих литературных источников на основе данных онлайн-ресурса Alzforum, а именно наличие более одного источника, ассоциирующего пептид с БА, выявили 11 записей, соответствующих целям исследования (табл. 1).

К таким веществам относятся, например, ванкомицин (vancomycin), инсулин детемир (insulin detemir), семаглутид (semaglutide) и другие. 11 пептидов были разделены на три группы: 1-я группа (масса до 1,5 кДа) – низкомолекулярные пептиды (дипептиды, олигопептиды, циклические пептиды); 2-я группа (масса 1,5–10 кДа) – пептиды средней массы; 3-я группа (масса более 10 кДа) – высокомолекулярные пептиды.

Для оценки специфичности сайтов связывания исследуемых лигандов с ЧСА были смоделированы трёхмерные комплексы ЧСА с отобранными пептидами (см. Материалы и методы). Для 11 пептидов выявлены специфичные сайты связывания с ЧСА. Ранее методами молекулярного докинга нами было предсказано положение основного и вторичного сайтов связывания ЧСА-Аβ [20]. Полученные данные согласуются с результатами экспериментальных и молекулярно-динамических исследований [34], которые показали, что бороздка ЧСА между доменами I и III является наиболее вероятным местом связывания мономера Аβ. Процесс связывания сопровождался преобразованием структуры Аβ из случайного клубка в структуру α-спирали, в то время как заметных структурных изменений в ЧСА не наблюдалось [34]. Полученная нами информация о вероятных сайтах связывания Аβ может быть использована для объяснения механизмов изменения сродства ЧСА-Аβ под влиянием лигандов ЧСА. Данный подход был успешно апробирован при изучении модулирующих эффектов ибупрофена по отношению к процессу комплексообразования ЧСА-Аβ [20].

Анализ потенциальных сайтов связывания ЧСА с пептидами сформированной панели показал, что в качестве наиболее перспективных для дальнейших экспериментальных исследований могут рассматриваться пептиды 2-й группы (лираглутид, эксенатид, семаглутид и инсулин детемир). Для данных пептидов сайты связывания с ЧСА пересекаются с предполагаемыми сайтами связывания мономерной формы ЧСА-Аβ [34], что может существенно влиять на процесс комплексообразования ЧСА-Аβ. Пептиды данной группы обладают гипогликемической активностью и используются для лечения сахарного диабета. В то же время отобранные пептиды 2-й группы активно изучаются на предмет лечебного эффекта по отношению к БА. Показана ассоциация применения инсулина детемир

ТАБЛИЦА 1
ПАНЕЛЬ ПЕПТИДНЫХ ЛИГАНДОВ ЧСА,
ПОТЕНЦИАЛЬНО СПОСОБНЫХ МОДУЛИРОВАТЬ
ОБРАЗОВАНИЕ ЕГО КОМПЛЕКСА С Аβ

TABLE 1
PANEL OF PEPTIDE HSA LIGANDS
POTENTIALLY CAPABLE OF MODULATING
THE FORMATION OF ITS COMPLEX WITH Aβ

№	Название пептида	Drug bank ID	MW (Da)	Классификация
1	Бензилпенициллин	DB01053	334,39	Дипептиды
2	Эналаприл	DB00584	376,4467	Дипептиды
3	Аргатробан	DB00278	508,64	Дипептиды
4	Октреотид	DB00104	1019,25	Олигопептиды
5	Ванкомицин	DB00512	1449,254	Циклические пептиды
6	Лираглутид	DB06655	3751,2	Пептиды
7	Эксенатид	DB01276	4186,6	Пептиды
8	Семаглутид	DB13928	4113,641	Полипептиды
9	Инсулин детемир	DB01307	5916,9	Пептиды
10	Интерферон бета	DB14999	40036	Пептиды
11	Гиалуронидаза (овечья)	DB00070	53870,9	Пептиды

Примечание. MW – молекулярная масса (molecular weight).

и лираглутида с улучшением когнитивных функций пациентов с БА по сравнению с группой пациентов, принимающих плацебо [35, 36]. Лираглутид, семаглутид и эксенатид снижают риск развития БА у пациентов с диагнозом сахарного диабета 2-го типа (по данным ресурса Alzforum и B. Zhou и соавт. [37]). В то же время эксенатид пока не показал положительных эффектов в лечении БА [38].

Панель белков, лигандов ЧСА, **способных модулировать образование** **его комплекса с Аβ**

Для формирования панели белковых лигандов ЧСА, способных модулировать образование комплекса ЧСА с Аβ были исследованы базы данных белок-белковых взаимодействий BioGRID [26], IntAct [27]. Пересечение списков белковых лигандов ЧСА баз BioGRID и IntAct дало конечную панель, содержащую 242 записи. Ассоциация выбранных лигандов с БА проверялась по базам DisGeNET [29] и Open Targets Genetics [30]. По соответствующему номеру UniProt ID были собраны данные о клеточной локализации лиганда (Subcellular Location) для выбора только тех лигандов, которые могут образовывать комплексы с ЧСА *in vivo*. В результате конечная панель белковых лигандов содержит 34 белка (табл. 2).

Наиболее перспективными для дальнейших экспериментальных исследований, по данным молекулярного моделирования отобранных белковых лигандов ЧСА, являются белки S100A8 (UniProt ID P05109), цистатин С (UniProt ID P01034), серотрансферин (UniProt ID P02787), ингибитор С1-эстеразы (UniProt ID P05155). Молекулярное моделирование их сайтов связывания с ЧСА даёт пересечение с потенциальными сайтами связывания ЧСА-Аβ. Отобранные кандидаты различаются по структур-

ному классу (по данным базы SCOP): альфа-спиральный S100A8 и сочетающие в своей структуре альфа- и бета-элементы (цистатин С и ингибитор С1-эстеразы – α + β; серотрансферин – α/β). Различие в структурном классе отобранных белковых кандидатов потенциально может приводить к различным механизмам комплексообразования с ЧСА и влиянию на его взаимодействие с Аβ.

Отобранные кандидаты вовлечены в патогенез БА. Ингибитор С1-эстеразы относится к белкам острой фазы, подавляет воспаление сосудов, сохраняя таким образом целостность гематоэнцефалического барьера [39]. Показано, что в головном мозге пациентов с БА наблюдается недостаточность активации экспрессии ингибитора С1 эстеразы, что в свою очередь приводит к повышению активности компонентов системы комплемента, что, очевидно, способствует прогрессированию БА [40]. Серотрансферин и цистатин С имеют статистически значимую степень ассоциации с БА (по данным базы Open Targets, показатель ассоциации больше 0,1). Серотрансферин связывает и переносит ионы железа в сыворотке крови, препятствуя его участию в свободнорадикальных процессах [41]. Его уровень снижен у пациентов с диагнозом БА как в образцах ткани головного мозга, так и в образцах плазмы [42]. Цистатин С (ингибитор сериновых протеаз) относится к группе белков с внутренней неупорядоченностью (Disprot ID DP03297). Этот белок обладает нейропротекторной активностью, снижая гибель нейронов, в том числе и после воздействия нейротоксичных форм Аβ, а полиморфизм в гене этого белка ассоциирован с повышенным риском развития БА [43]. Уровень S100A8 (провоспалительного медиатора) снижен в образцах сыворотки пациентов с диагнозом БА [44]. Более того, накоплены данные, подтверждающие наличие корреляции между экспрессией S100A8 и Аβ [45].

ТАБЛИЦА 2
ПАНЕЛЬ БЕЛКОВЫХ ЛИГАНДОВ ЧСА,
ПОТЕНЦИАЛЬНО СПОСОБНЫХ МОДУЛИРОВАТЬ
ОБРАЗОВАНИЕ ЕГО КОМПЛЕКСА С Аβ

TABLE 2
PANEL OF PROTEIN HSA LIGANDS
POTENTIALLY CAPABLE OF MODULATING
THE FORMATION OF ITS COMPLEX WITH Aβ

№	Название белка	UniProt ID	MW (Da)	Ассоциация с БА		Структурные классы
				DisGeNET	Open Targets	
1	Аполипопротеин C-II	P02655	11284	Y	Y	–
2	Трипсин-3	P35030	32529	Y	Y	β-белки
3	Аполипопротеин C-I	P02654	9332	Y	Y	–
4	Белок 8, подобный рецептору липопротеинов низкой плотности	Q14114	105634	Y	Y	–
5	Аполипопротеин A-I	P02647	30778	Y	Y	α-белки
6	Человеческий альфа-1-микроглобулин	P02760	38999	N	Y	Малые белки
7	S100A8	P05109	10835	Y	Y	α-белки
8	Гельсолин	P06396	85698	Y	Y	α + β-белки (α+β)
9	Аполипопротеин A-II	P02652	11175	Y	Y	
10	Фактор свёртывания крови VII	P08709	51594	N	Y	β-белки
11	Фактор В системы комплемента	P00751	85533	Y	Y	β-белки; α-/β-белки (α/β); малые белки
12	Аполипопротеин E	P02649	36154	Y	Y	α-белки
13	Прокатепсин L	P07711	37564	Y	Y	α + β-белки (α+β)
14	Гаптоглобин	P00738	45205	Y	Y	–
15	Альфа-2-HS-гликопротеин	P02765	39341	Y	Y	–
16	Аполипопротеин C-III	P02656	10852	Y	Y	–
17	Тяжёлая цепь H1 интер-альфа-ингибитора трипсина	P19827	101389	N	Y	–
18	Простатспецифический антиген	P07288	28741	Y	Y	–
19	Фактор H системы комплемента	P08603	139096	Y	Y	–
20	Белок C4-A системы комплемента	P0C0L4	192785	Y	Y	–
21	Регулятор 2 кальций-активируемых хлоридных каналов	Q9UQC9	103941	N	Y	–
22	Внеклеточная серин/треониновая протеинкиназа FAM20C	Q8IXL6	66234	Y	N	–
23	Гомолог 1 Crumbs	P82279	154183	N	Y	–
24	Гемопексин	P02790	51676	N	Y	–
25	Белок-предшественник бета-амилоида	P05067	86943	Y	Y	α + β-белки (α+β); α-белки
26	Фактор D системы комплемента	P00746	27033	Y	Y	β-белки
27	Цистатин C	P01034	15799	Y	Y	α + β-белки (α+β)
28	Тромбоцитарный основной белок	P02775	13894	N	Y	α + β-белки (α+β)
29	Ингибитор C1 эстеразы	P05155	55154	Y	Y	
30	Дермцидин	P81605	11284	N	Y	
31	Тяжелая цепь иммуноглобулина A	P01876	37655	N	Y	
32	Лёгкая цепь каппа-типа иммуноглобулина	P01834	11765	N	Y	β-белки
33	Серотрансферрин	P02787	77064	Y	Y	α-/β-белки (α/β)
34	Аполипопротеин A-IV	P06727	45372	Y	Y	α-белки

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами была сформирована панель из 11 пептидов и 34 белков, лигандов ЧСА, потенциально способных модулировать образование его комплекса с Аβ. На основе данных молекулярного докинга были выбраны как наиболее перспективные кандидаты пептиды: лираглутид, эксенатид, семаглутид и инсулин деглир, – и белки: S100A8, трансферрин, ингибитор С1-эстеразы и цистатин С, – для дальнейшей экспериментальной проверки в отношении их влияния на взаимодействие ЧСА-Аβ. Данные вещества могут стать основой для разработки первых в своём классе препаратов для профилактики развития БА.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 20-74-10072 (Литус Е.А.).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Thalhauser CJ, Komarova NL. Alzheimer's disease: Rapid and slow progression. *J R Soc Interface*. 2012; 9(66): 119-126. doi: 10.1098/rsif.2011.0134
2. Sanabria-Castro A, Alvarado-Echeverría I, Monge-Bonilla C. Molecular pathogenesis of Alzheimer's disease: An update. *Ann Neurosci*. 2017; 24(1): 46-54. doi: 10.1159/000464422
3. Cheignon C, Tomas M, Bonnefont-Rousselot D, Faller P, Hureau C, Collin F. Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. *Redox Biol*. 2018; 14: 450-464. doi: 10.1016/j.redox.2017.10.014
4. Mucke L, Selkoe DJ. Neurotoxicity of amyloid β-protein: Synaptic and network dysfunction. *Cold Spring Harbor Perspect Med*. 2012; 2(7): a006338. doi: 10.1101/cshperspect.a006338
5. Marr RA, Hafez DM. Amyloid-beta and Alzheimer's disease: The role of neprilysin-2 in amyloid-beta clearance. *Front Aging Neurosci*. 2014; 6: 187. doi: 10.3389/fnagi.2014.00187
6. Zhang H, Liu D, Huang H, Zhao Y, Zhou H. Characteristics of insulin-degrading enzyme in Alzheimer's disease: A meta-analysis. *Curr Alzheimer Res*. 2018; 15(7): 610-617. doi: 10.2174/1567205015666180119105446
7. Sadigh-Eteghad S, Sabermarouf B, Majidi A, Talebi M, Farhoudi M, Mahmoudi J. Amyloid-beta: A crucial factor in Alzheimer's disease. *Med Princ Pract*. 2015; 24(1): 1-10. doi: 10.1159/000369101
8. Meraz-Ríos MA, Toral-Ríos D, Franco-Bocanegra D, Villeda-Hernández J, Campos-Peña V. Inflammatory process in Alzheimer's Disease. *Front Integr Neurosci*. 2013; 7: 59. doi: 10.3389/fnint.2013.00059
9. Shankar GM, Walsh DM. Alzheimer's disease: Synaptic dysfunction and A-beta. *Mol Neurodegener*. 2009; 4: 48. doi: 10.1186/1750-1326-4-48
10. Moreira PI, Carvalho C, Zhu X, Smith MA, Perry G. Mitochondrial dysfunction is a trigger of Alzheimer's disease patho-

physiology. *Biochim Biophys Acta*. 2010; 1802(1): 2-10. doi: 10.1016/j.bbdis.2009.10.006

11. Algamal M, Milojevic J, Jafari N, Zhang W, Melacini G. Mapping the interactions between the Alzheimer's Aβ-peptide and human serum albumin beyond domain resolution. *Biophys J*. 2013; 105(7): 1700-1709. doi: 10.1016/j.bpj.2013.08.025
12. Menendez-Gonzalez M, Gasparovic C. Albumin exchange in Alzheimer's disease: Might CSF be an alternative route to plasma? *Front Neurol*. 2019; 10: 1036. doi: 10.3389/fneur.2019.01036
13. Boada M, López O, Núñez L, Szczepiorkowski ZM, Torres M, Grifols C, et al. Plasma exchange for Alzheimer's disease Management by Albumin Replacement (AMBAR) trial: Study design and progress. *Alzheimer Dement (NY)*. 2019; 5: 61-69. doi: 10.1016/j.trci.2019.01.001
14. Prajapati KD, Sharma SS, Roy N. Current perspectives on potential role of albumin in neuroprotection. *Rev Neurosci*. 2011; 22(3): 355-363. doi: 10.1515/rns.2011.028
15. Wisniewski HM, Kozlowski PB. Evidence for blood-brain barrier changes in senile dementia of the Alzheimer type (SDAT). *Ann N Y Acad Sci*. 1982; 396: 119-129. doi: 10.1111/j.1749-6632.1982.tb26848.x
16. Ahn S-M, Byun K, Cho K, Kim JY, Yoo JS, Kim D, et al. Human microglial cells synthesize albumin in brain. *PLoS One*. 2008; 3(7): e2829. doi: 10.1371/journal.pone.0002829
17. Filipov JJ, Zlatkov BK, Dimitrov EP. Plasma exchange in clinical practice. In: Tutar Y, Tutar L (eds). *Plasma medicine. Concepts and clinical applications*. London: IntechOpen; 2018. doi: 10.5772/intechopen.76094
18. Litus EA, Kazakov AS, Sokolov AS, Nemashkalova EL, Galushko EI, Dzhus UF, et al. The binding of monomeric amyloid β peptide to serum albumin is affected by major plasma unsaturated fatty acids. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019; 510(2): 248-253. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.01.081
19. Litus EA, Kazakov AS, Deryusheva EI, Nemashkalova EL, Shevelyova MP, Nazipova AA, et al. Serotonin promotes serum albumin interaction with the monomeric amyloid β peptide. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(11): 5896. doi: 10.3390/ijms22115896
20. Litus EA, Kazakov AS, Deryusheva EI, Nemashkalova EL, Shevelyova MP, Machulin AV, et al. Ibuprofen favors binding of amyloid-β peptide to its depot, serum albumin. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(11): 6168. doi: 10.3390/ijms23116168
21. Cunnane SC, Schneider JA, Tangney C, Tremblay-Mercier J, Fortier M, Bennett DA, et al. Plasma and brain fatty acid profiles in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2012; 29(3): 691-697. doi: 10.3233/jad-2012-110629
22. Cirrito John R, Disabato Brianne M, Restivo Jessica L, Verges Deborah K, Goebel Whitney D, Sathyan A, et al. Serotonin signaling is associated with lower amyloid-β levels and plaques in transgenic mice and humans. *Proc Nat Acad Sci*. 2011; 108(36): 14968-14973. doi: 10.1073/pnas.1107411108
23. Vlad SC, Miller DR, Kowall NW, Felson DT. Protective effects of NSAIDs on the development of Alzheimer disease. *Neurology*. 2008; 70(19): 1672-1677. doi: 10.1212/01.wnl.0000311269.57716.63
24. Law V, Knox C, Djoumbou Y, Jewison T, Guo AC, Liu Y, et al. DrugBank 4.0: Shedding new light on drug metabolism. *Nucleic Acids Res*. 2014; 42(D1): D1091-D1097. doi: 10.1093/nar/gkt1068
25. Wishart DS, Knox C, Guo AC, Cheng D, Shrivastava S, Tzur D, et al. DrugBank: A knowledgebase for drugs, drug actions

and drug targets. *Nucleic Acids Res.* 2008; 36(Suppl 1): D901-D906. doi: 10.1093/nar/gkm958

26. Oughtred R, Rust J, Chang C, Breitkreutz BJ, Stark C, Willemis A, et al. The BioGRID database: A comprehensive biomedical resource of curated protein, genetic, and chemical interactions. *Protein Sci.* 2021; 30(1): 187-200. doi: 10.1002/pro.3978

27. Del Toro N, Shrivastava A, Ragueneau E, Meldal B, Combe C, Barrera E, et al. The IntAct database: Efficient access to fine-grained molecular interaction data. *Nucleic Acids Res.* 2022; 50(D1): D648-D653. doi: 10.1093/nar/gkab1006

28. Kinoshita J, Clark T. Alzforum. *Methods in Molecular Biology.* Clifton, NJ; 2007: 365-381. doi: 10.1007/978-1-59745-520-6_19

29. Piñero J, Bravo À, Queralt-Rosinach N, Gutiérrez-Sacristán A, Deu-Pons J, Centeno E, et al. DisGeNET: A comprehensive platform integrating information on human disease-associated genes and variants. *Nucleic Acids Res.* 2017; 45(D1): D833-D839. doi: 10.1093/nar/gkw943

30. Carvalho-Silva D, Pierleoni A, Pignatelli M, Ong C, Fumis L, Karamanis N, et al. Open Targets Platform: New developments and updates two years on. *Nucleic Acids Res.* 2019; 47(D1): D1056-D1065. doi: 10.1093/nar/gky1133

31. Andreeva A, Kulesha E, Gough J, Murzin AG. The SCOP database in 2020: Expanded classification of representative family and superfamily domains of known protein structures. *Nucleic Acids Res.* 2020; 48(D1): D376-D382. doi: 10.1093/nar/gkz1064

32. Desta IT, Porter KA, Xia B, Kozakov D, Vajda S. Performance and its limits in rigid body protein-protein docking. *Structure.* 2020; 28(9): 1071-1081.e3. doi: 10.1016/j.str.2020.06.006

33. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem.* 2010; 31(2): 455-461. doi: 10.1002/jcc.21334

34. Choi TS, Lee HJ, Han JY, Lim MH, Kim HI. Molecular insights into human serum albumin as a receptor of amyloid- β in the extracellular region. *J Am Chem Soc.* 2017; 139(43): 15437-15445. doi: 10.1021/jacs.7b08584

35. Edison P, Femminella GD, Ritchie CW, Holmes C, Walker Z, Ridha BH, et al. Evaluation of liraglutide in the treatment of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (N Y).* 2021; 17(S9): e057848. doi: 10.1002/alz.057848

36. Claxton A, Baker LD, Hanson A, Trittschuh EH, Cholerton B, Morgan A, et al. Long-acting intranasal insulin detemir improves cognition for adults with mild cognitive impairment or early-stage Alzheimer's disease dementia. *J Alzheimers Dis.* 2015; 44(3): 897-906. doi: 10.3233/jad-141791

37. Zhou B, Zissimopoulos J, Nadeem H, Crane MA, Goldman D, Romley JA. Association between exenatide use and incidence of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (N Y).* 2021; 7(1): e12139. doi: 10.1002/trc2.12139

38. Mullins RJ, Mustapic M, Chia CW, Carlson O, Gulyani S, Tran J, et al. A pilot study of exenatide actions in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res.* 2019; 16(8): 741-752. doi: 10.2174/1567205016666190913155950

39. Farfara D, Feerman E, Richards A, Revenko AS, MacLeod RA, Norris EH, et al. Knockdown of circulating C1 inhibitor induces neurovascular impairment, glial cell activation, neuroinflammation, and behavioral deficits. *Glia.* 2019; 67(7): 1359-1373. doi: 10.1002/glia.23611

40. Yasojima K, McGeer EG, McGeer PL. Complement regulators C1 inhibitor and CD59 do not significantly inhibit complement activation in Alzheimer disease. *Brain Res.* 1999; 833(2): 297-301. doi: 10.1016/s0006-8993(99)01514-0

41. Olanow CW. A radical hypothesis for neurodegeneration. *Trends Neurosci.* 1993; 16(11): 439-444. doi: 10.1016/0166-2236(93)90070-3

42. Chen M, Xia W. Proteomic profiling of plasma and brain tissue from Alzheimer's disease patients reveals candidate network of plasma biomarkers. *J Alzheimers Dis.* 2020; 76(1): 349-368. doi: 10.3233/JAD-200110

43. Kaur G, Levy E. Cystatin C in Alzheimer's disease. *Front Mol Neurosci.* 2012; 5: 79. doi: 10.3389/fnmol.2012.00079

44. Shen L, Liao L, Chen C, Guo Y, Song D, Wang Y, et al. Proteomics analysis of blood serums from Alzheimer's disease patients using iTRAQ labeling technology. *J Alzheimers Dis.* 2017; 56: 361-378. doi: 10.3233/JAD-160913

45. Cristóvão JS, Gomes CM. S100 proteins in Alzheimer's disease. *Front Neurosci.* 2019; 13. doi: 10.3389/fnins.2019.00463

Сведения об авторах

Локтюшов Евгений Владимирович – научный сотрудник лаборатории новых методов в биологии, Институт биологического приборостроения с опытным производством Российской академии наук – обособленное подразделение ФГБУН ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», e-mail: zhenyaloktushov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2028-1789>

Литус Екатерина Андреевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории новых методов в биологии, Институт биологического приборостроения с опытным производством Российской академии наук – обособленное подразделение ФГБУН ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», e-mail: ealitus@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7459-6295>

Дерюшева Евгения Игоревна – кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник лаборатории новых методов в биологии, Институт биологического приборостроения с опытным производством Российской академии наук – обособленное подразделение ФГБУН ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», e-mail: janed1986@ya.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6213-2784>

Information about the authors

Eugene V. Loktushov – Research Officer at the Laboratory of New Methods in Biology, Institute for Biological Instrumentation, Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences, e-mail: zhenyaloktushov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2028-1789>

Ekaterina A. Litus – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of New Methods in Biology, Institute for Biological Instrumentation, Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences, e-mail: ealitus@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7459-6295>

Evgeniya I. Deryusheva – Cand. Sc. (Phys.-Math.), Senior Research Officer at the Laboratory of New Methods in Biology, Institute for Biological Instrumentation, Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences, e-mail: janed1986@ya.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6213-2784>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

МИОМА МАТКИ И ЕЁ АССОЦИАЦИЯ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Бабаева Н.И.,
Беленькая Л.В.,
Шолохов Л.Ф.,
Аталян А.В.,
Сутурина Л.В.

ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Бабаева Наталия Игоревна,
e-mail: miracle_909@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Миома матки является одним из самых распространённых гинекологических заболеваний у женщин репродуктивного возраста, многие аспекты возникновения которого остаются предметом для изучения. В частности, представляет интерес роль метаболического синдрома как потенциального предиктора миомы матки или коморбидного состояния, имеющего патогенетическую значимость.

Целью данного обзора литературы является систематизация современных данных относительно распространённости и ассоциаций метаболического синдрома и миомы матки у женщин репродуктивного возраста. Литературный поиск проводился с использованием баз научной литературы eLIBRARY, PubMed, NCBI, CyberLeninka, официального сайта IDF за период с 2010 по 2022 г. Для поиска в PubMed мы использовали следующие ключевые слова: *uterine fibroid, metabolic syndrome, uterine fibroid and metabolic syndrome, uterine myoma and metabolic syndrome, uterine myoma and metabolic disorders, uterine myoma and MetS*. Всего проанализировано 439 источников, критериям поиска соответствовали 32 источника.

Результаты. Анализ наиболее крупных эпидемиологических исследований, проведённых в последние годы как в неселективных популяциях, так и в госпитальных выборках, демонстрирует значительную распространённость среди женщин как миомы матки, так и метаболического синдрома. Результаты, представленные в публикациях, включённых в обзор, свидетельствуют о наличии взаимосвязей между наличием миомы матки и проявлениями метаболического синдрома.

Выводы. Миома матки и метаболический синдром являются взаимно отягощающими состояниями. Женщины с миомой матки имеют высокий риск сердечно-сосудистых заболеваний, а наличие метаболического синдрома увеличивает риск развития миомы матки. Одним из путей снижения риска возникновения и роста миомы матки является своевременная коррекция метаболического синдрома и его компонентов. С другой стороны, наличие миомы матки должно рассматриваться как основание для активного выявления метаболических нарушений и сердечно-сосудистых рисков.

Ключевые слова: миома матки, метаболический синдром, инсулинорезистентность, ультразвуковое исследование, репродуктивный возраст

Статья поступила: 03.06.2022
Статья принята: 04.10.2022
Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Бабаева Н.И., Беленькая Л.В., Шолохов Л.Ф., Аталян А.В., Сутурина Л.В. Миома матки и её ассоциация с метаболическим синдромом у женщин репродуктивного возраста (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 27-34. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.4

UTERINE FIBROID AND ITS ASSOCIATION WITH METABOLIC SYNDROME IN WOMEN OF REPRODUCTIVE AGE (LITERATURE REVIEW)

**Babaeva N.I.,
Belenkaya L.V.,
Sholokhov L.F.,
Atalyan A.V.,
Suturina L.V.**

Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Natalia I. Babaeva,
e-mail: miracle_909@mail.ru

ABSTRACT

Uterine fibroid is one of the most common gynecological diseases in women of reproductive age and many aspects of this disease remain the subject of investigation. In particular, the role of the metabolic syndrome is of interest as a potential predictor of uterine fibroid or a comorbid condition that has pathogenetic significance.

The aim of this literature review is to systematize current data on the prevalence and associations of the metabolic syndrome and uterine fibroid in women of reproductive age.

Literature search was carried out using the scientific literature databases eLIBRARY, PubMed, NCBI, CyberLeninka, and the official IDF website for the period from 2010 to 2022. In PubMed search, we used the following terms: uterine fibroid, metabolic syndrome, uterine fibroid and metabolic syndrome, uterine myoma and metabolic syndrome, uterine myoma and metabolic disorders, uterine myoma and MetS. A total of 439 sources were analyzed, 32 sources met the search criteria.

Results. An analysis of the largest epidemiological studies conducted in recent years, both in non-selective populations and in hospital samples, demonstrates a significant prevalence of both uterine fibroid and metabolic syndrome among women. The results presented in the publications which were included in the review indicate that there is a relationship between the presence of uterine fibroid and the manifestations of the metabolic syndrome.

Conclusions. Uterine fibroid and metabolic syndrome are mutually aggravating conditions. Women with uterine fibroid have a worse risk profile for cardiovascular disease, and the presence of metabolic syndrome increases the risk of uterine fibroid. One of the ways to reduce the risk of occurrence and growth of uterine fibroid is the timely correction of the metabolic syndrome and its components. On the other hand, the presence of uterine fibroid should be considered as a basis for active detection of metabolic disorders and cardiovascular risks.

Key words: uterine fibroid, metabolic syndrome, insulin resistance, ultrasound, reproductive age

Received: 03.06.2022
Accepted: 04.10.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Babaeva N.I., Belenkaya L.V., Sholokhov L.F., Atalyan A.V., Suturina L.V. Uterine fibroid and its association with metabolic syndrome in women of reproductive age (literature review). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 27-34. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.4

ВВЕДЕНИЕ

Миома матки – это одно из наиболее распространённых гинекологических пролиферативных гормонозависимых заболеваний, которое возникает у 20–40 % женщин репродуктивного возраста [1, 2]. Ультразвуковое исследование (УЗИ) органов малого таза является классическим методом первичного выявления миомы матки, динамического наблюдения и оценки эффективности проводимого лечения. Данный метод позволяет оценить топографические данные, структуру миоматозных узлов, их гемодинамические показатели [3]. В настоящее время всё чаще для диагностики миомы матки используют магнитно-резонансную томографию органов малого таза [4, 5]. Однако эпидемиологические исследования основаны преимущественно на данных УЗИ.

Данные о распространённости миомы матки и характере её клинических проявлений варьируют в различных географических регионах и зависят от возраста, расовой принадлежности женщин, а также от методологии исследований. В ходе исследования, проведённого в 2009 г. с помощью интернет-опроса в США, Великобритании, Франции, Бразилии, Канаде, Германии, Италии и Южной Корее, распространённость миомы матки колебалась от 4,5 % (Великобритания) до 9,8 % (Италия), достигая от 9,4 % (Великобритания) до 17,8 % (Италия) в возрастной группе 40–49 лет. Женщины с миомой матки наиболее часто упоминали о различных симптомах кровотечения: обильные или длительные, межменструальные или частые кровотечения, нерегулярные менструации. Частыми симптомами были также: давление на мочевой пузырь (32,6 %); хроническая тазовая боль (14,5 %); болезненность полового акта (23,5 %); боли, возникающие в середине цикла, после и во время менструального кровотечения (31,3 %, 16,7 % и 59,7 % соответственно) [6].

В 2020 г. на базе гинекологического отделения клинического родильного дома третичного уровня здравоохранения (Национальный центр охраны материнства и детства Министерства здравоохранения Кыргызской Республики) было проведено исследование и опубликованы данные о частоте оперативного лечения женщин по поводу миомы матки, где показано увеличение количества операций по годам, что говорит об увеличении числа женщин с миомой матки и о более тщательном обследовании и выявлении миом. В 2010 г. этот показатель составил 3,5 на 100 женщин, а по прогнозам к 2024 г. он увеличится до 6,8 на 100 женщин. На момент исследования величина данного показателя составила 4,6 на 100 женщин. Авторы указывают на необходимость пересмотра тактики лечения в сторону необходимости органосохраняющих и малоинвазивных вмешательств [7].

При онлайн-опросе 59 411 женщин 18–54 лет, проведённом в США в 2012 г., 7,7 % респонденток сообщили о наличии миомы матки. 9,5 % (5 670 женщин) подверглись гистерэктомии, которая у 32,1 % женщин была произведена вследствие наличия миомы матки. Средний возраст пациенток с миомой матки на момент исследования составил 43,4 года, средний возраст при постановке диагноза – 36,4 года; наибольшее количество миом матки

было выявлено в возрастной группе 50–54 года [8]. Подобный онлайн-опрос с целью выявления распространённости миомы матки на территории США был проведён среди 18 330 женщин в 2016 г. В результате были выделены три основные группы женщин: «группа риска» (у женщин имелись симптомы, указывающие на наличие миомы без клинического диагноза; $n = 300$); «диагностированная» ($n = 871$); «гистерэктомия», связанная с миомой ($n = 272$). Из всех опрошенных женщин у 9 % была диагностирована миома матки, их них 42 % ранее перенесли гистерэктомию по поводу миомы матки [9].

Масштабное эпидемиологическое исследование распространённости миомы матки было проведено в неслективной (негоспитальной) выборке женщин Прибайкальского региона Восточной Сибири, проходивших ежегодный медицинский осмотр по месту работы. Исследование включало 2 389 женщин в возрасте от 18 до 80 лет (средний возраст – $42,8 \pm 11,9$ года). По данным проведённой ультрасонографии органов малого таза, частота миомы матки в среднем составила 26,41 %, при этом доминировали одиночные узлы 3–5-го типов [10].

Исследование, проведённое на территории Гаити в 2019–2020 гг., свидетельствует о высокой распространённости миомы матки у женщин, обратившихся за медицинской помощью. Так, в акушерско-гинекологическом отделении Университетской больницы Миребале диагноз «миома матки» был установлен у 116 пациенток из 193 женщин старше 20 лет, что составило 60,1 % [11].

В 2013 г. были опубликованы результаты исследования распространённости гормонозависимых гинекологических заболеваний у бесплодных женщин основных этнических групп на территории Республики Бурятия. Были обследованы 156 женщин репродуктивного возраста, обратившихся по поводу бесплодия (88 русских женщин, 68 женщин бурятской национальности). Исследователи провели анкетирование пациенток, УЗИ органов малого таза, гистеросальпингографию, использовали эндоскопический метод исследования – лапароскопию. Среди женщин с бесплодием миома матки встречалась в 31 (46 %) случае у женщин бурятской национальности и в 19 (21,6 %) случаях у русских женщин [12].

В опубликованный в 2019 г. систематический обзор о распространённости миомы матки вошли 82 статьи, включающие результаты 16 одноцентровых исследований, 37 регистрационных исследований (в том числе 16 отчётов об исследовании здоровья чернокожих женщин и 9 – об исследовании здоровья медсестёр) и 7 «других наблюдательных» исследований. Авторами продемонстрировано, что частота миомы матки колеблется от 4,5 до 68,6 % в зависимости от изучаемой популяции и методов диагностики. В ходе этого исследования было выявлено более 30 факторов риска развития миомы матки, из которых было выбрано 12 основных факторов, самым весомым среди которых оказалась раса. Чёрная раса была единственным фактором, который, как было показано, постоянно связан с повышенным риском миомы матки. К остальным значимым факторам риска отнесли возраст, семейный анамнез, курение, период времени после последних родов, роды в анамнезе, отказ от ис-

пользования оральных контрацептивов, наличие артериальной гипертензии, употребление в пищу большого количества углеводов и консервированных продуктов [13].

В упомянутом выше исследовании эпидемиологии миомы матки в Восточной Сибири также продемонстрировано возрастание распространённости миомы матки с увеличением возраста обследованных. Кроме этого, наиболее значимыми факторами, ассоциированными с миомой матки, согласно результатам этого исследования, оказались: возраст менархе; наличие более 4 беременностей; поздняя менопауза; увеличение индекса массы тела (ИМТ) более 25 кг/м² [10].

С учётом вышеизложенного, среди факторов, значимых в отношении прогноза миомы матки, можно отметить некоторые компоненты метаболического синдрома (МС) – состояния, которое характеризуется сочетанием нарушений углеводного обмена, абдоминального ожирения, дислипидемии, гипертензии.

В настоящее время имеется несколько консенсусов относительно диагностики метаболического синдрома у женщин:

1. NCEP ATP III, 2001 г.: окружность талии > 88 см; уровень триглицеридов > 1,69 ммоль/л или приём препаратов, снижающих их уровень; уровень липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) < 50 мг/дл или приём препаратов, повышающих их уровень; артериальное давление (АД) > 130/85 мм рт. ст. или приём гипотензивных препаратов; глюкоза плазмы натощак > 110 мг/дл или приём сахароснижающих препаратов [14].

2. IDF, 2005 г.: окружность талии > 80 см; уровень триглицеридов > 150 мг/дл; ЛПВП < 50 мг/дл; АД > 130/85 мм рт. ст. или приём гипотензивных препаратов; глюкоза плазмы натощак > 100 мг/дл или зарегистрированный диагноз сахарный диабет [15].

3. AACE, 2003 г.: ИМТ > 25 кг/м²; уровень триглицеридов > 150 мг/дл; ЛПВП < 50 мг/дл; АД > 130/85 мм рт. ст.; глюкоза плазмы натощак 110–126 мг/дл; уровень гликемии через 2 ч после орального глюкозотолерантного теста > 140 мг/дл [16].

4. АНА/ННЛВІ, 2009 г. [17], пересмотр 2005 г. [18]: окружность талии определяется специфически для страны; уровень триглицеридов не определяется; ЛПВП < 50 мг/дл; АД > 130/85 мм рт. ст. или приём гипотензивных препаратов; уровень гликемии натощак > 100 мг/дл или приём сахароснижающих препаратов.

В России в качестве критериев МС приняты рекомендации второго пересмотра (2009 г.) экспертов Всероссийского научного общества кардиологов по диагностике и лечению метаболического синдрома: окружность талии > 80 см; уровень триглицеридов > 1,7 ммоль/л; ЛПВП < 1,2 ммоль/л; АД > 130/85 мм рт. ст.; уровень липопротеинов низкой плотности > 3,0 ммоль/л; гипергликемия натощак (глюкоза в плазме крови натощак $\geq 6,1$ ммоль/л); нарушение толерантности к глюкозе (глюкоза в плазме крови через 2 часа после нагрузки глюкозой в пределах $\geq 7,8$ и $\leq 11,1$ ммоль/л) [19].

Распространённость метаболического синдрома является предметом активного изучения. В 2007 г. Е.В. Шляхто и А.О. Кондарди опубликовали литературный обзор

на тему распространённости метаболического синдрома в Европе, Азии, США и других регионах в зависимости от используемых критериев диагностики [20]. В период с 2010 по 2012 г. было проведено Китайское национальное исследование, в рамках которого были обследованы 98 042 пациента обоих полов в возрасте от 18 лет. В результате выяснено, что 23,8 % женщин в Китае имеют метаболический синдром [21]. В 2018 г. были опубликованы результаты метаанализа исследований, проведённых на территории Бангладеш. В данный метаанализ вошли 10 статей, опубликованных до 2017 г. Согласно полученным результатам, распространённость МС среди женщин составила 32 %, что сопоставимо с показателями на территории других стран и регионов [22]. Неуклонный рост МС в популяции и проблема отсутствия общепринятых этнически дифференцированных критериев диагностики отмечена и другими авторами [23].

В 2013 г. была опубликована статья, где была проведена оценка влияния метаболического синдрома в послеоперационном периоде после оперативного вмешательства по поводу миомы матки у пациенток с ожирением. В исследование вошли 48 пациенток, оперированных во 2-м гинекологическом отделении ГКБ № 5 г. Минска за период с 2011 по 2013 г. Распределение оперированных пациенток по степени ожирения было следующим: I степень – у 67 % пациенток, II степень – у 27 %, III степень – у 6 %. В послеоперационном периоде наблюдались осложнения со стороны послеоперационного шва у 8 %; у 50 % пациенток отмечалось повышение артериального давления до 180 мм рт. ст. в первые-вторые сутки после операции. Данные говорят о важности коррекции метаболических нарушений у женщин с миомой матки [24].

Ряд публикаций представляют результаты исследований, посвящённых оценке взаимосвязи между проявлениями метаболического синдрома, сердечно-сосудистыми заболеваниями и наличием миомы матки. Так, в 2012 г. было опубликовано исследование кардиоваскулярного риска у женщин с миомой матки на основе госпитальной выборки, проведённое в Турции. В исследование ретроспективно были включены 189 пациенток с подтверждённой миомой матки и 189 пациенток, сопоставимых с ними по возрасту, без данного диагноза. Авторами оценивались следующие параметры: пол, возраст, наличие артериальной гипертензии, гиперхолестеринемия. Критериями исключения были: синдром поликистозных яичников, печёночная или почечная недостаточность, злокачественные новообразования и наличие системных заболеваний. В результате в группе пациенток с миомой матки чаще, чем в контрольной группе, отмечалась артериальная гипертензия (42,3 % против 28 % соответственно; $p = 0,004$), сахарный диабет (17,4 % против 8,4 % соответственно; $p = 0,009$), при этом частота гиперлипидемии в группах была сопоставима. Логистический регрессионный анализ выявил независимую и положительную связь миомы матки с артериальной гипертензией (отношение шансов (ОШ) – 2,02; 95%-й доверительный интервал (95% ДИ): 1,25–3,27; $p = 0,004$), сахарным диабетом (ОШ = 2,43; 95% ДИ: 1,23–4,79; $p = 0,010$) и курением (ОШ = 3,46; 95% ДИ: 1,65–7,22; $p = 0,001$) [25].

Данные о взаимосвязи миомы матки и полного фенотипа метаболического синдрома ограничены. Так, в 2012–2014 гг. в Китае было проведено исследование «случай-контроль» на госпитальной выборке, где объектами явились рожавшие женщины в пременопаузе с миомой матки и женщины без миомы матки в соотношении 1:1, сопоставимые по возрасту, возрасту менархе, возрасту первых родов, паритету, использованию оральных контрацептивов и внутриматочной спирали. Всем объектам исследования было проведено трансвагинальное ультразвуковое сканирование органов малого таза, измерение АД, определение уровня глюкозы в плазме натощак, липидного профиля, инсулина и индекса инсулинорезистентности HOMA. MC был диагностирован в соответствии с критериями Американской кардиологической ассоциации и Международной диабетической федерации [16]. Всего в исследование вошли 1230 женщин, по 615 человек в каждой группе. В результате в группе женщин с миомой матки частота метаболического синдрома была выше, чем в контроле (8,3 % против 5,7 % соответственно; $p = 0,052$). Распространённость отдельных компонентов MC также оказалась выше в группе с миомой матки. Авторами исследования была сформулирована гипотеза о том, что миома матки может иметь общие механизмы патогенеза с MC, и сделан вывод о необходимости раннего скрининга метаболических нарушений у женщин с миомой матки [26].

Ранее было показано, что механизмы развития миомы матки отличаются у женщин различных рас [27]. Расовые и этнические аспекты обсуждаются и в эпидемиологических исследованиях, посвящённых миоме матки. Так, в крупном поперечном исследовании HELISUR, проведённом в 2013–2015 гг., изучали факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний среди различных этнических групп Суринама [28]. Методом случайной выборки было отобрано 1800 человек, среди которых было 728 женщин, миома матки была обнаружена у 104 женщин, вошедших в исследование. Распространённость артериальной гипертензии была выше в группе женщин с миомой (64,1 % против 34,6 % соответственно; $p < 0,001$). Также в основной группе чаще встречались ожирение, сахарный диабет и гиперхолестеринемия. Самая высокая распространённость гиперхолестеринемии была обнаружена у азиатских женщин с миомами по сравнению с азиатскими женщинами без миомы (33,3 % против 19,5 % соответственно); у африканских женщин тот же показатель был равен 10 %. При использовании метода простой логистической регрессии показана связь миомы матки с гипертонией, диабетом и гиперхолестеринемией, но не с ожирением, курением и низкой физической активностью. После поправки на возраст, ИМТ, африканское происхождение, использование гормональных контрацептивов, постменопаузальный статус, общий холестерин плазмы натощак и уровень глюкозы в плазме натощак ОШ для гипертензии у женщин с миомой составило 1,84 (95 % ДИ: 1,09–3,10). Авторы предположили, что сочетанное возникновение артериальной гипертензии и миомы матки может быть связано с общим патогенезом пролиферации гладкой мускулатуры в маточной ткани и в сосудистой стенке [29].

В 2016–2018 гг. в Китае было проведено госпитальное исследование «случай-контроль» для оценки связи между

избыточным весом и ожирением и развитием миомы матки. В исследование вошли 89 пациенток с миомой матки, в качестве контрольной группы была выбрана 81 женщина без миомы матки, прошедшая медицинское обследование в тот же период. Всем женщинам было предложено заполнить анкеты для исследования общего состояния, проведена импедансметрия для оценки показателей, связанных с ожирением, и исследована корреляция последних с риском развития миомы матки. Согласно полученным результатам, доля висцерального жира, индекс массы тела, процентное содержание жира, окружность талии, отношение высоты талии и отношение талии к бёдрам положительно коррелировали с частотой миомы матки (ОШ и 95% ДИ составили 3,910 (2,029–7,536), 2,716 (1,444–5,110), 4,335 (1,507–12,469), 2,881 (1,531–5,423), 3,837 (1,914–7,692) и 7,707 (3,595–16) соответственно). Авторами предложено использовать для женщин в перименопаузе измерение соотношения окружностей талии и бёдер в качестве скрининга для выявления групп высокого риска миомы матки [30].

В 2019 г. были опубликованы результаты исследования Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA), в которое вошли 5115 человек 18–30 лет, рекрутированные в период с 1985 по 1986 г. Далее были отобраны только 972 женщины из различных регионов США, Великобритании и Новой Зеландии (Бирмингем, Алабама, Чикаго, Иллинойс, Миннеаполис, Миннесота и Окленд, Калифорния); повторное обследование пациентов проводилось через 2, 5, 7, 10, 15, 20 и 25 лет от для начала исследования. По данным УЗИ органов малого таза, миома матки была выявлена у 52 % пациенток старшего возраста. Наличие сердечно-сосудистых факторов риска преобладало в группе женщин с имеющейся миомой матки. ИМТ был значительно выше у женщин с миомой матки, чем у женщин без миомы матки, и сохранялся статистически значимым в течение 10 последующих лет (30,1 и 28,5 кг/м² соответственно). Значения систолического и диастолического АД были также выше в группе с миомой матки (ОШ = 1,52; 95% ДИ: 1,05–2,20). Исходно распространённость артериальной гипертензии была выше в группе с миомой матки на 8 %, а через 10 лет этот показатель увеличился до 12 % в сравнении с группой женщин без миомы матки. Статистически значимых различий между группами по липидному профилю и уровню углеводного обмена не наблюдалось [31].

В 2022 г. были представлены данные поперечного исследования, проведённого в период с 2013 по 2020 г. В этом исследовании изучались данные электронных медицинских карт пациенток старше 18 лет, которые обращались в системы здравоохранения Джонса Хопкинса ($n = 679\,981$). Было рассмотрено 27 703 карты пациенток с миомой матки. В результате было выявлено, что пациентки с миомой матки чаще страдали ожирением (ОШ = 2,56; 95% ДИ: 2,49–2,63), метаболическим синдромом (ОШ = 1,82; 95% ДИ: 1,51–2,19), гипертонической болезнью (ОШ = 1,45; 95% ДИ: 1,42–1,49), сахарным диабетом (ОШ = 1,29; 95% ДИ: 1,24–1,33) и гиперлипидемией (ОШ = 1,23; 95% ДИ: 1,19–1,26). Можно сделать вывод о том, что наличие миомы матки формирует неблагоприятный кардиометаболический профиль у женщин [32].

Таким образом, анализ наиболее крупных эпидемиологических исследований, проведённых в последние годы как в неселективных популяциях, так и в госпитальных выборках, демонстрирует значительную распространённость среди женщин как миомы матки, так и метаболического синдрома. Результаты, представленные в публикациях, включённых в обзор, свидетельствуют о наличии взаимосвязей между наличием миомы матки и проявлениями метаболического синдрома.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Миома матки и метаболический синдром являются взаимноотягощающими состояниями. Женщины с миомой матки имеют худший профиль риска сердечно-сосудистых заболеваний, а наличие метаболического синдрома и его отдельных проявлений увеличивает риск развития миомы матки. Одним из путей снижения риска возникновения и роста миомы матки является своевременная коррекция метаболического синдрома и его компонентов. С другой стороны, наличие миомы матки должно рассматриваться как основание для активного выявления метаболических нарушений и сердечно-сосудистых рисков.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ryan GL, Syrop CH, van Voorhis BJ. Role, epidemiology, and natural history of benign uterine mass lesions. *Clin Obstet Gynecol.* 2005; 48(2): 312-324. doi: 10.1097/01.grf.0000159538.27221.8c
2. Wallach EE, Vlahos NF. Uterine myomas: An overview of development, clinical features, and management. *Obstet Gynecol.* 2004; 104(2): 393-406. doi: 10.1097/01.AOG.0000136079.62513.39
3. Minsart AF, Ntoutoume Sima F, Vandenhouste K, Jani J, Van Pachterbeke C. Does three-dimensional power Doppler ultrasound predict histopathological findings of uterine fibroids? A preliminary study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2012; 40(6): 714-720. doi: 10.1002/uog.11155
4. Pérez-López FR, Ornat L, Ceausu I, Depypere H, Erel CT, Lambrinoudaki I, et al. EMAS position statement: Management of uterine fibroids. *Maturitas.* 2014; 79(1): 106-116. doi: 10.1016/j.maturitas.2014.06.002
5. Kubik-Huch RA, Weston M, Nougaret S, Leonhardt H, Thomassin-Naggara I, Horta M, et al. European Society of Urogenital Radiology (ESUR) guidelines: MR imaging of leiomyomas. *Eur Radiol.* 2018; 28(8): 3125-3137. doi: 10.1007/s00330-017-5157-5
6. Zimmermann A, Bernuit D, Gerlinger C, Schaefer M, Gelper K. Prevalence, symptoms and management of uterine fibroids: an international internet-based survey of 21,746 women. *BMC Womens Health.* 2012; 12: 6. doi: 10.1186/1472-6874-12-6
7. Самигуллина А.Э., Агайдаров Р.Д. Миома матки: частота и прогноз оперативной активности (на примере НЦОМИД). *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2020; 9: 30-38. doi: 10.17513/mjpf.13123
8. Fuldeore MJ, Soliman AM. Patient-reported prevalence and symptomatic burden of uterine fibroids among women in the United States: Findings from a cross-sectional survey analysis. *Int J Womens Health.* 2017; 9: 403-411. doi: 10.2147/IJWH.S133212
9. Marsh EE, Al-Hendy A, Kappus D, Galitsky A, Stewart EA, Kerolous M. Burden, prevalence, and treatment of uterine fibroids: A survey of U.S. women. *J Womens Health (Larchmt).* 2018; 27(11): 1359-1367. doi: 10.1089/jwh.2018.7076
10. Atalyan AV, Suturina LV, Nadeliaeva IG, Lazareva LM, Shari-fulin EM, Danusevich IN. Prevalence of uterine fibroids in women in Eastern Siberia: A cross-sectional study. *International Journal of Biomedicine.* 2021; 11(4): 515-518. doi: 10.21103/Article11(4)_OA18
11. Millien C, Manzi A, Katz AM, Gilbert H, Smith Fawzi MC, Farmer PE, et al. Assessing burden, risk factors, and perceived impact of uterine fibroids on women's lives in rural Haiti: Implications for advancing a health equity agenda, a mixed methods study. *Int J Equity Health.* 2021; 20(1): 1. doi: 10.1186/s12939-020-01327-9
12. Цыренов Т.Б., Даржаев З.Ю., Сутурина Л.В., Лабыхина А.В., Павлова В.П., Ринчиндоржиева М.П., и др. Гормонозависимые гинекологические заболевания у бесплодных женщин основных этнических групп Республики Бурятия. *Acta biomedica scientifica.* 2013; (4): 74-76.
13. Stewart EA, Cookson CL, Gandolfo RA, Schulze-Rath R. Epidemiology of uterine fibroids: A systematic review. *BJOG.* 2017; 124(10): 1501-1512. doi: 10.1111/1471-0528.14640
14. National Cholesterol Education Program. Second report of the expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel II). *Circulation.* 1994; 89(3): 1333-1445.
15. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome – A new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med.* 2006; 23(5): 469-480. doi: 10.1111/j.1464-5491.2006.01858.x
16. Einhorn D, Reaven GM, Cobin RH, Ford E, Ganda OP, Handelsman Y, et al. American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. *Endocr Pract.* 2003; 9(3): 237-252.
17. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation.* 2009; 120(16): 1640-1645. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644
18. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation.* 2005; 112(17): 2735-2752. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.169404
19. Рекомендации экспертов Всероссийского научного общества кардиологов по диагностике и лечению метаболического синдрома. Второй пересмотр. *Практическая медицина.* 2010; 44: 81-101.
20. Шляхто Е.В., Конради А.О. Эпидемиология метаболического синдрома в различных регионах. Зависимость от используемых критериев и прогностическое значение. Артериальная гипертензия. 2007; 13(2): 95-112. doi: 10.18705/1607-419X-2007-13-2-95-112
21. Li Y, Zhao L, Yu D, Wang Z, Ding G. Metabolic syndrome prevalence and its risk factors among adults in China: A nation-

ally representative cross-sectional study. *PLoS One*. 2018; 13(6): e0199293. doi: 10.1371/journal.pone.0199293

22. Chowdhury MZI, Anik AM, Farhana Z, Bristi PD, Abu Al Mamun BM, et al. Prevalence of metabolic syndrome in Bangladesh: A systematic review and meta-analysis of the studies. *BMC Public Health*. 2018; 18(1): 308. doi: 10.1186/s12889-018-5209-z

23. Вильсон Н.И., Беленькая Л.В., Шолохов Л.Ф., Игумнов И.А., Надеяева Я.Г., Сутурина Л.В. Метаболический синдром: эпидемиология, критерии диагностики, расовые особенности. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(4): 180-191. doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.16

24. Смирнова Т.А. Метаболический синдром и миома матки. *Репродуктивное здоровье. Восточная Европа*. 2013; 4(28): 114-126.

25. Sivri N, Yalta T, Sayin C, Yalta K, Ozpuyan F, Taştekin E, et al. Evaluation of cardiovascular risk factors in women with uterine leiomyoma: Is there a link with atherosclerosis? *Balkan Med J*. 2012; 29(3): 320-323. doi: 10.5152/balkanmedj.2012.002

26. Tak YJ, Lee SY, Park SK, Kim YJ, Lee JG, Jeong DW, et al. Association between uterine leiomyoma and metabolic syndrome in parous premenopausal women: A case-control study. *Medicine (Baltimore)*. 2016; 95(46): e5325. doi: 10.1097/MD.0000000000005325

27. Ступко Е.Е., Шенин В.А., Колесникова Л.И., Лабугина А.В., Сутурина Л.В. Роль полиморфизмов генов детоксикации ксенобиотиков в развитии миомы матки и эндометриоза. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2011; 104(5): 5-8.

28. Diemer FS, Aartman JQ, Karamat FA, Baldew SM, Jarbandhan AV, van Montfrans GA, et al. Exploring cardiovascular health: The Healthy Life in Suriname (HELISUR) study. A protocol of a cross-sectional study. *BMJ Open*. 2014; 4: e006380. doi: 10.1136/bmjopen-2014-006380

29. Haan YC, Diemer FS, van Der Woude L, van Montfrans GA, Oehlers GP, Brewster LM. The risk of hypertension and cardiovascular disease in women with uterine fibroids. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2018; 20(4): 718-726. doi: 10.1111/jch.13253

30. Sun K, Xie Y, Zhao N, Li Z. A case-control study of the relationship between visceral fat and development of uterine fibroids. *Exp Ther Med*. 2019; 18(1): 404-410. doi: 10.3892/etm.2019.7575

31. Laughlin-Tommaso SK, Fuchs EL, Wellons MF, Lewis CE, Calderon-Margalit R, Stewart EA, et al. Uterine fibroids and the risk of cardiovascular disease in the coronary artery risk development in young adult women's study. *J Womens Health (Larchmt)*. 2019; 28(1): 46-52. doi: 10.1089/jwh.2018.7122

32. Alashqar A, El Ouweini H, Gornet M, Yenokyan G, Borahay MA. Cardiometabolic profile of women with uterine leiomyoma: A cross-sectional study. *Minerva Obstet Gynecol*. 2022. doi: 10.23736/S2724-606X.22.04952-1

trasound predict histopathological findings of uterine fibroids? A preliminary study. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2012; 40(6): 714-720. doi: 10.1002/uog.11155

4. Pérez-López FR, Ornat L, Ceausu I, Depypere H, Erel CT, Lambrinoudaki I, et al. EMAS position statement: Management of uterine fibroids. *Maturitas*. 2014; 79(1): 106-116. doi: 10.1016/j.maturitas.2014.06.002

5. Kubik-Huch RA, Weston M, Nougaret S, Leonhardt H, Thomassin-Naggara I, Horta M, et al. European Society of Urogenital Radiology (ESUR) guidelines: MR imaging of leiomyomas. *Eur Radiol*. 2018; 28(8): 3125-3137. doi: 10.1007/s00330-017-5157-5

6. Zimmermann A, Bernuit D, Gerlinger C, Schaefer M, Gelpert K. Prevalence, symptoms and management of uterine fibroids: an international internet-based survey of 21,746 women. *BMC Womens Health*. 2012; 12: 6. doi: 10.1186/1472-6874-12-6

7. Samigullina AE, Agaydarov RD. Uterine fibrous: Frequency and forecast of operational activity (for example NCMCW). *International Journal of Applied and fundamental research*. 2020; 9: 30-38. (In Russ.). doi: 10.17513/mjpf.13123

8. Fuldeore MJ, Soliman AM. Patient-reported prevalence and symptomatic burden of uterine fibroids among women in the United States: Findings from a cross-sectional survey analysis. *Int J Womens Health*. 2017; 9: 403-411. doi: 10.2147/IJWH.S133212

9. Marsh EE, Al-Hendy A, Kappus D, Galitsky A, Stewart EA, Kerolous M. Burden, prevalence, and treatment of uterine fibroids: A survey of U.S. women. *J Womens Health (Larchmt)*. 2018; 27(11): 1359-1367. doi: 10.1089/jwh.2018.7076

10. Atalyan AV, Suturina LV, Nadeliaeva IG, Lazareva LM, Sharifulin EM, Danusevich IN. Prevalence of uterine fibroids in women in Eastern Siberia: A cross-sectional study. *International Journal of Biomedicine*. 2021; 11(4): 515-518. doi: 10.21103/Article11(4)_OA18

11. Millien C, Manzi A, Katz AM, Gilbert H, Smith Fawzi MC, Farmer PE, et al. Assessing burden, risk factors, and perceived impact of uterine fibroids on women's lives in rural Haiti: Implications for advancing a health equity agenda, a mixed methods study. *Int J Equity Health*. 2021; 20(1): 1. doi: 10.1186/s12939-020-01327-9

12. Tsyrenov TB, Darzhayev ZYu, Suturina LV, Labygina AV, Pavlova VP, Rinchindorzhieva MP, et al. Hormone-dependent gynecological diseases in infertile women from main ethnic groups of Buryat Republic. *Acta biomedica scientifica*. 2013; (4): 74-76. (In Russ.).

13. Stewart EA, Cookson CL, Gandolfo RA, Schulze-Rath R. Epidemiology of uterine fibroids: A systematic review. *BJOG*. 2017; 124(10): 1501-1512. doi: 10.1111/1471-0528.14640

14. National Cholesterol Education Program. Second report of the expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel II). *Circulation*. 1994; 89(3): 1333-1445.

15. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome – A new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med*. 2006; 23(5): 469-480. doi: 10.1111/j.1464-5491.2006.01858.x

16. Einhorn D, Reaven GM, Cobin RH, Ford E, Ganda OP, Handelsman Y, et al. American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. *Endocr Pract*. 2003; 9(3): 237-252.

17. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JJ, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart

REFERENCES

1. Ryan GL, Syrop CH, van Voorhis BJ. Role, epidemiology, and natural history of benign uterine mass lesions. *Clin Obstet Gynecol*. 2005; 48(2): 312-324. doi: 10.1097/01.grf.0000159538.27221.8c

2. Wallach EE, Vlahos NF. Uterine myomas: An overview of development, clinical features, and management. *Obstet Gynecol*. 2004; 104(2): 393-406. doi: 10.1097/01.AOG.0000136079.62513.39

3. Minsart AF, Ntoutoume Sima F, Vandenhouste K, Jani J, Van Pachterbeke C. Does three-dimensional power Doppler ul-

Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009; 120(16): 1640-1645. doi: 0.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644

18. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005; 112(17): 2735-2752. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.169404

19. Recommendations of experts of Russian Scientific Society of Cardiologists on diagnosis and treatment of metabolic syndrome. Second revision. *Practical Medicine*. 2010; 44: 81-101. (In Russ.).

20. Shlyakhto EV, Konrady AO. Epidemiology of metabolic syndrome in different regions. Impact of used definitions and prognostic value. *Arterial Hypertension*. 2007; 13(2): 95-112. doi: 10.18705/1607-419X-2007-13-2-95-112

21. Li Y, Zhao L, Yu D, Wang Z, Ding G. Metabolic syndrome prevalence and its risk factors among adults in China: A nationally representative cross-sectional study. *PLoS One*. 2018; 13(6): e0199293. doi: 10.1371/journal.pone.0199293

22. Chowdhury MZI, Anik AM, Farhana Z, Bristi PD, Abu Al Mamun BM, et al. Prevalence of metabolic syndrome in Bangladesh: A systematic review and meta-analysis of the studies. *BMC Public Health*. 2018; 18(1): 308. doi: 10.1186/s12889-018-5209-z

23. Vilson NI, Belenkaya LV, Sholokhov LF, Igumnov IA, Nadel'yeva YG, Suturina LV. Metabolic syndrome: Epidemiology, diagnostic criteria, racial characteristics. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(4): 180-191. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.16

24. Smirnova TA. Metabolic syndrome and uterine fibroids. *Reproductive Health. Eastern Europe*. 2013; 4(28): 114-126. (In Russ.).

25. Sivri N, Yalta T, Sayin C, Yalta K, Ozpuyan F, Taştekin E, et al. Evaluation of cardiovascular risk factors in women with uterine

leiomyoma: Is there a link with atherosclerosis? *Balkan Med J*. 2012; 29(3): 320-323. doi: 10.5152/balkanmedj.2012.002

26. Tak YJ, Lee SY, Park SK, Kim YJ, Lee JG, Jeong DW, et al. Association between uterine leiomyoma and metabolic syndrome in parous premenopausal women: A case-control study. *Medicine (Baltimore)*. 2016; 95(46): e5325. doi: 10.1097/MD.0000000000005325

27. Stupko EE, Shenin VA, Kolesnikova LI, Labygina AV, Suturina LV. The role of polymorphisms genes of detoxification of xenobiotics in the development of endometriosis and hysteromyoma in women. *Siberian Medical Journal (Irkutsk)*. 2011; 104(5): 5-8. (In Russ.).

28. Diemer FS, Aartman JQ, Karamat FA, Baldew SM, Jarbandhan AV, van Montfrans GA, et al. Exploring cardiovascular health: The Healthy Life in Suriname (HELISUR) study. A protocol of a cross-sectional study. *BMJ Open*. 2014; 4: e006380. doi: 10.1136/bmjopen-2014-006380

29. Haan YC, Diemer FS, van Der Woude L, van Montfrans GA, Oehlers GP, Brewster LM. The risk of hypertension and cardiovascular disease in women with uterine fibroids. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2018; 20(4): 718-726. doi: 10.1111/jch.13253

30. Sun K, Xie Y, Zhao N, Li Z. A case-control study of the relationship between visceral fat and development of uterine fibroids. *Exp Ther Med*. 2019; 18(1): 404-410. doi: 10.3892/etm.2019.7575

31. Laughlin-Tommaso SK, Fuchs EL, Wellons MF, Lewis CE, Calderon-Margalit R, Stewart EA, et al. Uterine fibroids and the risk of cardiovascular disease in the coronary artery risk development in young adult women's study. *J Womens Health (Larchmt)*. 2019; 28(1): 46-52. doi: 10.1089/jwh.2018.7122

32. Alashqar A, El Ouweini H, Gornet M, Yenokyan G, Borahay MA. Cardiometabolic profile of women with uterine leiomyoma: A cross-sectional study. *Minerva Obstet Gynecol*. 2022. doi: 10.23736/S2724-606X.22.04952-1

Сведения об авторах

Бабеева Наталья Игоревна – аспирант лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: miracle_909@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7604-6246>

Беленькая Лилия Васильевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: Drblv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4904-3709>

Шолохов Леонид Федорович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией физиологии и патологии эндокринной системы, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: lfshol@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3588-6545>

Аталян Алина Валерьевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории социально значимых проблем репродуктологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: alinaa@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3407-9365>

Сутурина Лариса Викторовна – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела охраны репродуктивного здоровья; ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: lsuturina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6271-7803>

Information about the authors

Natalia I. Babaeva – Postgraduate at the Laboratory of Physiology and Pathology of the Endocrine System, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: miracle_909@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7604-6246>

Liliya V. Belenkaya – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Physiology and Pathology of the Endocrine System, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: Drblv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4904-3709>

Leonid F. Sholokhov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Physiology and Pathology of the Endocrine System, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: lfshol@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3588-6545>

Alina V. Atalyan – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Socially Significant Problems of Reproductology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: alinaa@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3407-9365>;

Larisa V. Suturina – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Reproductive Health, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: lsuturina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6271-7803>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

НАРУШЕНИЯ ОБОНЯНИЯ И ВКУСА У БЕРЕМЕННЫХ, БОЛЬНЫХ COVID-19

Косовцева А.С.,
Баирова Т.А.,
Рычкова Л.В.,
Орлова Е.А.,
Хаснатинов М.А.,
Данчинова Г.А.,
Михалевич И.М.,
Поляков В.М.,
Черевикова И.А.,
Мясищев Н.А.,
Прохорова Ж.В.,
Колесникова Л.И.

ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Косовцева Аюна Сергеевна,
e-mail: arjuna6402@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Нарушение обоняния является признанным клиническим симптомом инфицирования COVID-19. Нерешённым остаётся вопрос потери обоняния в структуре патогенеза COVID-19 при беременности.

Цель исследования. Определить обоняние и вкус у беременных, больных COVID-19, а также оценить взаимосвязь обоняния и количество геном-эквивалентов SARS-CoV-2 в носоглоточном секрете.

Материал и методы. В проведённом исследовании «случай-контроль» участвовала 121 беременная: из них 40 – с новой коронавирусной инфекцией COVID-19, 81 – не болевшая COVID-19 ранее и на момент исследования. Обследование проведено в июле 2021 г. Обоняние оценивали с помощью обонятельного теста Коннектикутского центра хемосенсорных клинических исследований (CCCRC), который включает определение обонятельного порога и оценку идентификации запаха. Вкус измеряли по методике O. Massarelli. Вирусную нагрузку рассчитывали с помощью стандартизованного метода определения количества РНК-копий SARS-CoV-2 в 1 мл носоглоточного секрета.

Результаты. Частота нарушений обоняния (умеренной/тяжёлой степени и аносмии) у беременных с COVID-19 составляет 62,5 % по сравнению с 22,23 % среди беременных, никогда не болевших COVID-19 ($p = 0,002$). Значимых нарушений вкуса не выявлено. Пороговое значение для манифестации обонятельных нарушений составило 17794 РНК-копий вируса SARS-CoV-2, что соответствует 37-му пороговому циклу (C_t).

Заключение. При беременности в острой фазе COVID-19 значимо нарушается обоняние, но не вкус. Снижение обоняния ассоциировано с вирусной нагрузкой SARS-CoV-2.

Ключевые слова: беременные, COVID-19, обоняние, вкус, SARS-CoV-2, вирусная нагрузка

Для цитирования: Косовцева А.С., Баирова Т.А., Рычкова Л.В., Орлова Е.А., Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А., Михалевич И.М., Поляков В.М., Черевикова И.А., Мясищев Н.А., Прохорова Ж.В., Колесникова Л.И. Нарушения обоняния и вкуса у беременных, больных COVID-19. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 35-45. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.5

Статья поступила: 02.06.2022

Статья принята: 04.10.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

SMELL AND TASTE DISORDERS IN PREGNANT WOMEN WITH COVID-19

Kosovtseva A.S.,
Bairova T.A.,
Rychkova L.V.,
Orlova E.A.,
Khasnatinov M.A.,
Danchinova G.A.,
Mikhalevich I.M.,
Polyakov V.M.,
Cherevikova I.A.,
Myasishchev N.A.,
Prokhorova Zh.V.,
Kolesnikova L.I.

Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Ariuna S. Kosovtseva,
e-mail: arjuna6402@mail.ru

ABSTRACT

Background. Smell disorder is a recognized clinical symptom of COVID-19 infection. The problem of the loss of sense of smell in the structure of COVID-19 pathogenesis during pregnancy remains unresolved.

The aim of the study. To determine the sense of smell and taste in pregnant women with COVID-19, as well as to evaluate the relationship between the sense of smell and the number of SARS-CoV-2 genome equivalents in the nasopharyngeal secretion.

Material and methods. In the case-control study, 121 pregnant women participated: 40 of them were infected with COVID-19; 81 were not infected with COVID-19 earlier and at the time of the study. The survey was conducted in July 2021. Sense of smell was assessed using the Connecticut Chemosensory Clinical Research Center (CCCCRC) olfactory test, which includes olfactory threshold determination and odor identification assessment. Taste was measured according to the O. Massarelli method. Viral load was calculated using a standardized method for determining the number of SARS-CoV-2 RNA copies in 1 ml of nasopharyngeal secretion.

Results. The incidence of olfactory disorders (moderate/severe and anosmia) in pregnant women with COVID-19 is 62.5% compared to 22.23% among pregnant women who have never had COVID-19 ($p = 0.002$). No significant taste disorders were identified. The threshold value for the manifestation of olfactory disorders was 17794 RNA copies of the SARS-CoV-2 virus, which corresponds to the 37th threshold cycle (Ct).

Conclusion. During pregnancy in the acute phase of COVID-19, sense of smell is significantly impaired, but not sense of taste. Decreased sense of smell is associated with SARS-CoV-2 viral load.

Key words: pregnant women, COVID-19, sense of smell, taste, SARS-CoV-2, viral load

Received: 02.06.2022
Accepted: 04.10.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Kosovtseva A.S., Bairova T.A., Rychkova L.V., Orlova E.A., Khasnatinov M.A., Danchinova G.A., Mikhalevich I.M., Polyakov V.M., Cherevikova I.A., Myasishchev N.A., Prokhorova Zh.V., Kolesnikova L.I. Smell and taste disorders in pregnant women with COVID-19. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 35-45. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.5

ОБОСНОВАНИЕ

Одним из наиболее противоречивых и нерешённых аспектов проблемы новой коронавирусной инфекции COVID-19 остаётся вопрос патогенеза и течения данного заболевания у беременных [1, 2]. Также сохраняется множество спорных вопросов и в отношении тактики ведения беременности, связанных с неоднозначностью течения новой COVID-19 и высокими рисками материнской смертности от COVID-19-ассоциированной пневмонии [3]. Среди множества звеньев патогенеза COVID-19 при беременности, обуславливающих повышенную угрозу матери и плоду, важное место отводится гестационным гормональным изменениям и низкой иммунной реактивности [3, 4]. Однако существует и представление о модулирующем эффекте гормональных изменений при беременности в отношении иммунной системы и о более лёгком течении заболевания у беременных женщин с COVID-19 [5, 6].

Изменения гормонального фона в организме беременной, с одной стороны, сопровождаются заметными нарушениями восприятия запаха и вкуса в связи с перестройкой вегетативной нервной системы, желез внутренней секреции и ретикуло-гипоталамо-лимбической системы [7, 8]; с другой стороны, обонятельные и вкусовые нарушения при COVID-19 являются ключевыми симптомами поражения периферической нервной системы и признаны одними из главных симптомов COVID-19 [9, 10]. По данным разных авторов, распространённость нарушений обоняния при COVID-19 достигает 73–98 % [10–12]. Вкусовые нарушения также часто описывают как один из симптомов COVID-19, но встречаются они реже, чем нарушения обоняния [10], и обусловлены, с одной стороны, дисфункцией вкусовых рецепторных клеток [13], а с другой – нарушением ретроназального обоняния [14]. Как правило, снижение или потеря обоняния при COVID-19 продолжаются не более 10–20 дней, однако распространены случаи более длительной потери обоняния и вкуса – более 60 дней [15], которые входят в структуру так называемого «long-COVID». Высокую распространённость дизосмий следует оценивать как показатель нейротоксичности SARS-CoV-2 [16]; она возникает в результате проникновения вируса через обонятельный тракт в центральную нервную систему, вызывая гипоперфузию, гипометаболизм и другие изменения в разных структурах головного мозга, которые выявлены с помощью нейровизуализации, в частности в обонятельной луковице, височной и префронтальной коре, островке, миндалине, поясной извилине, гиппокампе, медиальной височно-затылочной извилине и т. д. [17–22]. При этом важно проводить ольфактометрию именно во время острого периода коронавирусной инфекции COVID-19 [16], чтобы объективно оценить нейротоксичность SARS-CoV-2, подкрепляя полученные данные количественной диагностикой ПНК-копий SARS-CoV-2. Данные, полученные отсроченной ольфактометрией или субъективным самоотчётом, менее чувствительны и менее предпочтительны [23].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение обоняния и вкуса у беременных женщин, больных COVID-19, а также оценка взаимосвязи обоняния и количества геном-эквивалентов SARS-CoV-2 в носоглоточном секрете.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

В данном исследовании «случай-контроль» обследовано 40 беременных с подтверждённым диагнозом «новая коронавирусная инфекция COVID-19». Группу контроля составила 81 беременная, не болевшая COVID-19 ранее и на момент обследования.

Критерии включения

- беременность во 2–3-м триместре;
- отсутствие хронических заболеваний ЛОР-органов, в том числе гайморитов и синуситов, иных нарушений обоняния и вкуса, не связанных с ЛОР-патологией.

Критерии исключения:

- хронические заболевания ЛОР-органов, в том числе гаймориты и синуситы, гипосмия или anosmia, возникшие до момента заболевания новой коронавирусной инфекцией COVID-19;
- наличие в анамнезе подтверждённых психических и поведенческих расстройств;
- наличие острых стрессовых ситуаций за период последних 6 месяцев, например, смерть близких;
- нахождение в отделении интенсивной терапии или иные обстоятельства, связанные с лечением, мешающие объективизации проводимых диагностических манипуляций;
- отказ от проведения исследования или негативное отношение к проводимому исследованию.

Условия проведения

Основная группа набрана в отделении новой коронавирусной инфекции ГАУЗ «Городской перинатальный центр г. Улан-Удэ» в июле 2021 г. Беременные женщины контрольной группы набраны в ходе плановых обследований на базе ГАУЗ «Республиканский перинатальный центр Министерства здравоохранения Республики Бурятия» (г. Улан-Удэ).

Измерение обонятельной чувствительности

Обоняние оценивали с помощью обонятельного теста Коннектикутского центра хемосенсорных клинических исследований (CCCRC, Connecticut Chemosensory Clinical Research Center orthonasal olfaction test) [24]. Данная методика является высоковалидной и широко используемой для оценки обонятельной чувствительности, в том числе при COVID-19 [25]. CCCRC включает в себя два этапа: 1-й этап – пороговый тест на запах n-бутанола; 2-й этап – тест идентификации запаха.

Пороговую обонятельную чувствительность оценивали с помощью восьми растворов n-бутанола в деионизированной воде, предъявляемых в порядке от наименьшей к наибольшей концентрации. Максимальная концентрация составила: 4%-й n-бутанол

в 60 мл деионизированной воды (бутылка № 0). Каждые следующие бутылки (бутылки № 1–8) содержали разведение предыдущего раствора n-бутанола в пропорции 1:3. Процедура проводилась отдельно для правой и левой ноздри. Для каждого испытания пациенту предъявлялись две пластиковые бутылки на расстоянии 2 см от носа: одна – с деионизированной водой, другая – с раствором n-бутанола. Затем оператор сжимал флакон, по крайней мере дважды, в то время как испытуемый сосредотачивается на запахе воздуха, выталкиваемого из флакона. Из второго флакона отбирали пробы аналогичным образом, и испытуемый должен был выбрать, «в какой из бутылок было что-то другое, кроме воды». Порог был определен, когда пациент давал верный ответ 4 раза. Если выбор неправильный, следующая более высокая концентрация бутанола представлялась вместе с флаконом, содержащим только воду. Порог был определен количественно для каждой из двух ноздрей. Минимальная оценка составляла 0 баллов, максимальная – 8 баллов. Среднее значение между показаниями двух ноздрей выражало общий балл пороговой чувствительности.

Для идентификационного теста использовались обычные запахи, помещённые внутрь непрозрачных банок. Пробы предъявлялись последовательно; было предложено определить отдушку в одной из двух проб из списка, содержащего 10 реальных одорантов и 10 дистракторов. Оценка колебалась от 0 до 10 для каждой из ноздрей, и далее была рассчитана средняя оценка.

Перечень 10 реальных одорантов (выделены жирным курсивом) и 10 дистракторов в идентификационном обонятельном субтесте CCCRC:

1. **Детская присыпка** / Картофельные чипсы.
2. **Шоколад** / Кожа.
3. **Кофе** / Древесные опилки.
4. **Аммиак** / Корица.
5. **Мазь** (камфора, эвкалипт, ментол) / Жжёная бумага.
6. **Фруктовая жевательная резинка** / Табак.
7. **Кетчуп** / Сардины.
8. **Чёрный перец** / Чеснок.
9. **Мыло** / Резина.
10. **Апельсин** / Испорченное мясо.

Пороговые и идентификационные субтесты проанализированы отдельно, путём преобразования каждого из них из «сырого» в итоговый балл, которые далее были окончательно преобразованы в общий суммарный балл CCCRC с помощью специальной балльной оценки (табл. 1).

Измерение вкусовой чувствительности

Для оценки вкусовой функции использовали стандартизированный тест I.J. Loewen и соавт. [26], адаптированный O. Massarelli и соавт., определяющий способность воспринимать четыре основных вкуса (сладкий, солёный, кислый, горький) [27]. По 1 мл заранее приготовленного раствора капали в центр языка (растворы соли, сахара, лимонной кислоты и кофе без кофеина в деионизированной воде). Пациента просили указать, был ли воспринимаемый вкус сладким, солёным, горьким, кислым или нейтральным. За каждый верный ответ присваивался 1 балл. Оценка вкуса варьировалась от 0 до 4: 4 балла – норма; 3 балла – лёгкая гипогевзия; 2 балла – умеренная гипогевзия; 1 балл – тяжёлая гипогевзия; 0 баллов – агевзия.

ТАБЛИЦА 1

СИСТЕМА ПОДСЧЁТА БАЛЛОВ ОБОНЯТЕЛЬНОГО ТЕСТА КОННЕКТИКУТСКОГО ЦЕНТРА ХЕМОСЕНСОРНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Пороговый субтест («сырой» балл)	Пороговый субтест (итоговый балл)	Идентификационный субтест («сырой» балл)	Идентификационный субтест (итоговый балл)
7–8	50	8–10	50
6	40	6–7	40
5	30	4–5	30
4	20	3	20
2–3	10	1–2	10
0–1	0	0	0
Общий суммарный балл (пороговый субтест + идентификационный субтест)			
90–100		Нормальное обоняние	
70–80		Лёгкая гипосмия	
50–60		Умеренная гипосмия	
20–40		Тяжёлая гипосмия	
0–10		Аносмия	

TABLE 1

SCORING SYSTEM OF THE CONNECTICUT CHEMOSENSORY CLINICAL RESEARCH CENTER ORTHONASAL OLFACTION TEST

Вирусную нагрузку определяли в забранном стандартным способом носоглоточном и ротоглоточном секрете [28]. Выделение вирусной РНК из образцов проводили с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (г. Иркутск) набором реагентов «УниМаг» (Вектор-Бест, Новосибирск) с помощью автоматического процессора магнитных частиц King Fisher Flex (Thermo Scientific). Исследования методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) проводили набором реагентов «РеалБест РНК SARS-CoV-2» (Вектор-Бест, Новосибирск) для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени на амплификаторе Real-Time CFX96 Touch (BioRad, США) по протоколу производителя. Для стандартизации полученных результатов во всех случаях уровень пороговой флуоресценции для внутреннего контрольного образца (ВКО), положительного контрольного образца (ПКО) и исследуемых клинических образцов устанавливали на значение флуоресценции 1000. Далее использовали стандартизованный подход количественной оценки вирусной нагрузки SARS-CoV-2 по значению порогового цикла, получаемого в ходе рутинной лабораторной ПЦР-диагностики вируса с коррекцией потерь при выделении тотальной РНК по пороговому циклу (Ct) ВКО.

Количество геном-эквивалентов SARS-CoV-2 в 1 мл носоглоточного секрета рассчитывали по формуле:

$$\frac{1}{Ct^{-0,05}} \cdot 57,093$$

Этическая экспертиза

Данное исследование соответствует этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утверждёнными Приказом Минздрава России № 266 от 19.06.2003. Все лица, участвующие в исследовании, дали согласие на участие в исследовании и подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен этическим комитетом ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (протокол № 3 от 07.04.2021).

Статистический анализ проводили с помощью программы SPSS Statistics 23.1 (IBM Corp., США). Количественные данные, не подчиняющиеся нормальному закону распределения, описаны в виде Ме (Q1; Q2) (медиана (25-й; 75-й процентиля)). Количественные данные, подчиняющиеся нормальному закону распределения, представлены в виде $M \pm \sigma$ (среднее значение $\pm$ стандартное отклонение). Различия признаков для двух групп оценивали с помощью критерия Манна – Уитни или t-критерия Стьюдента. Взаимосвязь признаков, не подчиняющихся нормальному закону распределения, оценивали с помощью непараметрического R-критерия Спирмена. Незави-

симый прогностический анализ выполнен с помощью ROC-анализа. Оценивали значение площади под кривой (AUC, area under curve), чувствительность и специфичность модели-классификатора, а также оптимальный порог отсечения с использованием индекса Йодена (cut-off value). Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Женщины основной и контрольной групп были сопоставимы по возрасту ($29,0 \pm 6,76$ и $32,35 \pm 5,96$ года соответственно; $p = 0,277$) и сроку гестации ($30,6 \pm 7,09$ и $28,07 \pm 8,98$ недели соответственно; $p = 0,092$).

По результатам теста CCCRC оценены идентификация и порог обонятельной чувствительности. Статистически значимых различий идентификации запахов между группами не выявлено: медиана «сырого» балла идентификационной чувствительности у беременных женщин с COVID-19 составила 8,75 (5; 10), у беременных, не болевших COVID-19, – 9 (6; 10) баллов ($p = 0,104$). Медиана итогового балла идентификационной чувствительности у беременных с COVID-19 составила 50 (30; 50), у беременных, не болевших COVID-19, – 50 (40; 50) баллов ($p = 0,083$). Референсный диапазон итогового балла идентификационной чувствительности составляет 0–50 баллов.

Результаты порогового теста обоняния и общий суммарный балл CCCRC статистически значимо отличались в обследуемых группах. У беременных, никогда не болевших COVID-19, медиана обонятельного порога составила 30 (30; 40) баллов против 20 (10; 30) баллов у беременных с COVID-19 при референсном диапазоне 0–50 баллов ($p < 0,001$).

Медиана общего суммарного балла порогового теста статистически значимо выше у беременных женщин группы контроля по сравнению с беременными основной группы: 70 (70; 80) и 65 (42,5; 80) баллов ($p < 0,001$) (референсный диапазон – 0–100 баллов). 77,77 % беременных, никогда не болевших COVID-19, имеют нормальное обоняние и/или лёгкую anosмию по сравнению с 45 % беременных с COVID-19 (табл. 2).

Тяжёлая гипосмия и anosмия в два с половиной раза чаще регистрируются у беременных с COVID-19 по сравнению с беременными без COVID-19 (25 % обследованных беременных с COVID-19 против 9,89 % беременных, не болевших COVID-19).

Анализ вкусовой чувствительности не показал статистически значимых различий между исследуемыми группами: у беременных с COVID-19 медиана составила 4 (3,5; 4), в то время как у беременных, не болевших COVID-19, – 4 (4; 4) ($p = 0,492$). Более того, в группе беременных с COVID-19 не выявлено случаев умеренной/тяжёлой гипогевзии или агевзии так же, как и в группе контроля.

Медиана количества геном-эквивалентов SARS-CoV-2 в 1 мл носоглоточного секрета беременных с COVID-19 составила 57727 (7993; 765063). Результаты анализа взаимосвязи вирусной нагрузки SARS-CoV-2 и оценки обонятельной чувствительности представлены в таблице 3.

ТАБЛИЦА 2
УРОВЕНЬ ОБОНЯНИЯ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ
ОБОНЯТЕЛЬНОГО ТЕСТА CCCRC В ГРУППАХ
БЕРЕМЕННЫХ С COVID-19 И ЗДОРОВЫХ БЕРЕМЕННЫХ

TABLE 2
OLFACTORY LEVEL ACCORDING TO THE CCCRC
OLFACTORY TEST IN THE GROUPS OF PREGNANT WOMEN
WITH COVID-19 AND HEALTHY PREGNANT WOMEN

Уровень обоняния	Беременные, больные COVID-19 (n = 40)		Здоровые беременные (n = 81)	
	n	%	n	%
Нормальное обоняние	5	12,5	19	23,45
Лёгкая гипосмия	10	32,5	44	54,32
Умеренная гипосмия	15	37,5	10	12,34
Тяжёлая гипосмия	9	22,5	7	8,64
Аносмия	1	2,5	1	1,25

Примечание. * – $\chi^2 = 16,997$; $p = 0,002$.

ТАБЛИЦА 3
КОРРЕЛЯЦИЯ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ С ПОКАЗАТЕЛЯМИ
ОБОНЯТЕЛЬНОГО ТЕСТА CCCRC

TABLE 3
CORRELATION OF VIRAL LOAD WITH CCCRC OLFACTORY
TEST INDICATORS

	Пороговый тест («сырой» балл)	Пороговый тест (итоговый балл)	Идентификационный тест («сырой» балл)	Идентификационный тест (итоговый балл)	Суммарный балл CCCRC
Коэффициент корреляции <i>r</i>	–0,553	–0,559	–0,488	–0,412	–0,602
Уровень статистической значимости <i>p</i>	0,003	0,002	0,01	0,033	0,001

Для предсказания вероятности возникновения нарушения обоняния в зависимости от вирусной нагрузки у беременных с COVID-19 проведен ROC-анализ: AUC = 0,807 (95% ДИ: 0,622–0,927), что свидетельствует о «хорошей» прогностической силе рассчитанной модели [29]. Пороговое значение для диагностики манифестации обонятельных нарушений составило 17 795 геном-эквивалентов вируса SARS-CoV-2 в 1 мл носоглоточного секрета, что соответствует 37-му пороговому циклу (Ct) (уровень чувствительности составил 73,33 %, специфичности – 86,67 %).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные показали высокую распространенность нарушений обоняния в виде тяжелой гипосмии и аносмии в группе беременных с COVID-19, по сравнению с беременными, не болевшими COVID-19, что сопоставимо с литературными данными, посвященными обонятельным нарушениям среди здоровых беременных, а также небеременных с COVID-19. Так, распространенность нарушений обоняния при COVID-19, преимущественно в виде аносмии и/или гипосмии, регистрируется в более чем 70 % случаев в общей популяции [10–12]. При беременности эти данные статистически значимо ниже: от отсутствия обонятельных нарушений [30, 31] до 7 % в виде гипосмии [32], 17 % в виде па-

росмии (искажение восприятия запахов) и 14 % в форме фантомии (обонятельные галлюцинации (цит. по [33])). По данным U. Nwankwo и соавт. (2017), беременные имеют обонятельные искажения, как правило, обусловленные не снижением остроты обоняния, а когнитивной обработкой запахов, влияющей на идентификацию запахов, причём беременные с тестом идентификации запахов справляются лучше, чем не беременные [32]. Авторы не обнаружили статистически значимого снижения обоняния у беременных женщин, что согласуется с нашими данными о статистически значимом снижении обоняния у беременных с COVID-19, но не у здоровых беременных. Важное значение в данном контексте имеет срок гестации: так, в первом и третьем триместрах при повышенной обонятельной чувствительности значительно страдает идентификация одорантов, что связано с изменениями в центральных отделах обонятельного анализатора, а именно с перестройкой деятельности структур ретикуло-гипоталамо-лимбической системы [33]. По данным других авторов, ухудшение обоняния развивается чаще к концу беременности. Это связано с изменениями эндокринной системы – повышением уровня эстрогенов и ингибированием ацетилхолинэстеразы, – способствующими увеличению содержания в крови ацетилхолина. Это в свою очередь приводит к гиперемии, отёку слизистой оболочки носа и возникновению респираторной гипосмии [8]. Однако выраженность данных обонятельных нарушений независимо от сро-

ка гестации не столь высока при нормально протекающей беременности.

Кроме нарушений обоняния, в литературе часто описывается нарушение вкуса у больных COVID-19, однако мы не нашли нарушений вкусового восприятия у беременных с COVID-19. По-видимому, снижение вкусового восприятия при COVID-19 не обусловлено как таковым нарушением вкусового восприятия, а является вторичным по отношению к аносмии. Наши данные согласуются с ранее проведённым исследованием, в котором на основании объективного психофизиологического тестирования показано, что COVID-19 связан с потерей вкуса, а субъективное ощущение утраты вкуса обусловлено нарушением ретроназального обоняния [14].

Анализ взаимосвязи вирусной нагрузки и данных обонятельного теста CCCRC показал, что чем выше вирусная нагрузка у беременных с COVID-19, тем ниже уровень идентификации запахов, ниже пороговый уровень обоняния, а следовательно, и суммарный балл обонятельного теста CCCRC. Литературные данные свидетельствуют о том, что значение порогового цикла Ct, на основе которого мы определяли вирусную нагрузку, имеет связь с тяжестью заболевания и вероятностью передачи вируса [34]. Таким образом, сопряжённость вирусной нагрузки со степенью обонятельных нарушений также может отражать тяжесть течения COVID-19.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нарушение обоняния и/или вкуса является важным, зачастую самым первым, в клинической картине маркером COVID-19, в том числе при бессимптомном течении. Нормально протекающая беременность также часто сопровождается широким спектром изменений восприятия запаха и вкуса: обострением обоняния и искажением восприятия запахов и вкуса привычных пищевых продуктов в первом-втором триместрах беременности, гипосмией в конце второго – начале третьего триместра. Как в случае COVID-19, так и при беременности обонятельные нарушения описываются как результат нейротоксичности. До конца не изучена взаимосвязь вирусной нагрузки и её токсического влияния на головной мозг женщины в виде обонятельных нарушений, в том числе среди беременных, больных COVID-19. В проведённом исследовании выявлено, что нарушение обоняния в виде умеренной, тяжёлой гипосмии и аносмии у беременных с COVID-19 статистически значимо выше, чем у женщин, не болевших COVID-19 (62,5 % и 22,23 % соответственно). Вкусовые нарушения у беременных с COVID-19 единичны и носят лёгкий характер, а также не отличаются от таковых среди женщин с нормально протекающей беременностью. Наши данные подтверждаются имеющимися, но малочисленными литературными данными об обонятельных расстройствах среди беременных женщин и многочисленными данными об обонятельных расстройствах в общей популяции больных COVID-19. Вирусная нагрузка как показатель тяжести COVID-19 показала важность в отно-

шении манифестации обонятельных нарушений, в связи с чем значение порогового цикла при проведении рутинной ПЦР-диагностики COVID-19 может являться дополнительным средством прогнозирования обонятельной дисфункции. Несмотря на существующие представления и доказательства нейротоксичности SARS-CoV-2 и влияния основных мишеней нейроинвазии (лимбико-ретикулярного комплекса, диэнцефальных отделов мозга) на течение и исход беременности, вопрос остаётся малоизученным и требует дальнейшей углублённой исследовательской работы.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования

Исследование выполнено в рамках инициативного пилотного проекта. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Соответствие принципам этики

Данное исследование соответствует этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утверждёнными Приказом Минздрава России от 19.06.2003 № 266. Все лица, участвующие в исследовании, дали согласие на участие в исследовании и подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен этическим комитетом ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (протокол № 3 от 07.04.2021).

ЛИТЕРАТУРА

1. Артымук Н.В., Белокриницкая Т.Е., Филиппов О.С., Шифман Е.М. Новая коронавирусная инфекция COVID-19 у беременных Сибири и Дальнего Востока. *Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова*. 2020; (2): 41-48.
2. Организация оказания медицинской помощи беременным, роженицам, родильницам и новорожденным при новой коронавирусной инфекции COVID-19: методические рекомендации; версия 1. 2020. URL: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/050/093/original/23042020_Preg_COVID-19_1_Final.pdf [дата обращения: 09.03.2022].
3. Беженарь В.Ф., Зазерская И.Е., Беттихер О.А., Нестеров И.М., Баутин А.Е. Спорные вопросы акушерской тактики при ведении беременности и родоразрешении пациенток с новой коронавирусной инфекцией COVID-19. *Акушерство и гинекология*. 2020; (5): 13-21.
4. Yu N, Li W, Kang Q, Kang Q, Xiong Z, Wang S, et al. Clinical features and obstetric and neonatal outcomes of pregnant patients with COVID-19 in Wuhan, China: A retrospective, single-centre, de-

scriptive study. *Lancet Infect Dis.* 2020; 20(5): 559-564. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30176-6

5. Elshafeey F, Magdi R, Hindi N, Elshebiny M, Farrag N, Mahdy S, et al. A systematic scoping review of COVID-19 during pregnancy and childbirth. *Int J Gynaecol Obstet.* 2020; 150(1): 47-52. doi: 10.1002/ijgo.13182

6. Tekbali A, Grünebaum A, Saraya A, McCullough L, Bornstein E, Chervenak FA. Pregnant versus non-pregnant SARS-CoV-2 and COVID-19 hospital admissions: The first 4 weeks in New York. *Am J Obstet Gynecol.* 2020; 223(1): 126-127. doi: 10.1016/j.ajog.2020.04.012

7. Lundstrom JN, McClintock MK, Olsson MJ. Effects of reproductive state on olfactory sensitivity suggests odor specificity. *Biol Psychol.* 2006; 71(3): 244-247. doi: 10.1016/j.biopsycho.2005.07.001

8. Savović S, Nincić D, Lemajić S, Pilić V, Mandić A, Rajović J, et al. Olfactory perception in women with physiologically altered hormonal status (during pregnancy and menopause). *Med Pregl.* 2002; 55(9-10): 380-383. doi: 10.2298/mpns0210380s

9. World Health Organization. *Health topic: Coronavirus.* 2021. URL: https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab_3 [date of access: 30.07.2022].

10. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, De Siati DR, Horoi M, Le Bon SD, Rodriguez A, et al. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): A multicenter European study. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2020; (277): 2251-2261. doi: 10.1007/s00405-020-05965-1

11. Moein ST, Hashemian SMR, Mansourafshar B. Smell dysfunction: a biomarker for COVID-19. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2020; 10(8): 944-950. doi: 10.1002/alr.22587

12. Kaye R, Chang CWD, Kazahaya K, Brereton J, Denney JC 3rd. COVID-19 anosmia reporting tool: Initial findings. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2020; 163(1): 132-134. doi: 10.1177/0194599820922992

13. Mastrangelo A, Bonato M, Cinque P. Smell and taste disorders in COVID-19: From pathogenesis to clinical features and outcomes. *Neurosci Lett.* 2021; 748: 135694. doi: 10.1016/j.neulet.2021.135694

14. Whitcroft KL, Hummel T. Olfactory dysfunction in COVID-19: Diagnosis and management. *JAMA.* 2020; 323(24): 2512-2514. doi: 10.1001/jama.2020.8391

15. Vaira LA, Hopkins C, Petrocelli M, Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, Salzano G, et al. Smell and taste recovery in coronavirus disease 2019 patients: A 60-day objective and prospective study. *J Laryngol Otol.* 2020; 134(8): 703-709. doi: 10.1017/S0022215120001826

16. Yachou Y, El Idrissi A, Belapasov V, Benali SA. Neuroinvasion, neurotropic, and neuroinflammatory events of SARS-CoV-2: Understanding the neurological manifestations in COVID-19 patients. *Neurological Sciences.* 2020; 41(10): 2657-2669. doi: 10.1007/s10072-020-04575-3

17. Lu Y, Li X, Geng D, Mei N, Wu PY, Huang CC, et al. Cerebral micro-structural changes in COVID-19 patients – An MRI-based 3-month follow-up study. *E Clinical Medicine.* 2020; 25: 100484. doi: 10.1016/j.eclinm.2020.100484

18. Kandemirli SG, Dogan L, Sarikaya ZT, Kara S, Akinci C, Kaya D, et al. Brain MRI findings in patients in the intensive care unit with COVID-19 infection. *Radiology.* 2020; 297(1): 232-235. doi: 10.1148/radiol.2020201697

19. Kas A, Soret M, Pyatigorskaya N, Habert MO, Hesters A, Le Guennec L, et al. The cerebral network of COVID-19-related encephalopathy: A longitudinal voxel-based 18F-FDG-PET study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2021; 48(8): 2543-2557. doi: 10.1007/s00259-020-05178-y

20. Niesen M, Trotta N, Noel A, Coolen T, Fayad G, Leurkinsterk G, et al. Structural and metabolic brain abnormalities in COVID-19 patients with sudden loss of smell. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2021; 48(6): 1890-1901. doi: 10.1007/s00259-020-05154-6

21. Guedj E, Campion JY, Dudouet P, Kaphan E, Bregeon F, Tissot-Dupont H, et al. ¹⁸F-FDG brain PET hypometabolism in patients with long COVID. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2021; 48(9): 2823-2833. doi: 10.1007/s00259-021-05215-4

22. Qin Y, Wu J, Chen T, Li J, Zhang G, Wu D, et al. Long-term microstructure and cerebral blood flow changes in patients recovered from COVID-19 without neurological manifestations. *J Clin Invest.* 2021; 131(8): 147329. doi: 10.1172/JCI147329

23. Hannum ME, Ramirez VA, Lipson SJ, Herriman RD, Toskala AK, Lin C, et al. Objective sensory testing methods reveal a higher prevalence of olfactory loss in COVID-19-positive patients compared to subjective methods: A systematic review and meta-analysis. *Chemical Senses.* 2020; (45): 865-874. doi: 10.1093/chemse/bjaa064

24. Cain WS, Gent JF, Goodspeed RB, Leonard G. Evaluation of olfactory dysfunction in the Connecticut Chemosensory Clinical Research Center. *Laryngoscope.* 1988; 98(1): 83-88. doi: 10.1288/00005537-198801000-00017

25. Vaira LA, Deiana G, Fois AG, Pirina P, Madeddu G, De Vito A, et al. Objective evaluation of anosmia and ageusia in COVID-19 patients: A single-center experience on 72 cases. *Head Neck.* 2020; 42(6): 1252-1258. doi: 10.1002/hed.26204

26. Loewen IJ, Boliek CA, Harris J, Seikaly H, Rieger JM. Oral sensation and function: A comparison of patients with innervated radial forearm free flap reconstruction to healthy matched controls. *Head Neck.* 2010; 32(1): 85-95. doi: 10.1002/hed.21155

27. Massarelli O, Vaira LA, Biglio A, Gobbi R, Dell'aversana Orabona G, De Riu G. Sensory recovery of myomucosal flap oral cavity reconstructions. *Head Neck.* 2018; 40(3): 467-474. doi: 10.1002/hed.25000

28. Орлова Е.А., Огарков О.Б., Жданова С.Н., Хромова П.А., Синьков В.В., Хаснатинов М.А., и др. Вирусная нагрузка при COVID-19: недооценённый клинический и эпидемиологический маркер. *Acta biomedica scientifica.* 2021; 6(1): 33-39. doi: 10.29413/ABS.2021-6.1.5

29. Аналитическая платформа Loginom. *Логистическая регрессия и ROC-анализ – математический аппарат.* URL: <https://loginom.ru/blog/logistic-regression-roc-auc> [дата доступа: 22.03.2022].

30. Kölbl N, Hummel T, von Mering R, Huch A, Huch R. Gustatory and olfactory function in the first trimester of pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001; 99(2): 179-183. doi: 10.1016/S0301-2115(01)00408-0

31. Swallow BL, Lindow SW, Aye M. Smell perception during early pregnancy: No evidence of an adaptive mechanism. *BJOG.* 2005; 112(1): 57-62. doi: 10.1111/j.1471-0528.2004.00327

32. Nwankwo U, Fasunla AJ, Oladokun A, Nwaorgu OG. Comparison between olfactory function of pregnant women and non-pregnant women in reproductive age group in Ibadan, Nigeria. *Niger J Clin Pract.* 2017; 20(5): 610-615. doi: 10.4103/1119-3077.206367

33. Черных Н.М., Носуля Е.В., Ким И.А. Состояние обоняния при эндокринных нарушениях (обзор литературы). *Российская ринология*. 2015; 23(2): 57-61.

34. Tom MR, Mina MJ. To interpret the SARS-CoV-2 test, consider the cycle threshold value. *Clin Infect Dis*. 2020; 71(16): 2252-2254. doi: 10.1093/cid/ciaa619

REFERENCES

1. Artymuk NV, Belokrinskaya TE, Filippov OS, Shifman E.M. COVID-19 in pregnant women of Siberia and the Far East. *Annals of Critical Care*. 2020; (2): 41-48. (In Russ.).

2. *Organization of medical care for pregnant women, women in childbirth, puerperas and newborns with a new coronavirus infection COVID-19: Guidelines; version 1*. 2020. URL: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/050/093/original/23042020_Preg_COVID-19_1_Final.pdf [date of access: 09.03.2022]. (In Russ.).

3. Bezhenar VF, Zazerskaya IE, Bettikher OA, Nesterov IM, Bautin AE. Controversial issues in obstetric management of women with novel coronavirus disease COVID-19 during pregnancy and childbirth. *Obstetrics and Gynecology*. 2020; (5): 13-21. (In Russ.).

4. Yu N, Li W, Kang Q, Kang Q, Xiong Z, Wang S, et al. Clinical features and obstetric and neonatal outcomes of pregnant patients with COVID-19 in Wuhan, China: A retrospective, single-centre, descriptive study. *Lancet Infect Dis*. 2020; 20(5): 559-564. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30176-6

5. Elshafeey F, Magdi R, Hindi N, Elshebiny M, Farrag N, Mahdy S, et al. A systematic scoping review of COVID-19 during pregnancy and childbirth. *Int J Gynaecol Obstet*. 2020; 150(1): 47-52. doi: 10.1002/ijgo.13182

6. Tekbali A, Grünebaum A, Saraya A, McCullough L, Bornstein E, Chervenak FA. Pregnant versus non-pregnant SARS-CoV-2 and COVID-19 hospital admissions: The first 4 weeks in New York. *Am J Obstet Gynecol*. 2020; 223(1): 126-127. doi: 10.1016/j.ajog.2020.04.012

7. Lundstrom JN, McClintock MK, Olsson MJ. Effects of reproductive state on olfactory sensitivity suggests odor specificity. *Biol Psychol*. 2006; 71(3): 244-247. doi: 10.1016/j.biopsycho.2005.07.001

8. Savović S, Nincić D, Lemajić S, Pilić V, Mandić A, Rajović J, et al. Olfactory perception in women with physiologically altered hormonal status (during pregnancy and menopause). *Med Pregl*. 2002; 55(9-10): 380-383. doi: 10.2298/mpns0210380s

9. World Health Organization. *Health topic: Coronavirus*. 2021. URL: https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab_3 [date of access: 30.07.2022].

10. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, De Siati DR, Horoi M, Le Bon SD, Rodriguez A, et al. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): A multicenter European study. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2020; (277): 2251-2261. doi: 10.1007/s00405-020-05965-1

11. Moein ST, Hashemian SMR, Mansourafshar B. Smell dysfunction: a biomarker for COVID-19. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2020; 10(8): 944-950. doi: 10.1002/alr.22587

12. Kaye R, Chang CWD, Kazahaya K, Brereton J, Denney JC 3rd. COVID-19 anosmia reporting tool: Initial findings. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2020; 163(1): 132-134. doi: 10.1177/0194599820922992

13. Mastrangelo A, Bonato M, Cinque P. Smell and taste disorders in COVID-19: From pathogenesis to clinical features and outcomes. *Neurosci Lett*. 2021; 748: 135694. doi: 10.1016/j.neulet.2021.135694

14. Whitcroft KL, Hummel T. Olfactory dysfunction in COVID-19: Diagnosis and management. *JAMA*. 2020; 323(24): 2512-2514. doi: 10.1001/jama.2020.8391

15. Vaira LA, Hopkins C, Petrocelli M, Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, Salzano G, et al. Smell and taste recovery in coronavirus disease 2019 patients: A 60-day objective and prospective study. *J Laryngol Otol*. 2020; 134(8): 703-709. doi: 10.1017/S0022215120001826

16. Yachou Y, El Idrissi A, Belapasov V, Benali SA. Neuroinvasion, neurotropic, and neuroinflammatory events of SARS-CoV-2: Understanding the neurological manifestations in COVID-19 patients. *Neurological Sciences*. 2020; 41(10): 2657-2669. doi: 10.1007/s10072-020-04575-3

17. Lu Y, Li X, Geng D, Mei N, Wu PY, Huang CC, et al. Cerebral micro-structural changes in COVID-19 patients – An MRI-based 3-month follow-up study. *E Clinical Medicine*. 2020; 25: 100484. doi: 10.1016/j.eclinm.2020.100484

18. Kandemirli SG, Dogan L, Sarikaya ZT, Kara S, Akinci C, Kaya D, et al. Brain MRI findings in patients in the intensive care unit with COVID-19 infection. *Radiology*. 2020; 297(1): 232-235. doi: 10.1148/radiol.2020201697

19. Kas A, Soret M, Pyatigorskaya N, Habert MO, Hesters A, Le Guennec L, et al. The cerebral network of COVID-19-related encephalopathy: A longitudinal voxel-based 18F-FDG-PET study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2021; 48(8): 2543-2557. doi: 10.1007/s00259-020-05178-y

20. Niesen M, Trotta N, Noel A, Coolen T, Fayad G, Leurkin-Sterk G, et al. Structural and metabolic brain abnormalities in COVID-19 patients with sudden loss of smell. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2021; 48(6): 1890-1901. doi: 10.1007/s00259-020-05154-6

21. Guedj E, Campion JY, Dudouet P, Kaphan E, Bregeon F, Tissot-Dupont H, et al. ¹⁸F-FDG brain PET hypometabolism in patients with long COVID. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2021; 48(9): 2823-2833. doi: 10.1007/s00259-021-05215-4

22. Qin Y, Wu J, Chen T, Li J, Zhang G, Wu D, et al. Long-term microstructure and cerebral blood flow changes in patients recovered from COVID-19 without neurological manifestations. *J Clin Invest*. 2021; 131(8): 147329. doi: 10.1172/JCI147329

23. Hannum ME, Ramirez VA, Lipson SJ, Herriman RD, Toskala AK, Lin C, et al. Objective sensory testing methods reveal a higher prevalence of olfactory loss in COVID-19-positive patients compared to subjective methods: A systematic review and meta-analysis. *Chemical Senses*. 2020; (45): 865-874. doi: 10.1093/chemse/bjaa064

24. Cain WS, Gent JF, Goodspeed RB, Leonard G. Evaluation of olfactory dysfunction in the Connecticut Chemosensory Clinical Research Center. *Laryngoscope*. 1988; 98(1): 83-88. doi: 10.1288/00005537-198801000-00017

25. Vaira LA, Deiana G, Fois AG, Pirina P, Madeddu G, De Vito A, et al. Objective evaluation of anosmia and ageusia in COVID-19 patients: A single-center experience on 72 cases. *Head Neck*. 2020; 42(6): 1252-1258. doi: 10.1002/hed.26204

26. Loewen IJ, Boliek CA, Harris J, Seikaly H, Rieger JM. Oral sensation and function: A comparison of patients with innervated radial forearm free flap reconstruction to healthy matched controls. *Head Neck*. 2010; 32(1): 85-95. doi: 10.1002/hed.21155

27. Massarelli O, Vaira LA, Biglio A, Gobbi R, Dell'aversana Orabona G, De Riu G. Sensory recovery of myomucosal flap oral cavity reconstructions. *Head Neck*. 2018; 40(3): 467-474. doi: 10.1002/hed.25000
28. Orlova EA, Ogarkov OB, Zhdanova SN, Khromova PA, Sinkov VV, Khasnatinov MA, et al. Viral load in COVID-19: Underestimated clinical and epidemiological marker. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(1): 33-39. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2021-6.1.5
29. Loginom Analytical Platform. *Logistic regression and ROC analysis – Mathematical tool*. URL: <https://loginom.ru/blog/logistic-regression-roc-auc> [дата доступа: 22.03.2022]. (In Russ.).
30. Kölbl N, Hummel T, von Mering R, Huch A, Huch R. Gustatory and olfactory function in the first trimester of pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2001; 99(2): 179-183. doi: 10.1016/s0301-2115(01)00408-0
31. Swallow BL, Lindow SW, Aye M. Smell perception during early pregnancy: No evidence of an adaptive mechanism. *BJOG*. 2005; 112(1): 57-62. doi: 10.1111/j.1471-0528.2004.00327
32. Nwankwo U, Fasunla AJ, Oladokun A, Nwaorgu OG. Comparison between olfactory function of pregnant women and non-pregnant women in reproductive age group in Ibadan, Nigeria. *Niger J Clin Pract*. 2017; 20(5): 610-615. doi: 10.4103/1119-3077.206367
33. Chernykh NM, Nosulia EV, Kim IA. The sense of smell in endocrine disorders (a literature review). *Russian Rhinology*. 2015; 23(2): 57-61. (In Russ.).
34. Tom MR, Mina MJ. To interpret the SARS-CoV-2 test, consider the cycle threshold value. *Clin Infect Dis*. 2020; 71(16): 2252-2254. doi: 10.1093/cid/ciaa619

Сведения об авторах

- Косовцева Ариуна Сергеевна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории психонейросоматической патологии детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: arjuna6402@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4832-3875>
- Баирова Татьяна Ананьевна** – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: tbairova38@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3704-830X>
- Рычкова Любовь Владимировна** – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2910-0737>
- Орлова Елизавета Андреевна** – младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2169-0242>
- Хаснатинов Максим Анатольевич** – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: khasnatinov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8441-3640>
- Данчинова Галина Анатольевна** – доктор биологических наук, заведующая лабораторией трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: dan-chin@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6705-3070>
- Михалевиц Исай Моисеевич** – кандидат геолого-минералогических наук, инженер группы сопровождения информационных систем, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: mim977@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4854-3277>
- Поляков Владимир Матвеевич** – доктор биологических наук, заведующий лабораторией психонейросоматической патологии детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: vmpolyakov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6243-9391>
- Черевикова Ирина Александровна** – младший научный сотрудник лаборатории психонейросоматической патологии детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: gothic.craze@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5328-852>
- Мясищев Николай Анатольевич** – лаборант-исследователь лаборатории психонейросоматических патологий детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: routil@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8451-9341>
- Прохорова Жанна Владимировна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории психонейросоматической патологии детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: proxorowa.janna2011@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8236-1747>
- Колесникова Любовь Ильинична** – доктор биологических наук, профессор, академик РАН, научный руководитель, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

Information about the authors

- Ariuna S. Kosovtseva** – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Psychoneurosomatic Pediatric Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: arjuna6402@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4832-3875>
- Tatyana A. Bairova** – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: tbairova38@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3704-830X>
- Lyubov V. Rychkova** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2910-0737>
- Elizaveta A. Orlova** – Junior Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Significant Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2169-0242>
- Maxim A. Khasnatinov** – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Vector-Borne Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: khasnatinov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8441-3640>
- Galina A. Danchinova** – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Vector-Borne Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: dan-chin@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6705-3070>
- Isaj M. Mikhalevich** – Cand. Sc. (Geol. Mineral.), Engineer at the Information Systems Support Group, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: mim977@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4854-3277>
- Vladimir M. Polyakov** – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Psychoneurosomatic Pediatric Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: vmpolyakov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6243-9391>

Irina A. Cherevikova – Junior Research Officer at the Laboratory of Psychoneurosomatic Pediatric Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: gothic.craze@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5328-8525>

Nikolay A. Myasishchev – Research Assistant at the Laboratory of Psychoneurosomatic Pediatric Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: roulih@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8451-9341>

Zhanna V. Prokhorova – Cand. Sci. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Psychoneurosomatic Pediatric Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: proxorowa.janna2011@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8236-1747>

Lyubov I. Kolesnikova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Academician of RAS, Academic Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

Вклад авторов

Косовцева А.С. – разработка концепции и дизайна, обследование пациентов, написание статьи, анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Баирова Т.А. – разработка концепции и дизайна, обследование пациентов, написание статьи, анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания.

Рычкова Л.В. – обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение публикации рукописи.

Орлова Е.А. – вирусологическое исследование.

Хаснатинов М.А. – вирусологическое исследование.

Данчинова Г.А. – вирусологическое исследование.

Михалевич И.М. – статистическая обработка результатов исследования.

Поляков В.М. – анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания.

Черевикова И.А. – подготовка списка литературы в соответствии с требованиями журнала.

Мясищев Н.А. – подготовка списка литературы в соответствии с требованиями журнала.

Прохорова Ж.В. – обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания.

Колесникова Л.И. – обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания.

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

БИОХИМИЯ BIOCHEMISTRY

РОЛЬ SH-ГРУПП В РЕГУЛЯЦИИ GARDOS-КАНАЛОВ ПРИ ДЕФИЦИТЕ ГЛЮКОЗЫ

Бирулина Ю.Г.¹,
Петрова И.В.¹,
Трубачева О.А.^{1,2},
Гусакова С.В.¹

¹ ФГБОУ ВО «Сибирский государственный
медицинский университет»
Минздрава России (634050, г. Томск,
Московский тракт, 2, Россия)

² Научно-исследовательский институт
кардиологии, ФГБНУ «Томский
национальный исследовательский
медицинский центр» РАН (634012,
г. Томск, ул. Киевская, 111а)

Автор, ответственный за переписку:
Бирулина Юлия Георгиевна,
e-mail: birulina20@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Нарушение энергетического баланса эритроцитов в условиях снижения уровня гликолиза может служить причиной изменения ионной проницаемости их мембраны.

Цель исследования. Изучить Ca^{2+} -зависимую калиевую проводимость мембраны эритроцитов в присутствии модификаторов SH-групп в условиях дефицита глюкозы.

Материалы и методы. В исследовании использовались осаждённые эритроциты, полученные из крови 20 крыс-самцов линии Wistar. Потенциометрическим методом изучали изменение Ca^{2+} -зависимой калиевой проводимости мембраны эритроцитов. Оценивали величину A23187- и редокс-индуцированного гиперполяризационного ответа эритроцитов.

Результаты. Дефицит глюкозы в среде, а также использование ингибитора гликолиза 2-дезоксиглюкозы приводили к увеличению амплитуды A23187-стимулированной гиперполяризации мембраны, обусловленной открыванием Gardos-каналов. В то же время редокс-зависимая гиперполяризация мембраны эритроцитов оказалась нечувствительной к снижению содержания глюкозы в среде и ингибированию гликолиза. Эффекты модификаторов SH-групп в нормальной среде инкубации и при дефиците глюкозы оказались разнонаправленными и зависящими от способа стимуляции Gardos-каналов.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что метаболические нарушения в эритроцитах в условиях дефицита глюкозы приводят к изменению механизмов управления Gardos-каналами с участием SH-групп белков этих каналов или их регуляторных белков.

Ключевые слова: Gardos-каналы, эритроциты, SH-группы

Статья поступила: 03.06.2022
Статья принята: 02.09.2022
Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Бирулина Ю.Г., Петрова И.В., Трубачева О.А., Гусакова С.В. Роль SH-групп в регуляции Gardos-каналов при дефиците глюкозы. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 46-52. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.6

THE ROLE OF SH GROUPS IN THE REGULATION OF GARDOS CHANNELS IN GLUCOSE DEFICIENCY

Birulina Ju.G.¹,
Petrova I.V.¹,
Trubacheva O.A.^{1,2},
Gusakova S.V.¹

¹ Siberian State Medical University
(Moscovskiy tract 2, Tomsk 634050,
Russian Federation)

² Cardiology Research Institute, Tomsk
National Research Medical Center
of the Russian Academy Sciences
(Kievskaya str. 111A, Tomsk 634012,
Russian Federation)

Corresponding author:

Julia G. Birulina,
e-mail: birulina20@yandex.ru

ABSTRACT

Background. Disruption of the energy balance of erythrocytes under conditions of a decrease in the glycolysis level can cause a change in the ion permeability of their membrane.

The aim. To study Ca^{2+} -dependent potassium permeability of the erythrocytes membrane in the presence of SH group modifiers under conditions of glucose deficiency.

Materials and methods. The study used precipitated erythrocytes obtained from the blood of 20 male Wistar rats. The change in the Ca^{2+} -dependent potassium conductivity of the erythrocyte membrane was determined using the potentiometric method. The A23187- and redox-induced hyperpolarization responses of erythrocytes were evaluated.

Results. Glucose deficiency in the medium, as well as the use of the glycolysis inhibitor 2-deoxyglucose, led to an increase in the amplitude of A23187-stimulated membrane hyperpolarization by the opening of the Gardos channels. At the same time, the redox-dependent hyperpolarization of the erythrocyte membrane turned out to be insensitive to a decrease in the glucose content in the medium and to the glycolysis inhibition. The effects of SH group modifiers in the normal incubation medium and under glucose deficiency turned out to be multidirectional and depended on the method of stimulation of Gardos channels.

Conclusion. The results obtained indicate that metabolic disorders in erythrocytes under conditions of glucose deficiency lead to a change in the mechanisms of control of Gardos channels with the participation of SH groups of the proteins of these channels or their regulatory proteins.

Key words: Gardos channels, erythrocytes, SH groups

Received: 03.06.2022
Accepted: 02.09.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Birulina Ju.G., Petrova I.V., Trubacheva O.A., Gusakova S.V. The role of SH groups in the regulation of Gardos channels in glucose deficiency. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 46-52. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.6

ВВЕДЕНИЕ

Обеспечение целостности мембраны и двояковогнутой формы имеет существенное значение для выполнения эритроцитами присущих им функций, в первую очередь, транспорта газов. Для этого большое значение имеет энергия макроэргов, а именно аденозинтрифосфата (АТФ), образующегося в эритроцитах в процессе гликолиза [1]. Последний является основным путём энергетического обеспечения процессов внутриклеточного гомеостаза в эритроцитах [2]. Истощение эритроцитов по АТФ ведёт к ряду нарушений, в частности, к изменению ионного баланса между клеткой и средой, что опосредовано снижением активности транспортных АТФаз – Ca^{2+} -АТФазы и Na^+, K^+ -АТФазы [3, 4]. Снижение активности Ca^{2+} -АТФазы приводит к увеличению внутриклеточной концентрации ионов кальция в эритроцитах, что сопровождается открыванием Ca^{2+} -зависимых калиевых каналов средней проводимости (Gardos-каналы, K_{Ca} -каналы). Установлено, что K_{Ca} -каналы опосредуют деформируемость эритроцитов, снижение объёма клеток, а их активация является начальным звеном программируемой гибели эритроцитов – эриптоза [5].

Несмотря на накопленные сведения о структуре, функциональной роли K_{Ca} -каналов эритроцитов, ряд вопросов, связанных с их регуляцией, остаются нерешёнными. Так, известно, что мембрана эритроцитов содержит фрагменты электронно-транспортной цепи [6] такие как окисленный цитохром с, НАДН-дегидрогеназа и другие, что позволяет активировать изучаемые каналы с помощью редокс-агентов. Предположительно, важную роль в процессах регуляции Gardos-каналов эритроцитарной мембраны играют сульфгидрильные групп (SH-группы) [7, 8].

В связи с этой целью работы явилось изучение Ca^{2+} -зависимой калиевой проводимости мембраны эритроцитов в присутствии модификаторов SH-групп в условиях дефицита глюкозы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В экспериментах использовалась кровь крыс-самцов линии Wistar (20 крыс; средняя масса $326,5 \pm 20,5$ г; возраст 10–13 недель). Исследования выполнены с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом СибГМУ (№ 8201 от 27.03.2020).

Животных подвергали эвтаназии методом CO_2 -асфиксии. Кровь из сердца отбирали в вакуумные пробирки BD Vacutainer® с гепарином. Цельную кровь центрифугировали (1000 g; 5 мин; 4 °C), надосадочную жидкость удаляли, осадок разделяли на две части. Одну часть промывали в среде инкубации (150 mM NaCl; 1 mM KCl; 1 mM MgCl_2 ; 10 mM глюкозы) при тех же условиях центрифугирования, вторую часть – в безглюкозной среде (160 mM NaCl; 1 mM KCl; 1 mM MgCl_2) или безглюкозной

среде с добавлением ингибитора гликолиза 2-дезоксиглюкозы (2-ДГ, 10 mM).

Активность K_{Ca} -каналов оценивали потенциометрическим методом, основанным на непрерывной регистрации pH суспензии эритроцитов в присутствии протонатора (CICCP, 20 мкМ). В соответствии с этим распределение протонов зависит от мембранного потенциала (E_m) следующим образом:

$$E_m = \frac{(pH_i - pH_o) \cdot RT}{F}$$

где pH_i и pH_o – значения pH цитоплазмы клеток и среды соответственно; R – универсальная газовая постоянная; T – температура; F – постоянная Фарадея.

Для определения внутриклеточного pH в конце всех опытов в суспензию эритроцитов вносили тритон X-100 до конечной концентрации 0,2 % (рис. 1).

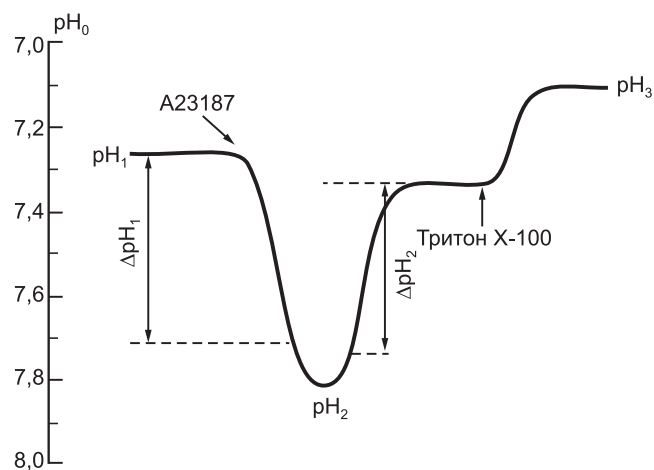


РИС. 1.

Типичная кинетика изменения pH среды (pH_o) в суспензии эритроцитов в ответ на добавление 0,5 мкМ A23187

FIG. 1.

Typical kinetics of changes in the pH of the medium (pH_o) of the erythrocytes suspension in response to the action of 0,5 μM A23187

В ответ на добавление 0,5 мкМ Ca^{2+} -ионофора A23187 или системы аскорбат (10 mM) – феназинметосульфат (ФМС; 0,1 mM) развивался гиперполяризационный ответ (ГО), что отражалось в изменении pH суспензии эритроцитов. Для оценки влияния модификаторов SH-групп на Ca^{2+} -зависимую калиевую проницаемость мембраны эритроцитов проводили 5-минутную инкубацию в среде в присутствии реагента до начала регистрации изменений ГО. В исследовании использовали блокатор SH-групп – N-этилmaleимид (NEM; 1 mM) или восстановитель – 1,4-дитиоэритритол (ДТЭ; 1 mM). Амплитуда ГО, полученного в немодифицированной среде инкубации, принималась за 100 %.

Статистическую обработку данных проводили в программе SPSS Statistics 21 (IBM Corp., США). Данные не подчинялись нормальному закону распределения и представлены в виде медианы (Me) и межквартильного ин-

тервала (Q_{25} ; Q_{75}). Анализ различий между выборками выполняли при помощи U-критерия Манна – Уитни; результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Инкубация суспензии эритроцитов в безглюкозной среде или в среде с добавлением неметаболизируемого аналога глюкозы 2-ДГ приводила к различным изменениям величины ГО в зависимости от способа стимуляции K_{Ca} -каналов. Так, при активации Gardos-каналов эритроцитов кальциевым ионофором A23187 в безглюкозной среде инкубации наблюдалось увеличение амплитуды ГО по сравнению с немодифицированной средой. При стимуляции Gardos-каналов эритроцитов редокс-системой в безглюкозной среде амплитуда ГО не отличалась от значений ГО в контрольной среде (табл. 1).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что увеличение активности Gardos-каналов в условиях дефицита глюкозы происходит только при их стимуляции кальциевым ионофором. Редокс-вызванный ГО оказывается нечувствительным к дефициту глюкозы в среде инкубации или ингибитору гликолиза. Не исключено, что механизм открывания Gardos-каналов при запуске

окислительно-восстановительных процессов в мембране эритроцитов иной и не связан с увеличением внутриклеточной концентрации ионов кальция.

Вероятным механизмом запуска калиевой проницаемости мембраны в этом случае может быть состояние тиоловых групп белков Gardos-каналов. В связи с этим было изучено влияние модификаторов SH-групп на амплитуду гиперполяризации мембраны эритроцитов.

Добавление блокатора тиоловых групп NEM в исходную среду инкубации эритроцитов не вызывало изменений амплитуды A23187-стимулированного ГО. Внесение же восстановителя тиоловых групп ДТЭ, наоборот, приводило к увеличению исследуемого параметра. Противоположный эффект наблюдался, если стимуляция ГО производилась с помощью редокс-системы. В этом случае амплитуда ГО статистически значимо увеличивалась в присутствии NEM, а в присутствии ДТЭ амплитуда ГО значительно снижалась (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Для моделирования условий дефицита глюкозы использовалась безглюкозная среда, осмолярность которой доводилась до нормальных значений (320 мосм/л)

ТАБЛИЦА 1

ВЛИЯНИЕ ДЕФИЦИТА ГЛЮКОЗЫ НА АМПЛИТУДУ ГИПЕРПОЛЯРИЗАЦИОННОГО ОТВЕТА ЭРИТРОЦИТОВ КРЫСЫ, Me (Q25; Q75)

Параметры	Условия инкубации		
	Немодифицированная среда (n = 10)	Безглюкозная среда (n = 8)	Безглюкозная среда + 2-ДГ (n = 8)
A23187-зависимый ГО, %	100	134,4 (120,3; 146,8) $p = 0,005$	141,3 (112,5; 163,2) $p = 0,001$
Редокс-зависимый ГО, %	100	100,2 (92,3; 112,4)	98,4 (95,2; 105,4)

Примечание. p – уровень статистической значимости различий по сравнению с немодифицированной средой для данного ГО.

TABLE 1

EFFECT OF GLUCOSE DEFICIENCY ON THE AMPLITUDE OF THE HYPERPOLARIZATION RESPONSE OF RAT ERYTHROCYTES, Me (Q25; Q75)

ТАБЛИЦА 2

ВЛИЯНИЕ МОДИФИКАТОРОВ SH-ГРУПП НА АМПЛИТУДУ ГИПЕРПОЛЯРИЗАЦИОННОГО ОТВЕТА ЭРИТРОЦИТОВ КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ ДЕФИЦИТА ГЛЮКОЗЫ, Me (Q25; Q75)

Параметр	Условия инкубации			
	A23187-зависимый ГО (%)		Редокс-зависимый ГО (%)	
	+NEM (1 mM)	+ДТЭ (1 mM)	+NEM (1 mM)	+ДТЭ (1 mM)
Немодифицированная среда (n = 8)	102,5 (95,6; 117,2)	130,2 (122,5; 141,3) $p = 0,008$	132,4 (122,1; 148,6) $p = 0,001$	7,9 (6,7; 9,6) $p = 0,001$
Безглюкозная среда (n = 6)	66,3 (60,2; 72,1) $p = 0,001$	123,1 (107,8; 133,8) $p = 0,001$	126,3 (112,5; 142,1) $p = 0,001$	6,3 (5; 7,3) $p = 0,001$
Безглюкозная среда + 2-ДГ (n = 6)	94,3 (82,2; 101,4)	134,6 (125,6; 145,2) $p = 0,003$	140,6 (130,8; 156) $p = 0,001$	5,5 (4,6; 6,2) $p = 0,001$

Примечание. p – уровень статистической значимости различий по сравнению с немодифицированной средой для данного ГО.

TABLE 2

EFFECT OF SH GROUPS MODIFIERS ON THE AMPLITUDE OF THE HYPERPOLARIZATION RESPONSE OF RAT ERYTHROCYTES IN GLUCOSE DEFICIENCY, Me (Q25; Q75)

увеличением концентрации хлорида натрия (160 мМ). Кроме того, использовался подход с добавлением 2-ДГ (10 мМ) в среду для инкубации эритроцитов, которая представляет собой неметаболизируемый аналог глюкозы, поступающий в клетку через транспортеры гексоз. 2-ДГ является конкурентным ингибитором фосфоглюкоизомеразы, а также подавляет активность гексокиназы [9, 10]. В условиях дефицита глюкозы в среде инкубации подавляются АТФ-зависимые процессы, происходящие в эритроците [11]. Так, нарушается работа АТФ-зависимых транспортеров, в частности Ca^{2+} -АТФазы. Этот фермент осуществляет откачивание Ca^{2+} из эритроцита в нормальных условиях, но при нарушении процесса гликолиза в клетке не происходит наработки необходимого количества АТФ, что в конечном счёте приводит к избыточному накоплению Ca^{2+} внутри эритроцита из-за снижения активности Ca^{2+} -насоса и, как следствие, к усиленной утечке K^+ [2, 12]. Именно этим можно объяснить увеличение амплитуды А23187-стимулированного ответа мембраны эритроцитов, отмечаемое при дефиците глюкозы в среде инкубации или действии 2-ДГ. Если активность Ca^{2+} -насоса снижается из-за дефицита АТФ, то возрастёт и внутриклеточная концентрация Ca^{2+} , что приведёт к росту амплитуды ГО. В то же время установлено, что редокс-зависимая гиперполяризация мембраны эритроцитов оказалась нечувствительной к снижению содержания глюкозы в эритроцитах и ингибированию гликолиза. Возможно, в условиях запуска окислительно-восстановительных процессов в мембране эритроцитов реализуется не только Ca^{2+} -зависимый механизм открывания Gardos-каналов, но и другой, связанный с изменением конформации белков самого канала и (или) белков, регулирующих его проводимость [13, 14]. Не исключено, что акцепторами электронов и регуляторами ионной проницаемости могут служить SH-группы белков Gardos-каналов. Для проверки этого предположения были проведены эксперименты с модификаторами SH-групп – N-этилmaleимидом (NEM), 1,4-дитиоэритритолом (ДТЭ). Взаимодействуя с мембранными сульфгидрильными группами, эти агенты способны изменять ионную проницаемость эритроцитов. Полученные данные об изменении параметров ГО в присутствии модификаторов SH-групп свидетельствуют о вовлечении тиоловых групп в регуляцию Gardos-каналов эритроцитов. Так, NEM обладает способностью присоединять нуклеофилы, например, SH-группы. В результате такой реакции образуется тиоэфир с очень прочной C–S-связью, и реакция является практически необратимой. Блокирование SH-групп белков приводит к тому, что нарушается цикл окисления-восстановления тиоловых групп, необходимый для нормального функционирования белка [9, 14]. В проведённых нами экспериментах было обнаружено влияние NEM на проводимость Gardos-каналов, что свидетельствует об участии сульфгидрильных групп в регуляции K_{Ca} -каналов. Следует отметить, что прослеживаются различия в эффектах модификаторов тиоловых групп при различных способах активации исследуемых каналов. Так, NEM

увеличивает амплитуду редокс-стимулированного ГО, но не А23187-вызванной гиперполяризации, в то время как восстановитель SH-групп ДТЭ увеличивает амплитуду А23187-стимулированной гиперполяризации, но существенно подавляет редокс-вызванную гиперполяризацию. На основании полученных результатов можно предположить, что для перехода K_{Ca} -каналов эритроцитов в открытое или закрытое состояние необходимо, чтобы некоторые SH-группы постоянно могли подвергаться редокс-процессам, то есть постоянно должны реализовываться окислительно-восстановительные циклы $2\text{SH} \rightarrow \text{S-S}$. Возможно, что именно данный эффект проявляется в условиях действия искусственной системы аскорбат – ФМС, т. к. ФМС может восстанавливать SH-группы [7]. В этом случае устойчивое поддержание SH-групп в восстановленном состоянии с помощью ДТЭ действительно может проявляться существенным снижением редокс-индуцированной калиевой проницаемости мембраны эритроцитов, что и наблюдалось в наших экспериментах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе установлено, что в условиях дефицита глюкозы в среде инкубации эритроцитов крыс изменяются механизмы регуляции Ca^{2+} -зависимой калиевой проницаемости мембраны. При различных условиях стимуляции Gardos-каналов наблюдаются противоположные эффекты, что отражает разную степень вовлечённости сульфгидрильных групп в пути регуляции Ca^{2+} -зависимой калиевой проницаемости.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках научного проекта № 21-22-07-03-05 и при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации (МК-3302.2022.1.4).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ferguson BS, Neidert LE, Rogatzki MJ, Lohse KR, Gladden LB, Kluess HA. Red blood cell ATP release correlates with red blood cell hemolysis. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2021; 321(5): C761-C769. doi: 10.1152/ajpcell.00510.2020
2. Сидоренко С.В., Лунева О.Г., Новожилова Т.С., Алексеева Н.В., Родненков О.В., Деев Л.И., и др. Гемолиз и высвобождение АТФ из эритроцитов человека и крысы в условиях гипоксии: сравнительный анализ. *Биологические мембраны*. 2018; 35(1): 27-33. doi: 10.7868/S0233475518010036
3. Grygorczyk R, Orlov SN. Effects of hypoxia on erythrocyte membrane properties – Implications for intravascular hemolysis and purinergic control of blood flow. *Front Physiol*. 2017; 8: 1110. doi: 10.3389/fphys.2017.01110

4. Kherd AA, Helmi N, Balamash KS, Kumosani TA, Al-Ghamdi SA, Qari M, et al. Changes in erythrocyte ATPase activity under different pathological conditions. *Afr Health Sci.* 2017; 17(4): 1204-1210. doi: 10.4314/ahs.v17i4.31
5. Kaestner L, Bogdanova A, Egee S. Calcium channels and calcium-regulated channels in human red blood cells. *Adv Exp Med Biol.* 2020; 1131: 625-648. doi: 10.1007/978-3-030-12457-1_25
6. Matteucci E, Giampietro O. Electron pathways through erythrocyte plasma membrane in human physiology and pathology: Potential redox biomarker? *Biomark Insights.* 2007; 2: 321-329. doi: 10.1177/117727190700200026
7. Петрова И.В., Бирулина Ю.Г., Трубачева О.А., Розенбаум Ю.А., Смаглий Л.В., Рыдченко В.С., и др. Участие SH-групп в регуляции Ca²⁺-зависимой калиевой проницаемости мембраны эритроцитов при сердечно-сосудистой патологии. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 2018; 104(7): 827-834. doi: 10.7868/S0869813918070080
8. Xiong Y, Xiong Y, Wang Y, Wang Z, Zhang A, Zhao N, et al. Inhibition of glutathione synthesis via decreased glucose metabolism in stored RBCs. *Cell Physiol Biochem.* 2018; 51: 2172-2184. doi: 10.1159/000495864
9. van Wijk R, van Solinge WW. The energy-less red blood cell is lost: Erythrocyte enzyme abnormalities of glycolysis. *Blood.* 2005; 106(13): 4034-4042. doi: 10.1182/blood-2005-04-1622
10. Oburoglu L, Tardito S, Fritz V, de Barros SC, Merida P, Craveiro M, et al. Glucose and glutamine metabolism regulate human hematopoietic stem cell lineage specification. *Cell Stem Cell.* 2014; 15(2): 169-184. doi: 10.1016/j.stem.2014.06.002
11. Lew VL, Tiffert T. On the mechanism of human red blood cell longevity: Roles of calcium, the sodium pump, PIEZO1, and Gardos channels. *Front Physiol.* 2017; 8: 977. doi: 10.3389/fphys.2017.00977
12. McMahon TJ, Darrow CC, Hoehn BA, Zhu H. Generation and export of red blood cell ATP in health and disease. *Front Physiol.* 2021; 12: 754638. doi: 10.3389/fphys.2021.754638
13. Arese P, Gallo V, Pantaleo A, Turrini F. Life and death of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficient erythrocytes – Role of redox stress and band 3 modifications. *Transfus Med Hemother.* 2012; 39(5): 328-334. doi: 10.1159/000343123
14. Fibach E. The redox balance and membrane shedding in RBC production, maturation, and senescence. *Front Physiol.* 2021; 12: 604738. doi: 10.3389/fphys.2021.604738

REFERENCES

1. Ferguson BS, Neidert LE, Rogatzki MJ, Lohse KR, Gladden LB, Kluess HA. Red blood cell ATP release correlates with red blood cell hemolysis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2021; 321(5): C761-C769. doi: 10.1152/ajpcell.00510.2020
2. Sidorenko SV, Luneva OG, Novozhilova TS, Alekseeva NV, Rodnenkov OV, Deev LI, et al. Hemolysis and ATP release from

human and rat erythrocytes under conditions of hypoxia: A comparative study. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology.* 2018; 35(1): 27-33. (In Russ.). doi: 10.7868/S0233475518010036

3. Grygorczyk R, Orlov SN. Effects of hypoxia on erythrocyte membrane properties – Implications for intravascular hemolysis and purinergic control of blood flow. *Front Physiol.* 2017; 8: 1110. doi: 10.3389/fphys.2017.01110

4. Kherd AA, Helmi N, Balamash KS, Kumosani TA, Al-Ghamdi SA, Qari M, et al. Changes in erythrocyte ATPase activity under different pathological conditions. *Afr Health Sci.* 2017; 17(4): 1204-1210. doi: 10.4314/ahs.v17i4.31

5. Kaestner L, Bogdanova A, Egee S. Calcium channels and calcium-regulated channels in human red blood cells. *Adv Exp Med Biol.* 2020; 1131: 625-648. doi: 10.1007/978-3-030-12457-1_25

6. Matteucci E, Giampietro O. Electron pathways through erythrocyte plasma membrane in human physiology and pathology: Potential redox biomarker? *Biomark Insights.* 2007; 2: 321-329. doi: 10.1177/117727190700200026

7. Petrova IV, Birulina YuG, Trybacheva OA, Rozenbaum YuA, Smagliy LV, Rydchenko VS, et al. Role of sulfhydryl groups in the regulation of Ca²⁺-activated potassium permeability of the membrane of erythrocytes in cardiovascular pathology. *Russian Journal of Physiology.* 2018; 104(7): 827-834. (In Russ.). doi: 10.7868/S0869813918070080

8. Xiong Y, Xiong Y, Wang Y, Wang Z, Zhang A, Zhao N, et al. Inhibition of glutathione synthesis via decreased glucose metabolism in stored RBCs. *Cell Physiol Biochem.* 2018; 51: 2172-2184. doi: 10.1159/000495864

9. van Wijk R, van Solinge WW. The energy-less red blood cell is lost: Erythrocyte enzyme abnormalities of glycolysis. *Blood.* 2005; 106(13): 4034-4042. doi: 10.1182/blood-2005-04-1622

10. Oburoglu L, Tardito S, Fritz V, de Barros SC, Merida P, Craveiro M, et al. Glucose and glutamine metabolism regulate human hematopoietic stem cell lineage specification. *Cell Stem Cell.* 2014; 15(2): 169-184. doi: 10.1016/j.stem.2014.06.002

11. Lew VL, Tiffert T. On the mechanism of human red blood cell longevity: Roles of calcium, the sodium pump, PIEZO1, and Gardos channels. *Front Physiol.* 2017; 8: 977. doi: 10.3389/fphys.2017.00977

12. McMahon TJ, Darrow CC, Hoehn BA, Zhu H. Generation and export of red blood cell ATP in health and disease. *Front Physiol.* 2021; 12: 754638. doi: 10.3389/fphys.2021.754638

13. Arese P, Gallo V, Pantaleo A, Turrini F. Life and death of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficient erythrocytes – Role of redox stress and band 3 modifications. *Transfus Med Hemother.* 2012; 39(5): 328-334. doi: 10.1159/000343123

14. Fibach E. The redox balance and membrane shedding in RBC production, maturation, and senescence. *Front Physiol.* 2021; 12: 604738. doi: 10.3389/fphys.2021.604738

Сведения об авторах

Бирулина Юлия Георгиевна – кандидат биологических наук, доцент кафедры биофизики и функциональной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: birulina20@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1237-9786>

Петрова Ирина Викторовна – доктор биологических наук, профессор кафедры биофизики и функциональной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: ivpetrova57@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9034-4226>

Трубачева Оксана Александровна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры физической культуры и здоровья, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; научный сотрудник отделения клинической лабораторной диагностики, Научно-исследовательский институт кардиологии, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр» РАН, e-mail: otrubacheva@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1253-3352>

Гусакова Светлана Валерьевна – доктор медицинских наук, заведующая кафедрой биофизики и функциональной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: gusacova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5047-8668>

Information about the authors

Julia G. Birulina – Cand. Sc. (Biol.), Associate Professor at the Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University, e-mail: birulina20@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1237-9786>

Irina V. Petrova – Dr. Sc. (Biol.), Professor at the Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University, e-mail: ivpetrova57@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9034-4226>

Oksana A. Trubacheva – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Physical Training and Health, Siberian State Medical University; Research Officer at the Department of Laboratory Diagnostics, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy Sciences, e-mail: otrubacheva@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1253-3352>

Svetlana V. Gusakova – Dr. Sc. (Med.), Head of the Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian State Medical University, e-mail: gusacova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5047-8668>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

НЕКОТОРЫЕ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГЕНА ABCB1 В ВАРИАТИВНОСТИ КОНЦЕНТРАЦИИ ЛОПИНАВИРА/РИТОНАВИРА У ДЕТЕЙ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Самбялова А.Ю.¹,
Баирова Т.А.¹,
Манаенкова Т.Л.^{1,2},
Бельских А.В.¹,
Беляева Е.В.¹,
Ершова О.А.¹,
Кумратов Д.В.¹,
Парамонов А.И.¹,
Плотникова Ю.К.²,
Коломеец Л.В.²,
Рычкова Л.В.¹

¹ ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

² ГБУЗ «Иркутский областной центр
по профилактике и борьбе со СПИД
и инфекционными заболеваниями»
(664035, г. Иркутск, ул. Спартаковская, 11,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Самбялова Александра Юрьевна,
e-mail: sambialova95@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Полиморфные варианты гена множественной лекарственной устойчивости (ABCB1 или MDR1) связаны с изменениями всасывания и транспорта препаратов в организме. Одним из субстратов переносчика ABCB1 является антиретровирусный препарат из класса ингибиторов протеазы – лопинавир.

Цель работы. Исследовать влияние полиморфных вариантов C1236T и C3435T в гене ABCB1 на концентрацию лопинавира/ритонавира в плазме крови у детей и подростков, живущих с ВИЧ-инфекцией.

Методы. Генотипы полиморфных вариантов гена ABCB1 идентифицированы у 136 ВИЧ-инфицированных детей и подростков, медиана возраста которых составила 10 лет с межквартильным диапазоном 7–12 лет. Измерение концентрации лопинавира/ритонавира в плазме проводилось из крови, взятой во время очередного планового приёма в рамках диспансерного наблюдения в ГБУЗ «Иркутский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Результаты. Средняя продолжительность приёма лопинавира/ритонавира в составе схемы антиретровирусной терапии составила 55 месяцев. Медиана вирусной нагрузки у пациентов составила $1 [1-2,03] \log_{10}$ копий/мл; количество CD4⁺ Т-клеток – 38,36 %. Частота встречаемости аллелей 3435T и 1236T гена ABCB1 составила ~50 %. Уносителей генотипа 3435TT медиана концентрации лопинавира через 2 и 12 часов после приёма препаратов составляла 5050,8 [3615,8–5847,7] и 2665,5 [216–4896,3] нг/мл соответственно. Уносителей генотипа 1236TT медиана концентрации лопинавира через 2 и 12 часов составила 4913,5 [3355,1–5733,7] и 3290,6 [159,1–4972,5] нг/мл соответственно.

Выводы. В ходе исследования не выявлено значительной связи между носительством генотипов C3435T и C1236T гена ABCB1 и концентрациями лопинавира и ритонавира через 2 и 12 часов после приёма препарата.

Ключевые слова: антиретровирусная терапия, ВИЧ-инфекция, полиморфные варианты, фармакогенетика

Для цитирования: Самбялова А.Ю., Баирова Т.А., Манаенкова Т.Л., Бельских А.В., Беляева Е.В., Ершова О.А., Кумратов Д.В., Парамонов А.И., Плотникова Ю.К., Коломеец Л.В., Рычкова Л.В. Некоторые фармакогенетические аспекты гена ABCB1 в вариативности концентрации лопинавира/ритонавира у детей с ВИЧ-инфекцией: пилотное исследование. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 53-61. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.7

Статья поступила: 22.06.2022

Статья принята: 06.10.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

SOME PHARMACOGENETIC ASPECTS OF THE *ABCB1* GENE IN LOPINAVIR/RITONAVIR CONCENTRATION VARIABILITY IN CHILDREN WITH HIV INFECTION: A PILOT STUDY

Sambyalova A.Yu.¹,
Bairova T.A.¹,
Manaenkova T.L.^{1,2},
Belskikh A.V.¹,
Belyaeva E.V.¹,
Ershova O.A.¹,
Kumratov D.V.¹,
Paramonov A.I.¹,
Plotnikova Yu.K.²,
Kolomeets L.V.²,
Rychkova L.V.¹

¹ Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str., 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

² Irkutsk Regional AIDS Centre
(Spartakovskaya str. 11, Irkutsk 664035,
Russian Federation)

Corresponding author:
Alexandra Yu. Sambyalova,
e-mail: sambialova95@mail.ru

ABSTRACT

Polymorphic variants of the multidrug resistance gene (*ABCB1* or *MDR1*) are associated with changes in the absorption and transport of drugs in the body. One of the substrates of the *ABCB1* transporter is an antiretroviral drug from the class of protease inhibitors, lopinavir.

The aim. To research the effect of polymorphic variants C1236T and C3435T in the *ABCB1* gene on the plasma concentration of lopinavir/ritonavir in children and adolescents living with HIV infection.

Methods. The genotypes of polymorphic variants of the *ABCB1* gene were identified in 136 HIV infected children and adolescents; median age – 10 [7–12] years. The plasma concentration of lopinavir/ritonavir was measured from blood taken during the next scheduled appointment as part of dispensary observation at the Irkutsk Regional AIDS Centre using high performance liquid chromatography.

Results. The average duration of lopinavir/ritonavir use as part of an antiretroviral therapy was 55 months. Median viral load in patients was 1 [1–2.03] log₁₀ copies/mL; the number of CD4⁺ T cells – 38.36 %. The frequency of occurrence of the 3435T and 1236T alleles of the *ABCB1* gene was ~50 %. In carriers of the 3435TT genotype, the median lopinavir concentrations 2 and 12 hours after drug intake were 5050.8 [3615.8–5847.7] and 2665.5 [216–4896.3] ng/mL, respectively. In carriers of the 1236TT genotype, median lopinavir concentrations 2 and 12 hours after drug intake were 4913.5 [3355.1–5733.7] and 3290.6 [159.1–4972.5] ng/mL, respectively.

Conclusions. The study did not reveal a significant relationship between the carriage of the C3435T and C1236T genotypes of the *ABCB1* gene and the concentrations of lopinavir and ritonavir 2 and 12 hours after drug intake.

Key words: antiretroviral therapy, HIV infection, polymorphic variants, pharmacogenetics

For citation: Sambyalova A.Yu., Bairova T.A., Manaenkova T.L., Belskikh A.V., Belyaeva E.V., Ershova O.A., Kumratov D.V., Paramonov A.I., Plotnikova Yu.K., Kolomeets L.V., Rychkova L.V. Some pharmacogenetic aspects of the *ABCB1* gene in lopinavir/ritonavir concentration variability in children with HIV infection: A pilot study. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 53-61. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.7

Received: 22.06.2022
Accepted: 06.10.2022
Published: 08.12.2022

ВВЕДЕНИЕ

По оценкам Объединённой программы ООН по ВИЧ/СПИДу (UNAIDS), в 2020 году число людей, живущих с ВИЧ-инфекцией, составляло 37,7 млн человек, 1,7 млн среди них – дети в возрасте до 15 лет [1]. Согласно данным официальных источников, в Российской Федерации число детей до 15 лет, живущих с ВИЧ-инфекцией, к концу 2019 г. составило около 10 тысяч человек, а в Иркутской области – 635 человек [2].

ВОЗ рекомендует всем людям, живущим с ВИЧ, начинать антиретровирусную терапию (АРТ) независимо от клинических проявлений или иммунного статуса [3, 4]. Более раннее начало АРТ приводит к снижению смертности. Так, в результате этого число людей, умирающих от причин, связанных с ВИЧ, сократилось на 60 % по сравнению с пиковыми показателями 2004 г. и на 47 % относительно показателя 2010 г. [1]. Кроме того, профилактические стратегии привели к резкому снижению уровня передачи ВИЧ-инфекции от матери ребёнку [5–7].

Несмотря на высокую эффективность АРТ (~75 %), значительное число детей, живущих с ВИЧ, по-прежнему сталкиваются с неэффективностью лечения и нежелательными лекарственными реакциями [8, 9]. В последние годы проведён ряд фармакогенетических исследований для понимания факторов, влияющих на изменчивость концентрации антиретровирусных препаратов в плазме крови, и влияния этих факторов на лекарственный ответ [10]. Большинство исследований сосредоточены на двух группах белков: метаболизирующих ферментах, главным образом CYP450 (цитохром P450), и переносчиках лекарств, таких как Р-гликопротеин (Р-gp) и MRP (белок, регулируемый геном множественной лекарственной устойчивости) [11].

Лопинавир/ритонавир – это комбинированный препарат, широко используемый в качестве ингибиторов протеазы (ИП) вируса иммунодефицита человека, в том числе для лечения педиатрических пациентов в составе АРТ [12]. Как и большинство ИП, лопинавир/ритонавир являются субстратами Р-gp, белка из группы транспортеров АТФ-связывающей кассеты (ABC), который активно выкачивает лекарственные средства из клеток, влияя на их всасывание и выведение [13]. Р-gp экспрессируется на различных клетках и тканях, включая энтероциты [14] и CD4⁺ Т-лимфоциты, которые являются основной мишенью ВИЧ-инфекции [15].

Получены противоречивые результаты о влиянии полиморфных вариантов гена *ABCB1* на эффективность и безопасность АРТ, основанной на ИП, как у взрослых, так и у педиатрических пациентов [16–20]. В результате чего целью настоящего исследования стало исследование влияния полиморфных вариантов (*C1236T* и *C3435T*) в гене *ABCB1* на концентрацию лопинавира/ритонавира в плазме крови у ВИЧ-инфицированных детей и подростков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование методом сплошной выборки в период с января 2019 по март 2022 г. включены 184 па-

циента отделения материнства и детства, находящихся на диспансерном учёте в ГБУЗ «Иркутский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями» г. Иркутск (далее – ГБУЗ «ИОЦ СПИД»). Возраст детей и подростков составлял от 1 года до 17 лет 11 месяцев 29 дней. Согласно клиническим рекомендациям по лечению ВИЧ-инфекции у детей, расчёт дозы препарата основывался на площади поверхности тела ребёнка (мг/м²).

Дополнительная информация, включающая демографические и антропометрические данные, клинические, вирусологические и иммунологические параметры, схему и продолжительность АРТ, собрана путём ретроспективного анализа медицинских карт и занесена в зарегистрированную базу данных [21]. Этническая и расовая принадлежность пациентов не определялась. В результате ретроспективного исследования медицинских карт выявлено, что из 184 амбулаторных пациентов только 136 получали схему АРТ, включающую лопинавир/ритонавир. В исследование включено равное количество мальчиков (47,45 %) и девочек (52,55 %). Медиана возраста составила 10 лет с межквартильным диапазоном от 7 до 12 лет.

Генотипирование

При очередном плановом посещении ребёнка забрана кровь из локтевой вены в пробирки с антикоагулянтном (6%-й раствор этилендиамин-тетрауксусной кислоты; ГОСТ 10652-73). ДНК выделяли из цельной крови с использованием коммерческого набора «ДНК-сорб-В» (ООО «НекстБио», Россия) в соответствии с протоколом производителя. Типирование полиморфных вариантов гена *ABCB1* *C1236T* (rs1128503) и *ABCB1* *C3435T* (rs1045642) осуществляли с помощью метода полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме «реального времени» на амплификаторе CFX96 Touch (BioRad, США). В работе использовали коммерческие наборы реагентов «SNP-Скрин» (ООО «Синтол», Россия) согласно протоколу производителя.

Количественное определение лопинавира/ритонавира в плазме крови

Измерение концентрации лопинавира/ритонавира в плазме определяли из крови, взятой утром во время очередного планового приёма. Проведено только одно определение концентрации лопинавира/ритонавира для каждого пациента. Получена запись данных о времени приёма препарата и отбора проб пациента. Пациенты сдавали кровь до и после очередного приёма препарата, затем рассчитывалось усреднённое время до приёма (12 часов) и после приёма (2 часа). Концентрацию в плазме измеряли с помощью валидированного метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС) с дедукцией аналита с применением трёхквadrupольного tandemного масс-спектрометра LCMS-8060 (Shimadzu, Япония) в режиме положительной ионизации с гибридным сдвоенным источником ионизации

(DUI) и применением техники мониторинга множественных реакций (MRM).

Вирусную нагрузку ВИЧ-1 в плазме крови определяли количественно с помощью Real Time HIV-1 (Abbott Molecular, USA) в лаборатории в ГБУЗ «ИОЦ СПИД». Нижние пределы количественной оценки вирусной нагрузки составляли 40 копий/мл на 600 мкл образца.

Статистический анализ

Генотипические частоты оценивались путём прямого подсчёта аллелей. Соответствие равновесию Харди – Вайнберга проверено с помощью критерия χ^2 Пирсона. Для оценки соответствия распределения генотипов ожидаемым значениям использовали равновесие Харди – Вайнберга (онлайн-калькулятор OEGE Hardy–Weinberg Equilibrium). Различия между генотипами полиморфных вариантов C3435T и C1236T гена ABCB1 в отношении концентраций анализировали с помощью теста Крускала – Уоллиса. Статистический анализ проводился с использованием пакета комплексной обработки данных Statistica 6.1 (StatSoft Inc., США).

Данная работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Иркутск). Исследование проведено с соблюдением принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (Бразилия, 2013). Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека». Для всех участников получены письменное согласие у родителей (законных представителей) для подростков до 15 лет и согласие подростков старше 15 лет.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристики исследуемой группы на момент определения концентрации лопинавира/ритонавира в плазме крови обобщены в таблице 1.

ТАБЛИЦА 2
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЛЕЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА ABCB1 C1236T (rs1128503) И C3435T (rs1045642)

Ген (полиморфизм)	Частота генотипа (v), n (%)			χ^2	p	Частота аллеля (v), %
	CC	CT	TT			
ABCB1 rs1045642 (C3435T)	24 (17,65)	78 (57,35)	34 (25)	3,1959	> 0,05	T 53,68
ABCB1 rs1128503 (C1236T)	42 (30,88)	60 (44,12)	34 (25)	1,7856	> 0,05	T 47,06

Примечание. n – численность носителей генотипа; v – частота генотипа/минорного аллеля; χ^2 – данный критерий использован для оценки соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому, исходя из равновесия Харди – Вайнберга.

ТАБЛИЦА 1
КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ НА МОМЕНТ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ЛОПИНАВИРА/РИТОНАВИРА В ПЛАЗМЕ КРОВИ

TABLE 1
CLINICAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS AT THE TIME OF DETERMINING PLASMA CONCENTRATION OF LOPINAVIR/RITONAVIR

Характеристики	Значения
Женщины, n (%)	72 (52,55)
Возраст (года), Me [Q ₁ –Q ₃]	10 [7–12]
ИМТ (кг/м ²), Me [Q ₁ –Q ₃]	16 [14–18]
Продолжительность терапии (мес.), Me [Q ₁ –Q ₃]	55 [32–89,5]
Стадия основного заболевания, n (%):	
стадия 2Б	1 (0,74)
стадия 3	25 (18,38)
стадия 4А	87 (63,97)
стадия 4Б	20 (14,71)
стадия 4В	3 (2,2)
Вирусная нагрузка (log ₁₀ копий/мл), Me [Q ₁ –Q ₃]	1 [1–2,03]
Количество CD4 ⁺ Т-клеток (%), Me [Q ₁ –Q ₃]	38,36 [32,21–42,4]

Средняя продолжительность приёма лопинавира/ритонавира составила около 55 месяцев. На момент определения концентрации лопинавира/ритонавира в плазме крови вирусная нагрузка у пациентов определена как 1 [1–2,03] log₁₀ копий/мл, количество CD4⁺ Т-клеток – 38,36 %. У большинства пациентов диагностированы стадии 3, 4А, 4Б, стадия 2А выявлена только у одного ребёнка, у троих детей – стадия 4В.

TABLE 2
FREQUENCY DISTRIBUTION OF GENOTYPES AND ALLELES OF C1236T (rs1128503) AND C3435T (rs1045642) POLYMORPHIC VARIANTS OF THE ABCB1 GENE

ТАБЛИЦА 3
КОНЦЕНТРАЦИИ ЛОПИНАВИРА/РИТОНАВИРА (НГ/МЛ)
ЧЕРЕЗ 2 И 12 ЧАСОВ ПОСЛЕ ПРИЁМА ПРЕПАРАТА

TABLE 3
LOPINAVIR/RITONAVIR CONCENTRATIONS (NG/ML)
2 AND 12 HOURS AFTER DRUG INTAKE

Ген (полиморфизм)	Генотип	Лопинавир			Ритонавир		
		<i>n</i>	концентрация	<i>p</i>	<i>n</i>	концентрация	<i>p</i>
ABCB1 rs1045642 (C3435T)	через 2 часа						
	CC	13	5662,2 [603,3–8642]	0,7	13	230,8 [87,6–589,9]	0,38
	CT	40	5491,8 [3879,3–7424,7]		40	504,8 [195,5–763,6]	
	TT	15	5050,8 [3615,8–5847,7]		15	406,5 [195,6–819,2]	
	через 12 часов						
	CC	7	4063,1 [1216,7–5972,7]	0,56	6	315,3 [61,5–959]	0,69
	CT	17	4635,7 [2640,6–6397,8]		17	263,4 [110,5–334,7]	
	TT	8	2665,5 [216–4896,3]		8	169,7 [23,7–519,5]	
	ABCB1 rs1128503 (C1236T)	через 2 часа					
CC		21	5239,7 [1914,1–6704,7]	0,15	21	401,7 [157,2–638,9]	0,87
CT		29	6395 [4429–8024]		29	450,5 [207,9–879,8]	
TT		18	4913,5 [3355,1–5733,7]		18	445,5 [189,2–779,2]	
через 12 часов							
CC		11	3488,6 [1497,9–6779,5]	0,65	10	205,6 [131–475,3]	0,89
CT		14	4562,5 [1558,4–5972,7]		14	273,4 [51,9–347]	
TT		7	3290,6 [159,1–4972,5]		7	208,4 [22,8–529,1]	

Распределение частот генотипов и аллелей по полиморфным вариантам rs1045642 (C3435T) и rs1128503 (C1236T) гена *ABCB1* в исследуемой популяции представлено в таблице 2.

Распределение изученных генотипов соответствовало равновесию Харди – Вайнберга. Частота Т-аллеля полиморфного варианта rs1045642 (C3435T) гена *ABCB1* составила 53,68 %; по второму полиморфному варианту rs1128503 (C1236T) частота Т-аллеля – 47,06 %.

Влияние генотипов (C3435T, C1236T) гена *ABCB1* на концентрации лопинавира/ритонавира представлено в таблице 3.

Не выявлено значительной связи между генотипами (C3435T, C1236T) гена *ABCB1* и концентрациями лопинавира и ритонавира.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведено исследование по оценке влияния генотипов полиморфных вариантов (C3435T, C1236T) гена *ABCB1* на концентрацию антиретровирусных препаратов у ВИЧ-инфицированных детей, проживающих на территории Иркутской области. Популяция Иркутской области представлена разными национальностями, что делает её уникальной для фармакогенетических исследований.

Нами продемонстрировано преобладание аллеля дикого типа (С для C1236T) и рецессивного аллеля (Т для C3435T) гена *ABCB1* в популяции детей и подростков Иркутской области. Ранее нами в популяции детей коренных представителей Сибири (сойотов, эвенков и тофаларов) выявлена частота 3435C гена *ABCB1* 0,59, 0,46 и 0,52 соответственно, частота 1236C полиморфного варианта 1236C→Т *ABCB1* – 0,55, 0,58 и 0,54 соответственно [22]. Другими авторами в популяции нанайцев, проживающих на Дальнем Востоке, выявлена частота 3435C гена *ABCB1* 0,55 [23]. Полиморфные варианты C3435T и C1236T гена *ABCB1* неравновесно сцеплены между собой на 12-м экзоне и определяют активность Р-гр [24]. В 2000 г. S. Hoffmeyer и соавт. выявили связь аллеля 3435T с изменённой функцией Р-гр, показав связь генотипа 3435TT с низкой экспрессией Р-гр в кишечнике и повышенными уровнями дигоксина в плазме по сравнению с генотипом 3435CC [25]. Однако аналогичные исследования не подтвердили эту ассоциацию [26].

В настоящий момент получены противоречивые данные о влиянии полиморфных вариантов C3435T и C1236T гена *ABCB1* на концентрацию лопинавира/ритонавира в плазме крови. Многочисленные исследования не показали статистически значимого влияния полиморфных вариантов гена *ABCB1* на антиретровирусный ответ у взрослых пациентов, получающих терапию, вклю-

чающую в себя лопинавир/ритонавир [20, 27, 28]. В нашем исследовании мы не обнаружили связи между полиморфными вариантами C3435T и C1236T гена ABCB1 и концентрациями лопинавира и ритонавира в плазме крови. Полученные результаты согласуются с результатами N.Y. Rakhmanina и соавт. (2011), которые показали отсутствие существенных различий между концентрациями среди носителей разных генотипов полиморфного варианта C3435T гена ABCB1 в популяции преимущественно афроамериканских ВИЧ-инфицированных детей в возрасте 4–18 лет [29]. Другое исследование, проведённое у детей, показало аналогичные результаты: исследователи оценивали концентрации лопинавира у носителей разных генотипов полиморфного варианта C3435T гена ABCB1 у китайских ВИЧ-инфицированных детей в возрасте 4–17,5 лет [30].

Исследователи С. Р. Bellussi и соавт. (2013) обнаружили, что ВИЧ-инфицированные дети, носители гетерозиготного генотипа 1236CT, имеют статистически значимо более низкую концентрацию лопинавира в плазме крови через 1–2 часа после приёма препарата по сравнению с носителями гомозиготного генотипа 1236TT ($p = 0,016$) [31]. Однако они не выявили статистически значимой связи между носителями генотипов полиморфного варианта C1236T гена ABCB1 и минимальной концентрацией лопинавира. Такие же результаты получили исследователи R. de C. Estrela и соавт. (2009) у ВИЧ-инфицированных взрослых бразильских мужчин [27].

Ограничения исследования

1. Из-за небольшого размера выборки анализ связей между концентрациями антиретровирусных препаратов и нежелательными лекарственными явлениями или вирусологическим ответом не проводился.

2. В анализ не включены другие факторы, способные определять вариативность лопинавира/ритонавира, в том числе полиморфные варианты других генов-транспортеров и метаболических систем, участвующих в транспорте и метаболизме лопинавира/ритонавира.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Не выявлено статистически значимых различий в концентрациях лопинавира и ритонавира между носителями разных генотипов полиморфизмов C3435T и C1236T гена ABCB1.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. UNAIDS. Информационный бюллетень. Глобальная статистика по ВИЧ. URL: <https://www.unaids.org/ru/resources/fact-sheet> [дата доступа: 10.01.2021].
2. Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора. ВИЧ-инфекция в Российской Федерации в 2019 г. URL: http://aids-centr.perm.ru/images/hiv_in_rf_30.06.2021.pdf [дата доступа: 10.01.2022].
3. Guidelines for managing advanced HIV disease and rapid initiation of antiretroviral therapy. Geneva: World Health Organization; 2017.
4. Saag MS, Benson CA, Gandhi RT, Hoy JF, Landovitz RJ, Mugavero MJ, et al. Antiretroviral drugs for treatment and prevention of HIV infection in adults: 2018 recommendations of the International Antiviral Society – USA Panel. JAMA. 2018; 320(4): 379-396. doi: 10.1001/jama.2018.8431
5. Petrova A, Vaniarkina A, Plotnikova J, Rychkova L, Moskalova E. Impact of combined antiretroviral prophylaxis on health outcomes in HIV exposed neonates. Arch Dis Child. 2019; 104(S3): R.A4. doi: 10.1136/archdischild-2019-epa.9
6. Рашидова М.А., Шолохов Л.Ф., Марянян А.Ю., Колесникова Л.И. ВИЧ и беременность: реалии XXI века. Сибирский научный медицинский журнал. 2022; 42(2): 10-17. doi: 10.18699/SSMJ20220202
7. Лещенко О.Я., Генич Е.В. Репродуктивные нарушения и их патогенетические механизмы у ВИЧ-инфицированных женщин. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2019; 11(4): 20-29. doi: 10.22328/2077-9828-2019-11-4-20-29
8. Sigaloff KC, Calis JC, Geelen SP, van Vugt M, de Wit TF. HIV-1-resistance-associated mutations after failure of first-line antiretroviral treatment among children in resource-poor regions: A systematic review. Lancet Infect Dis. 2011; 11(10): 769-779. doi: 10.1016/S1473-3099(11)70141-4
9. Zhao Y, Mu W, Harwell J, Zhou H, Sun X, Cheng Y, et al. Drug resistance profiles among HIV-1-infected children experiencing delayed switch and 12-month efficacy after using second-line antiretroviral therapy: An observational cohort study in rural China. J Acquir Immune Defic Syndr. 2011; 58(1): 47-53. doi: 10.1097/QAI.0b013e318229f2a2
10. Самбялова А.Ю., Баирова Т.А., Манаенкова Т.Л., Рычкова Л.В. Роль фармакогенетики в безопасности и эффективности терапии ингибиторами протеаз ВИЧ-инфицированных пациентов. Acta biomedica scientifica. 2021; 6(6-2): 113-124. doi: 10.29413/ABS.2021-6.6-2.12
11. Relling MV, Evans WE. Pharmacogenomics in the clinic. Nature. 2015; 526(7573): 343-350. doi: 10.1038/nature15817
12. Национальная ассоциация специалистов по профилактике, диагностике и лечению ВИЧ-инфекции. ВИЧ-инфекция у детей: клинические рекомендации. М.; 2020.
13. Cianfriglia M, Dupuis ML, Molinari A, Verdoliva A, Costi R, Galluzzo CM, et al. HIV-1 integrase inhibitors are substrates for the multidrug transporter MDR1-P-glycoprotein. Retrovirology. 2007; 4: 17. doi: 10.1186/1742-4690-4-17
14. Albermann N, Schmitz-Winnenthal FH, Z'graggen K, Volk C, Hoffmann MM, Haefeli WE, et al. Expression of the drug transporters MDR1/ABCB1, MRP1/ABCC1, MRP2/ABCC2, BCRP/ABCG2, and PXR in peripheral blood mononuclear cells and their relationship with the expression in intestine and liver. Biochem Pharmacol. 2005; 70(6): 949-958. doi: 10.1016/j.bcp.2005.06.018
15. Ford J, Hoggard PG, Owen A, Khoo SH, Back DJ. A simplified approach to determining P-glycoprotein expression in peripheral blood mononuclear cell subsets. J Immunol Methods. 2003; 274(1-2): 129-137. doi: 10.1016/s0022-1759(02)00509-4

16. Coelho AV, Silva SP, de Alencar LC, Stocco G, Crovella S, Brandão LA, et al. ABCB1 and ABCC1 variants associated with virological failure of first-line protease inhibitors antiretroviral regimens in Northeast Brazil patients. *J Clin Pharmacol*. 2013; 53(12): 1286-1293. doi: 10.1002/jcph.165
17. Fellay J, Marzolini C, Meaden ER, Back DJ, Buclin T, Chave JP, et al. Response to antiretroviral treatment in HIV-1-infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: A pharmacogenetics study. *Lancet*. 2002; 359(9300): 30-36. doi: 10.1016/S0140-6736(02)07276-8
18. Brumme ZL, Dong WW, Chan KJ, Hogg RS, Montaner JS, O'Shaughnessy MV, et al. Influence of polymorphisms within the CX3CR1 and MDR-1 genes on initial antiretroviral therapy response. *AIDS*. 2003; 17(2): 201-208. doi: 10.1097/00002030-200301240-00010
19. Hitzl M, Drescher S, van der Kuip H, Schäffeler E, Fischer J, Schwab M, et al. The C3435T mutation in the human MDR1 gene is associated with altered efflux of the P-glycoprotein substrate rhodamine 123 from CD56+ natural killer cells. *Pharmacogenetics*. 2001; 11(4): 293-298. doi: 10.1097/00008571-200106000-00003
20. Ma Q, Brazeau D, Zingman BS, Reichman RC, Fischl MA, Gripshover BM, et al. Multidrug resistance 1 polymorphisms and trough concentrations of atazanavir and lopinavir in patients with HIV. *Pharmacogenomics*. 2007; 8(3): 227-235. doi: 10.2217/14622416.8.3.227
21. Баирова Т.А., Аталян А.В., Манаенкова Т.Л., Самбялова А.Ю., Бельских А.В., Рычкова Л.В., и др. Фармакогенетика антиретровирусной терапии у детей и подростков: Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021621961 Рос. Федерация. № 2021621872; заявл. 09.09.2021; опубл. 15.09.2021.
22. Баирова Т.А., Немчинова Н.В., Беляева Е.В., Самбялова А.Ю., Ершова О.А., Рычкова Л.В., и др. Распространенность полиморфных вариантов гена *ABCB1* среди коренных популяций Сибири. *Генетика*. 2022; 58(1): 68-75. doi: 10.31857/S0016675821110023
23. Sychev DA, Shuev GN, Suleymanov SS, Ryzhikova KA, Mirzaev KB, Grishina EA, et al. Comparison of CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, ABCB1, and SLCO1B1 gene-polymorphism frequency in Russian and Nanai populations. *Pharmgenomics Pers Med*. 2017; 10: 93-99. doi: 10.2147/PGPM.S129665
24. Kim RB, Leake BF, Choo EF, Dresser GK, Kubba SV, Schwarz UI, et al. Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin Pharmacol Ther*. 2001; 70(2): 189-199. doi: 10.1067/mcp.2001.117412
25. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmöller J, John E, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000; 97(7): 3473-3478. doi: 10.1073/pnas.97.7.3473
26. Leschziner GD, Andrew T, Pirmohamed M, Johnson MR. ABCB1 genotype and PGP expression, function and therapeutic drug response: A critical review and recommendations for future research. *Pharmacogenomics J*. 2007; 7(3): 154-179. doi: 10.1038/sj.tpj.6500413
27. Estrela R de C, Ribeiro FS, Barroso PF, Tuyama M, Gregório SP, Dias-Neto E, et al. ABCB1 polymorphisms and the concentrations of lopinavir and ritonavir in blood, semen and saliva of HIV-infected men under antiretroviral therapy. *Pharmacogenomics*. 2009; 10(2): 311-318. doi: 10.2217/14622416.10.2.311
28. Winzer R, Langmann P, Zilly M, Tollmann F, Schubert J, Klinker H, et al. No influence of the P-glycoprotein genotype (MDR1 C3435T) on plasma levels of lopinavir and efavirenz during antiretroviral treatment. *Eur J Med Res*. 2003; 8(12): 531-534.
29. Rakhmanina NY, Neely MN, Van Schaik RH, Gordish-Dressman HA, Williams KD, Soldin SJ, et al. CYP3A5, ABCB1, and SLCO1B1 polymorphisms and pharmacokinetics and virologic outcome of lopinavir/ritonavir in HIV-infected children. *Ther Drug Monit*. 2011; 33(4): 417-424. doi: 10.1097/FTD.0b013e318225384f
30. Liu X, Ma Q, Zhao Y, Mu W, Sun X, Cheng Y, et al. Impact of single nucleotide polymorphisms on plasma concentrations of efavirenz and lopinavir/ritonavir in Chinese children infected with the human immunodeficiency virus. *Pharmacotherapy*. 2017; 37(9): 1073-1080. doi: 10.1002/phar.1988
31. Bellusci CP, Rocco C, Aulicino P, Mecikovsky D, Curras V, Hegoburu S, et al. Influence of MDR1 C1236T polymorphism on lopinavir plasma concentration and virological response in HIV-1-infected children. *Gene*. 2013; 522(1): 96-101. doi: 10.1016/j.gene.2013.03.020

REFERENCES

1. UNAIDS. *Global HIV & AIDS statistics. Fact sheet*. URL: <https://www.unaids.org/ru/resources/fact-sheet> [date of access: 10.01.2021]. (In Russ.).
2. Federal AIDS Centre of the Central Research Institute of Epidemiology. *HIV infection in the Russian Federation in 2019*. URL: http://aids-centr.perm.ru/images/hiv_in_rf_30.06.2021.pdf [date of access: 10.01.2022]. (In Russ.).
3. *Guidelines for managing advanced HIV disease and rapid initiation of antiretroviral therapy*. Geneva: World Health Organization; 2017.
4. Saag MS, Benson CA, Gandhi RT, Hoy JF, Landovitz RJ, Mugavero MJ, et al. Antiretroviral drugs for treatment and prevention of HIV infection in adults: 2018 recommendations of the International Antiviral Society – USA Panel. *JAMA*. 2018; 320(4): 379-396. doi: 10.1001/jama.2018.8431
5. Petrova A, Vaniarkina A, Plotnikova J, Rychkova L, Moskalova E. Impact of combined antiretroviral prophylaxis on health outcomes in HIV exposed neonates. *Arch Dis Child*. 2019; 104(S3): R.A4. doi: 10.1136/archdischild-2019-epa.9
6. Rashidova MA, Sholokhov LF, Marjanian AY, Kolesnikova LI. HIV and pregnancy: Realities of XXI century. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2022; 42(2): 10-17. (In Russ.). doi: 10.18699/SSMJ20220202
7. Leshchenko OY, Genich EV. Reproductive disorders and their pathogenetic mechanisms in women with HIV. *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2019; 11(4): 20-29. (In Russ.). doi: 10.22328/2077-9828-2019-11-4-20-29
8. Sigaloff KC, Calis JC, Geelen SP, van Vugt M, de Wit TF. HIV-1-resistance-associated mutations after failure of first-line antiretroviral treatment among children in resource-poor regions: A systematic review. *Lancet Infect Dis*. 2011; 11(10): 769-779. doi: 10.1016/S1473-3099(11)70141-4
9. Zhao Y, Mu W, Harwell J, Zhou H, Sun X, Cheng Y, et al. Drug resistance profiles among HIV-1-infected children experiencing

delayed switch and 12-month efficacy after using second-line antiretroviral therapy: An observational cohort study in rural China. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2011; 58(1):47-53. doi: 10.1097/QAI.0b013e318229f2a2

10. Sambyalova AY, Bairova TA, Manaenkova TL, Rychkova LV. The role of pharmacogenetics in efficacy and safety of protease inhibitor based therapy in human immunodeficiency virus type (HIV) infection. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(6-2): 113-124. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2021-6.6-2.12

11. Relling MV, Evans WE. Pharmacogenomics in the clinic. *Nature*. 2015; 526(7573): 343-350. doi: 10.1038/nature15817

12. National Association of Specialists in the Prevention, Diagnosis and Treatment of HIV Infection. *HIV infection in children: clinical guidelines*. Moscow; 2020. (In Russ.).

13. Cianfriglia M, Dupuis ML, Molinari A, Verdoliva A, Costi R, Galluzzo CM, et al. HIV-1 integrase inhibitors are substrates for the multidrug transporter MDR1-P-glycoprotein. *Retrovirology*. 2007; 4: 17. doi: 10.1186/1742-4690-4-17

14. Albermann N, Schmitz-Winnenthal FH, Z'graggen K, Volk C, Hoffmann MM, Haefeli WE, et al. Expression of the drug transporters MDR1/ABCB1, MRP1/ABCC1, MRP2/ABCC2, BCRP/ABCG2, and PXR in peripheral blood mononuclear cells and their relationship with the expression in intestine and liver. *Biochem Pharmacol*. 2005; 70(6): 949-958. doi: 10.1016/j.bcp.2005.06.018

15. Ford J, Hoggard PG, Owen A, Khoo SH, Back DJ. A simplified approach to determining P-glycoprotein expression in peripheral blood mononuclear cell subsets. *J Immunol Methods*. 2003; 274(1-2): 129-137. doi: 10.1016/s0022-1759(02)00509-4

16. Coelho AV, Silva SP, de Alencar LC, Stocco G, Crovella S, Brandão LA, et al. ABCB1 and ABCC1 variants associated with virological failure of first-line protease inhibitors antiretroviral regimens in Northeast Brazil patients. *J Clin Pharmacol*. 2013; 53(12): 1286-1293. doi: 10.1002/jcph.165

17. Fellay J, Marzolini C, Meaden ER, Back DJ, Buclin T, Chave JP, et al. Response to antiretroviral treatment in HIV-1-infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: A pharmacogenetics study. *Lancet*. 2002; 359(9300): 30-36. doi: 10.1016/S0140-6736(02)07276-8

18. Brumme ZL, Dong WW, Chan KJ, Hogg RS, Montaner JS, O'Shaughnessy MV, et al. Influence of polymorphisms within the CX3CR1 and MDR-1 genes on initial antiretroviral therapy response. *AIDS*. 2003; 17(2): 201-208. doi: 10.1097/00002030-200301240-00010

19. Hitzl M, Drescher S, van der Kuip H, Schäffeler E, Fischer J, Schwab M, et al. The C3435T mutation in the human MDR1 gene is associated with altered efflux of the P-glycoprotein substrate rhodamine 123 from CD56+ natural killer cells. *Pharmacogenetics*. 2001; 11(4): 293-298. doi: 10.1097/00008571-200106000-00003

20. Ma Q, Brazeau D, Zingman BS, Reichman RC, Fischl MA, Gripshover BM, et al. Multidrug resistance 1 polymorphisms and trough concentrations of atazanavir and lopinavir in patients with HIV. *Pharmacogenomics*. 2007; 8(3): 227-235. doi: 10.2217/14622416.8.3.227

21. Bairova TA, Atalyan AV, Manaenkova TL, Sambyalova AY, Belskikh AV, Rychkova LV, et al. *Pharmacogenetics of antiretroviral therapy in children and adolescents*: Certificate on the registration of the database No. 2021621961 of the Russian Federation. 2021. (In Russ.).

22. Bairova TA, Nemchinova NV, Belyaeva EV, Sambyalova AY, Ershova OA, Rychkova LV. The prevalence of polymorphic variants of ABCB1 gene among indigenous populations of Siberia. *Russian Journal of Genetics*. 2022; 58(1): 68-75. (In Russ.). doi: 10.31857/S0016675821110023

23. Sychev DA, Shuev GN, Suleymanov SS, Ryzhikova KA, Mirzaev KB, Grishina EA, et al. Comparison of CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, ABCB1, and SLCO1B1 gene-polymorphism frequency in Russian and Nanai populations. *Pharmacogenomics Pers Med*. 2017; 10: 93-99. doi: 10.2147/PGPM.S129665

24. Kim RB, Leake BF, Choo EF, Dresser GK, Kubba SV, Schwarz UI, et al. Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin Pharmacol Ther*. 2001; 70(2): 189-199. doi: 10.1067/mcp.2001.117412

25. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmöller J, John A, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000; 97(7): 3473-3478. doi: 10.1073/pnas.97.7.3473

26. Leschziner GD, Andrew T, Pirmohamed M, Johnson MR. ABCB1 genotype and PGP expression, function and therapeutic drug response: A critical review and recommendations for future research. *Pharmacogenomics J*. 2007; 7(3): 154-179. doi: 10.1038/sj.tpj.6500413

27. Estrela R de C, Ribeiro FS, Barroso PF, Tuyama M, Gregório SP, Dias-Neto E, et al. ABCB1 polymorphisms and the concentrations of lopinavir and ritonavir in blood, semen and saliva of HIV-infected men under antiretroviral therapy. *Pharmacogenomics*. 2009; 10(2): 311-318. doi: 10.2217/14622416.10.2.311

28. Winzer R, Langmann P, Zilly M, Tollmann F, Schubert J, Klinker H, et al. No influence of the P-glycoprotein genotype (MDR1 C3435T) on plasma levels of lopinavir and efavirenz during antiretroviral treatment. *Eur J Med Res*. 2003; 8(12): 531-534.

29. Rakhmanina NY, Neely MN, Van Schaik RH, Gordish-Dressman HA, Williams KD, Soldin SJ, et al. CYP3A5, ABCB1, and SLCO1B1 polymorphisms and pharmacokinetics and virologic outcome of lopinavir/ritonavir in HIV-infected children. *Ther Drug Monit*. 2011; 33(4): 417-424. doi: 10.1097/FTD.0b013e318225384f

30. Liu X, Ma Q, Zhao Y, Mu W, Sun X, Cheng Y, et al. Impact of single nucleotide polymorphisms on plasma concentrations of efavirenz and lopinavir/ritonavir in Chinese children infected with the human immunodeficiency virus. *Pharmacotherapy*. 2017; 37(9): 1073-1080. doi: 10.1002/phar.1988

31. Bellusci CP, Rocco C, Alicino P, Mecikovsky D, Curras V, Hegoburu S, et al. Influence of MDR1 C1236T polymorphism on lopinavir plasma concentration and virological response in HIV-1-infected children. *Gene*. 2013; 522(1): 96-101. doi: 10.1016/j.gene.2013.03.020

Сведения об авторах

Самбялова Александра Юрьевна – младший научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: sambialova95@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5790-6282>

Баирова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: tbairova38@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3704-830X>

Манаенкова Татьяна Леонидовна – аспирант, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; врач-инфекционист, ГБУЗ «Иркутский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», e-mail: vodnay.stihiay@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9201-7288>

Бельских Алексей Владимирович – кандидат химических наук, инженер лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: alex590750@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3678-7274>

Беляева Елена Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: belyeva_irk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6050-5287>

Ершова Оксана Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: oksana111088@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0690-4636>

Кумратов Дмитрий Витальевич – лаборант лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»

Парамонов Алексей Игоревич – лаборант-исследователь функциональной группы геномных исследований и биоинформационного анализа, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: paramonov_a.i@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7156-4036>

Плотникова Юлия Кимовна – кандидат медицинских наук, главный врач, ГБУЗ «Иркутский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», e-mail: aids@aids38.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2912-9118>

Колomeец Лариса Викторовна – врач-инфекционист, ГБУЗ «Иркутский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», e-mail: lar.colom@yandex.ru

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2910-0737>

Information about the authors

Aleksandra Yu. Sambyalova – Junior Research Officer at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: sambialova95@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5790-6282>

Tatiana A. Bairova – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: tbairova38@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3704-830X>

Tatiana L. Manaenkova – Postgraduate, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; Infectiologist, Irkutsk Regional AIDS Centre, e-mail: vodnay.stihiay@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9201-7288>

Aleksey V. Belskikh – Cand. Sc. (Chem.), Engineer at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: alex590750@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3678-7274>

Elena V. Belyaeva – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: belyeva_irk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6050-5287>

Oksana A. Ershova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: oksana111088@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0690-4636>

Dmitry V. Kumratov – Laboratory Assistant at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems

Aleksey I. Paramonov – Research Assistant at the Group of Genomic Studies and Bioinformation Analysis, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: paramonov_a.i@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7156-4036>

Yulia K. Plotnikova – Cand. Sc. (Med.), Head Physician, Irkutsk Regional AIDS Centre, e-mail: aids@aids38.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2912-9118>

Larisa V. Kolomeets – Infectiologist, Irkutsk Regional AIDS Centre, e-mail: lar.colom@yandex.ru

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2910-0737>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ INFECTIOUS DISEASES

МЕХАНИЗМЫ АУТОИММУННОЙ ПАТОЛОГИИ ПОСТКОВИДНОГО СИНДРОМА

Орлова Е.А.,
Кондратов И.Г.,
Огарков О.Б.,
Колесникова Л.И.

ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Орлова Елизавета Андреевна,
e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Одним из отсроченных последствий инфекции SARS-CoV-2 является постковидный синдром – развивающиеся у реконвалесцентов COVID-19 полиморфные нарушения различных систем организма, которые сохраняются более четырёх недель после перенесённой острой инфекции. В силу инфекционной природы заболевания отдельного внимания требуют осложнения со стороны иммунной системы, особенно сопутствующая и впервые возникающая аутоиммунная патология. В этом обзоре проводится анализ современного состояния вопроса постковидных осложнений, обсуждаются молекулярные особенности вируса SARS-CoV-2 и механизмы, лежащие в основе нарушений иммунного ответа в период острой инфекции COVID-19 и возникновения аутоиммунных и аутовоспалительных состояний при реконвалесценции. Особое внимание уделено молекулярной мимикрии антигенных детерминант вируса SARS-CoV-2, структурно сходных с эпитопами аутоантигенов человека. Приведены современные данные о постковидных аутоиммунных осложнениях со стороны гуморального иммунитета и эндокринной системы, а также репродуктивных нарушений, с которыми сталкиваются пациенты мужского пола. Впервые высказывается гипотеза о роли структурной гомологии аутоантигена SOX13 человека (HMG box factor SOX13), ассоциированного с сахарным диабетом, и белка E оболочки SARS-CoV-2 в развитии постковидных аутоиммунных патологий. В силу структурного сходства двух белков и перекрытия их иммуногенных регионов мы предполагаем, что повышенный риск развития сахарного диабета и нарушений со стороны репродуктивной системы у мужчин после перенесённого COVID-19 могут быть связаны с перекрёстной иммунологической реактивностью.

Ключевые слова: COVID-19, SARS-CoV-2, постковидный синдром, аутоиммунные заболевания, молекулярная мимикрия, SOX13, белок E

Статья получена: 20.07.2022
Статья принята: 03.10.2022
Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Орлова Е.А., Кондратов И.Г., Огарков О.Б., Колесникова Л.И. Механизмы аутоиммунной патологии постковидного синдрома. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 62-76. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.8

MECHANISMS OF AUTOIMMUNE PATHOLOGY IN POST-COVID SYNDROME

**Orlova E.A.,
Kondratov I.G.,
Ogarkov O.B.,
Kolesnikova L.I.**

Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Elizaveta A. Orlova,
e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com

ABSTRACT

One of the delayed consequences of SARS-CoV-2 infection is post-acute COVID-19 – polymorphic disorders of various organ systems that affect COVID-19 convalescents and persist for more than four weeks after an acute infection. Due to the infectious nature of the COVID-19, we would like to pay special attention to complications from the immune system, especially concomitant and new-onset autoimmune pathology. This review analyzes the current state of the issue of post-acute COVID-19 complications, discusses the molecular features of the SARS-CoV-2 virus and the mechanisms underlying the impaired immune response during acute COVID-19 infection and the occurrence of autoimmune and autoinflammatory conditions during convalescence. Particular attention is paid to the molecular mimicry of antigenic determinants of the SARS-CoV-2 virus, which are structurally similar to the epitopes of human autoantigens. The current data on post-acute COVID-19 autoimmune complications from humoral immunity and the endocrine system, as well as reproductive disorders faced by male patients are presented. For the first time, we hypothesize a role of the structural homology of the human SOX13 autoantigen (HMG box factor SOX13) associated with diabetes mellitus and SARS-CoV-2 envelope (E) protein in the development of the post-acute COVID-19 autoimmune pathologies. Due to the structural similarity of the two proteins and the overlap of their immunogenic regions, we suggest that the increased risk of developing diabetes mellitus and reproductive disorders in men after suffering from COVID-19 may be associated with immunological cross-reactivity.

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2, post-acute COVID-19 syndrome, autoimmune diseases, molecular mimicry, SOX13, E protein

Received: 20.07.2022
Accepted: 03.10.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Orlova E.A., Kondratov I.G., Ogarkov O.B., Kolesnikova L.I. Mechanisms of autoimmune pathology in post-covid syndrome. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 62-76. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.8

ВВЕДЕНИЕ

Постковидный синдром (англ. long COVID-19 или post-acute COVID-19) – это состояние, характеризующееся сохранением клинических симптомов, связанных с инфекцией SARS-CoV-2, по крайней мере, спустя четыре недели после перенесённой острой инфекции. Затрагиваются дыхательная, нервная, сердечно-сосудистая, эндокринная системы, возникают нарушения обоняния и вкуса и другие клинические симптомы. Первоначально постковидный синдром чаще фиксировался у пациентов, госпитализированных с тяжёлой формой заболевания, однако долгосрочные осложнения затронули также амбулаторных и бессимптомных пациентов [1]. Имеющиеся заболевания лёгких, пожилой возраст, ожирение [2] и женский пол [3] считаются факторами повышенного риска развития постковидных осложнений. Распространёнными признаками, наблюдаемыми вплоть до года после COVID-19, являются утомляемость, одышка, стойкая потеря обоняния или вкуса, миалгия, головная боль, кашель, диарея, боль в груди, депрессия, изменение состава респираторного микробиома и общее ухудшение качества жизни [4, 5].

Это состояние имеет сходство с постострыми вирусными синдромами, описанными у пациентов, перенёвших инфекции SARS и MERS [6], однако имеет уникальные черты патогенеза. Особенности SARS-CoV-2, такие как сайт фуринового расщепления S-белка [7] и динамические конформационные изменения в его структуре при слиянии с клеткой хозяина [8], папаиноподобная протеаза (SCoV2-PLpro) [9], ORF3b [10] и некоторые неструктурные белки [11], уникальны для нового коронавируса и являются факторами его повышенной вирулент-

ности [12]. Они способствуют уклонению вируса от иммунной системы и манипулированию иммунными реакциями, включая задержку интерферон-опосредованной защиты и производства вируснейтрализующих антител и, напротив, ответственны за стимулирование клеточного механизма репликации вируса. Таким образом повышается вирусная нагрузка [13] и способность вируса вызывать неадекватные иммунные реакции, такие как гиперактивация врождённого иммунитета. Всё это приводит к отягощению течения COVID-19 и может стать причиной развития острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), гиперкоагуляционного синдрома, гипоперфузии органов, септического шока, полиорганной недостаточности и в итоге привести к смерти, а у выживших пациентов – к долгосрочным постковидным осложнениям [14].

ПРЕДПОСЫЛКИ ИММУННОЙ ПАТОЛОГИИ ПРИ COVID-19

Ответом организма на тяжёлое инфекционное или неинфекционное поражение является синдром системного воспалительного ответа, за которым следует длительный компенсаторный противовоспалительный каскад – глобальная дезактивация иммунной системы, задачей которой является восстановление гомеостаза. Инфекция SARS-CoV-2 может привести к нарушению тонкого баланса между активацией иммунитета и иммуносупрессией, поскольку вирус использует своеобразную стратегию уклонения от врождённого иммунитета. У пациентов с тяжёлым течением COVID-19 наблюдается неадекватный иммунный профиль – увеличение количества клеток врождённого иммунитета с сопутствующей

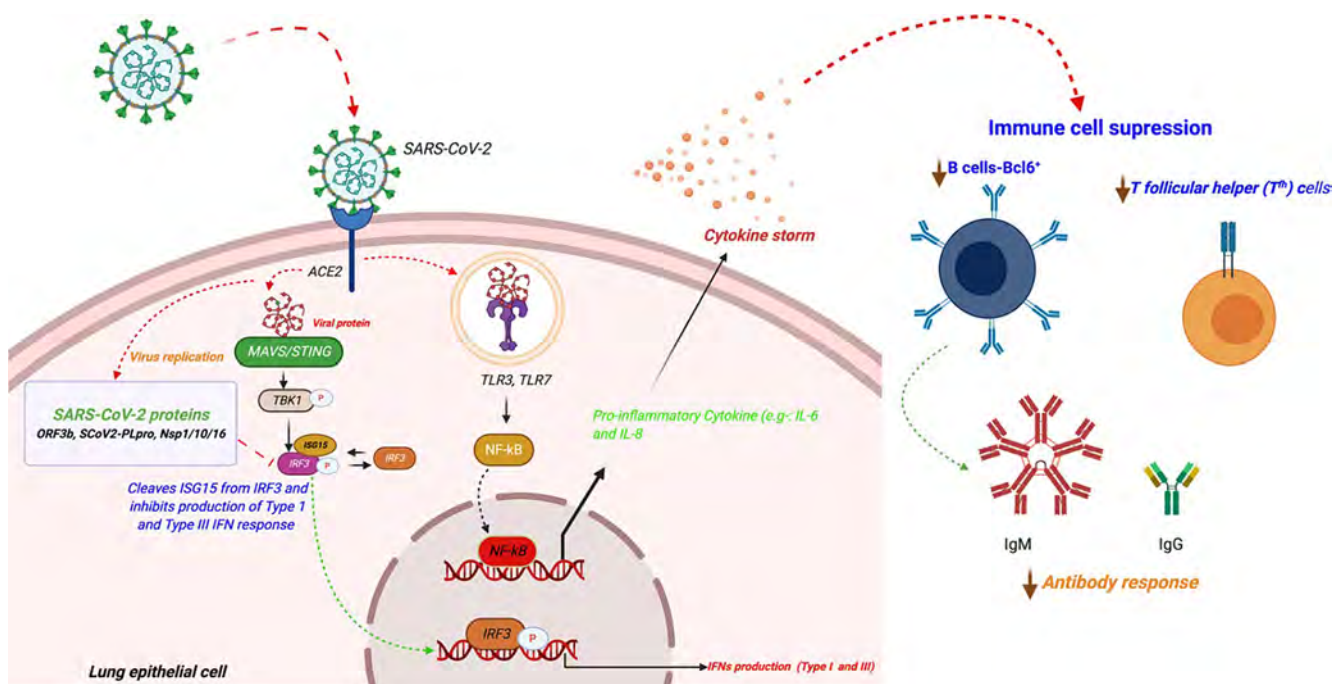


Рис. 1.

Нарушение иммунного ответа, вызванное SARS-CoV-2 [12]

FIG. 1.

SARS-CoV-2 manipulates host immune response [12]

щим истощением Т-клеток, а также парадоксальное развитие иммунных реакций – замедленный интерфероновый ответ (IFN типа I и III), сопровождаемый усиленной продукцией цитокинов (рис. 1).

За подавление раннего интерферонового ответа отвечают вирусные белки ORF3b и SARS-CoV-2-PLpro. ORF3b – неструктурный белок, отличается от ортологов других коронавирусов длиной из-за возникшего у SARS-CoV-2 стоп-кодона, что делает его более мощным антагонистом IFN I типа [10]. Папаиноподобная протеаза SARS-CoV-2-PLpro отщепляет убиквитин-подобный белок ISG15 от IRF3 (регуляторный фактор интерферона 3), таким образом ослабляя транскрипцию IFN I типа [9].

Часто сообщалось о быстром исчезновении специфических нейтрализующих антител против SARS-CoV-2 у выживших пациентов с COVID-19 [15] или их отсутствии у бессимптомно переболевших пациентов [16], а исследование посмертных образцов лимфоидной ткани пациентов, умерших от тяжёлого течения инфекции, показало значительное её поражение [17], атрофию или полное отсутствие зародышевых центров, истощение специфических подмножеств фолликулярных Т-хелперов (Tfh-клетки) и В-клеток, экспрессирующих белок Bcl6 [18]. Tfh-клетки и Bcl6+ В-клетки участвуют в образовании антител, а наличие зародышевых центров во вторичных лимфоидных тканях, в свою очередь, необходимо для переключения их изотипа и отбора высокоаффинных В-клеток с длительной продолжительностью жизни. Любопытно, что описанные у пациентов с тяжёлым течением COVID-19 изменения происходят не локально в месте инфильтрации, а системно затрагивают всю лимфоидную ткань, что указывает на влияние на организм некоторых циркулирующих факторов, препятствующих нормальной дифференцировке клеток. Прогрессирующая лимфоцитопения коррелирует с неконтролируемым высвобождением провоспалительных цитокинов и хемокинов, в частности с увеличением IL-6, IL-8 [19], TNF- α [18]. Вероятно, избыточный синтез провоспалительных цитокинов в месте дифференцировки клеток может способствовать нарушению образования зародышевых центров и снижению аффинности и устойчивости антител против SARS-CoV-2 при COVID-19.

Помимо этого, вирус SARS-CoV-2 напрямую манипулирует некоторыми молекулярными путями клетки-хозяина для увеличения уровня репликации своего генома, что влечёт за собой тяжёлые последствия со стороны иммунной системы и других инфицируемых тканей. Протеомное исследование выявило резкое изменение профиля фосфорилирования белков клетки при заражении: инфекция SARS-CoV-2 способствует активации рецептора фактора роста (GFR) [20], киназы II (CK2) и митоген-активируемой протеинкиназы p38/MAPK и, напротив, дезактивации циклинзависимых киназ CDK1, CDK2, CDK5 [21]. Такое изменение клеточной сигнализации приводит к аресту клеточного цикла в фазе S/G2 – богато на белки репарации и репликации и нуклеотиды и поэтому столь благоприятному для усиленной репликации вируса. Активация p38/MAPK дополнительно индуцирует выработку потенциально вредных провоспа-

лительных цитокинов и поддержанию вызванного различными компонентами SARS-CoV-2 «порочного круга». Влияние вируса на молекулярные пути, регулируемые MAPK, CDK, GFR, может иметь потенциальные последствия у пациентов в постковидном периоде. Поскольку SARS-CoV-2 может инфицировать широкий спектр тканей человека, долговременным осложнением COVID-19 может оказаться ингибирование пролиферации клеток в тканях с высокой скоростью митоза, таких как репродуктивные и эндокринные органы, эпителий слизистой оболочки и сосудов, а также нейрогенные области мозга [12].

ПОЧЕМУ У РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ COVID-19 МОЖЕТ ВОЗНИКАТЬ АУТОИММУННАЯ ПАТОЛОГИЯ?

Фундаментальной характеристикой иммунной системы является её аутоотолерантность – способность отличать собственные молекулярные структуры от чужеродных и оставаться ареактивной к ним. Определённые триггеры могут нарушать функционирование сдерживающих механизмов и обращать деструктивный потенциал иммунной системы против собственных антигенов. Последствием этого является иммуноопосредованное повреждение тканей и органов, приводящее к системному воспалению и развитию аутовоспалительных (затрагивающих в основном механизмы врождённого иммунитета) или аутоиммунных (основанных в первую очередь на нарушении адаптивного иммунитета) заболеваний. Потеря толерантности к определённым аутоантигенам может происходить за счёт реализации разных молекулярных и клеточных механизмов: повреждение физических гистогематических барьеров; нарушение работы регуляторных иммунных клеток, продуцирующих противовоспалительные цитокины (IL-4, IL-10 и трансформирующий фактор роста бета (TGF- β)); активация аутореактивных Т- и В-лимфоцитов при попадании в организм перекрёстно-реагирующих микробных антигенов (молекулярная мимикрия); переключение на новые эпитопы в ходе реализации противoinфекционного иммунного ответа; появление неоантигенов. Распространённым экзогенным фактором, способным запускать аутоиммунитет, являются вирусные патогены. Определённые типы вирусов могут вызывать активацию аутореактивных Т- и В-лимфоцитов, способствуя продукции аутоантител и избыточного количества провоспалительных цитокинов. Например, наличие вируса Эпштейна – Барр и парвовируса B19 коррелирует с тиреоидитом Хашимото [22], Т-лимфотропного вируса человека и пенистого вируса человека – с болезнью Грейвса [23], а вируса простого герпеса – с аутоиммунным энцефалитом [24].

Вирусное инфицирование нарушает транскрипционные и посттранскрипционные механизмы и может приводить к неконтролируемому синтезу и высвобождению хемокинов и медиаторов воспаления, которое формирует состояние, названное синдромом «цитокинового шторма». Высокие уровни различных цитокинов, таких как IL-6, INF- γ и TNF, у генетически предрасположенных

лиц приводят к гиперактивации врождённых и адаптивных иммунных механизмов. Попадая в воспалительный очаг с высокой концентрацией провоспалительных молекул, лимфоциты могут выходить из состояния анархии и активироваться даже в отсутствие специфического антигена – происходит «сторонняя» (bystander) активация Т-лимфоцитов [25]. Очевидно, её физиологический смысл состоит в том, что антиген-независимые Т-клетки могут выступать звеном врождённого иммунитета, секретируя IFN- γ [26]; однако, аутореактивные лимфоциты, активированные таким образом, провоцируют аутоиммунные заболевания. Мощными стимуляторами «сторонней» активации Т-лимфоцитов являются интерлейкины IL-1, IL-2, IL-12, IL-18, IL-23, IL-27, IL-33 и передача сигналов через Toll-подобные рецепторы [26]. Известно, что неспецифическая активация Т-клеток при вирусных инфекциях (вирус Эпштейна – Барр, вирусы Коксаки, ротавирусы, энтеровирусы, вирус гриппа А) связана с развитием таких аутоиммунных заболеваний как ревматоидный артрит, сахарный диабет (СД) 1-го типа, рассеянный склероз [27].

Современные данные подтверждают также идею о том, что аутоиммунные осложнения могут быть вызваны инфекцией SARS-CoV-2. В 2020 г. М. Gregorova и соавт. описали клинический случай пациента с COVID-19, у которого развилась рецидивирующая вентиляторно-ассоциированная пневмония, вызванная штаммом *Pseudomonas aeruginosa*, а постковидные симптомы в виде одышки и усталости не проходили спустя 8 месяцев после выздоровления. В данном случае SARS-CoV-2-индуцированная гиперактивация иммунной системы дополнительно стимулировалась рецидивирующей инфекцией *P. aeruginosa*, что привело к «сторонней» активации Т-клеток, специфичных к антигенам, не связанным ни с одной из перенесённых инфекций. Авторы предполагают, что высокий уровень циркулирующих неспецифических Т-клеток мог сыграть решающую роль в тяжести заболевания и развитии постковидного синдрома у этого пациента.

С другой стороны, некоторые клинические симптомы COVID-19 и постковидного синдрома, включая артралгии, миалгии, утомляемость, сыпь, часто обнаруживаются при системных аутоиммунных заболеваниях. Рентгенологические особенности поражения лёгких у пациентов с COVID-19 – затемнения по типу матового стекла, – имеют сходство с пневмонией при аутоиммунных заболеваниях (например, ревматоидном артрите, системном склерозе, эозинофильном гранулёматозе с полиангиитом) и аутовоспалительных заболеваниях (например, системном ювенильном идиопатическом артрите). Патогенез «цитокинового шторма», развивающийся при COVID-19, аналогичен таковому при вторичном гемофагоцитарном лимфогистиоцитозе (ВГЛГ) – гипервоспалительном состоянии, ассоциированном как с аутоиммунными и аутовоспалительными заболеваниями, так и с COVID-19.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ МИМИКРИЯ

Помимо сторонней активации лимфоцитов, существует другой, антиген-специфичный, путь вирус-инду-

цированного запуска аутоиммунных заболеваний. Молекулярная мимикрия позволяет эпитопам вирусных белков «копировать» антигенные детерминанты организма-хозяина, что приводит к перекрёстной реакции и может вызвать потерю толерантности и развитие аутоиммунитета. Хорошо известно, что предикторами тяжёлого течения COVID-19 являются гипертония и сахарный диабет, при которых наблюдается хронический стресс эндотелиальных клеток и аномальная экспрессия на их поверхности внутриклеточных белков, например, посттрансляционно модифицированных шаперонов [28]. F. Carpellato (2020), по-видимому, первым предположил, что противирусные антитела могут перекрёстно реагировать с эпитопами собственных белков на поверхности плазматической мембраны эндотелиальных клеток, подвергшихся стрессу. В свою очередь, аутоиммунные реакции против эндотелия сосудов могут вызывать тромбоз, синдром диссеминированного внутрисосудистого свёртывания и полиорганную недостаточность.

F. Angileri и соавт. (2020) обратили внимание на три белка человека, имеющих гомологию с вирусными белками, и, возможно, связанными с аносмией, лейкопенией и поражением сосудов при COVID-19. Это OR7D4 (одорантный рецептор 7D4) – один из наиболее важных рецепторов на плазматической мембране обонятельных сенсорных нейронов, PARP9 (представитель группы поли(АДФ-рибоза)-полимераз), участвующий в дифференцировке и функционировании В-клеток и макрофагов, и SLC12A6 – котранспортёр хлорида калия в эндотелиальных клетках сосудов. G. Lucchesi и A. Flöel (2020) сообщили ещё о трёх белках комплекса пре-Бётцингера (DAB1, SURF1 и AIFM), экспрессируемых в нейронах дыхательного центра ствола головного мозга, которые, как показывает анализ *in silico*, имеют общие потенциально антигенные эпитопы с белками SARS-CoV-2 (N и S). Эти три последовательности отсутствуют у других коронавирусов человека (HKU1 и OC43), которые могут вызывать повреждение лёгких, но обычно не связаны с дыхательной недостаточностью. Авторы отмечают, что все три изученных белка могут участвовать в дисфункции комплекса пре-Бётцингера, и предполагают, что иммунная агрессия в отношении DAB1, AIFM1 и SURF1 может способствовать нейрогенной дыхательной недостаточности у пациентов с COVID-19. V. Vasilevska и соавт. (2021) в систематическом обзоре сообщают о связи между инфекцией SARS-CoV-2 и вторичным возникновением анти-NMDAR-энцефалита. В качестве основной причины аутоиммунного ответа против рецепторов NMDA головного мозга авторы также предполагают мимикрию неструктурных белков NSP8 и NSP9 вируса с эпитопами субъединиц GluN1 и GluN2a рецептора NMDA (N-метил-D-аспарагиновой кислоты). Анти-NMDAR-энцефалит, опосредованный антителами к субъединице GluN1, является распространённой формой аутоиммунного энцефалита, характеризующейся проявлением неврологических и психозоподобных симптомов [29]. Патогенез заболевания заключается в интернализации перекрёстно связанных на мембране NMDAR-IgG, вследствие чего рецепторы становятся

недоступными для возбуждающей глутаматергической передачи. С другой стороны, повреждение микрососудов, вызванное системным воспалительным ответом на инфекцию SARS-CoV-2, и их повышенная проницаемость, могут вызывать нарушение гематоэнцефалического барьера и облегчать перенос NMDAR-реактивных и других аутоантител в ЦНС.

С помощью алгоритма HMI-PRED (структурное прогнозирование взаимодействия между хозяином и патогеном на основе пространственной мимикрии) H. Yárci-Eser и соавт. (2021) было предсказано множество человеческих белков-кандидатов, под которые могут мимикрировать белки SARS-CoV-2. Это белки, связанные с нейротрансмиссией, возбудимостью нейронов, эндоцитозом, праймированием синаптических пузырьков, основные факторы роста (FGF1, FGF2 и FGF4, VEGF2, GDNF, EGF, GLP-1, инсулиноподобный фактор роста, рецептор инсулина и эстрогена, цилиарный нейротрофический фактор), белки, связанные с митохондриальным транспортом, инсулин и многие другие. Безусловно, необходимы дальнейшие исследования для обсуждения реальности угрозы аутоагрессии против указанных белков-кандидатов, поскольку структурная гомология является необходимым, но недостаточным условием, и необходимо учитывать присутствие в белках В- и Т-клеточных эпитопов. Для этих целей недавно был создан веб-сервер CRESSP (англ. Cross Reactive Epitope Search using Structural properties of Proteins), с помощью которого становится возможным выявлять перекрёстно-реактивные эпитопы между протеомами SARS-CoV-2 и человека с использованием структурных свойств белков [30]. Данным подходом были обнаружены уже 133 человеческих белка, несущих потенциальные перекрёстно-реактивные В-клеточные эпитопы, и 648 белков – с потенциальными CD8⁺ Т-клеточными эпитопами. Подобное широкое распространение аутоантигенов предполагает их участие в мультиорганных проявлениях постковидного синдрома.

АУТОАНТИТЕЛА

Последствием описанных вирус-индуцированных нарушений иммунной системы, а также, как предполагают S.E. Chang и соавт. [31], взаимодействия между вирусными компонентами с собственными белками организма с возникновением новых межмолекулярных эпитопов, является мобилизация аутоантител. Уже в первый год пандемии появились первые сообщения о наличии аутоиммунных явлений у пациентов с тяжёлой и критической формой COVID-19. В первой опубликованной работе [32] авторы указали на распространённость ANA (антинуклеарных антител) и антител к цитоплазматическим антигенам SS-A(Ro) (SS-A (52 кДа) / SS-A (60 кДа)) – полипептидам, образующим комплекс с RoPНК, – которые обычно диагностируют при синдроме Шегрена и некоторых разновидностях системной красной волчанки (СКВ) [33]. ANA реактивны к ядерным белкам и присутствуют при многих системных аутоиммунных ревматических

заболеваниях, таких как СКВ, ревматоидный артрит, синдром Шегрена, антифосфолипидный синдром, системный склероз, воспалительные миопатии, гломерулонефрит, васкулит, энцефалит, аутоиммунный гепатит, первичный билиарный холангит, воспалительное заболевание кишечника и интерстициальное заболевание лёгких [34]. На сегодняшний день множество исследований показали наличие аутоантител у пациентов с SARS-CoV-2, ранее не имевших аутоиммунных заболеваний, подтверждая гипотезу COVID-19-ассциированного аутоиммунитета. Y. Zhang и соавт. описали трёх пациентов с COVID-19, отягощённых коагулопатией и церебральными тромбами, у которых наблюдались APA (антифосфолипидные антитела; IgA к кардиолипину, IgA и IgG к β 2-гликопротеину I) [35]. Авторы заявляют, что APA могут быть причиной тромбозов у пациентов в критическом состоянии. В целом, проведённый к настоящему моменту метаанализ встречаемости APA среди реконвалесцентов COVID-19 свидетельствует об их наличии почти у половины пациентов, при этом более высокая распространённость этого вида аутоантител обнаружена при тяжёлом течении инфекции [36].

M.C. Sacchi и соавт. (2021) указывают, что после перенесённого COVID-19 значительно распространены также ANCA (антитела к цитоплазме нейтрофилов) и ASCA класса IgA (антитела к *Saccharomyces cerevisiae*), а также ANA. С ANCA, которые ошибочно нацеливаются на белки нейтрофилов и моноцитов, обычно ассоциированы несколько форм васкулитов [37]. ASCA часто обнаруживаются в крови пациентов с болезнью Крона и их роль в патогенезе поражения кишечника остаётся не до конца выясненной [38]. Эти антитела взаимодействуют с фосфопептидоманнаном клеточной стенки *S. cerevisiae* или другими, вероятно, аутоантигенами, обладающими сходной структурой. M.C. Sacchi с коллегами также показали, что пациенты с COVID-19 с высоким титром ANA и ANCA имеют наихудший клинический исход. P.G. Vlachoyiannopoulos и соавт. (2020) проанализировали 29 тяжелобольных пациентов с COVID-19 и обнаружили, что почти у 70 % развилась аутоиммунная активация. Сообщается также о случае возникновения СКВ непосредственно после инфекции COVID-19 у пациентки на фоне первично-выявленных высоких уровней ANA, ANCA и аутоантител к Ku-антигену (ДНК-связывающий белок, участвующий в репарации двухцепочечных разрывов) [39].

В одном из наиболее обширных продольных серологических исследований проводился поиск новых и изучение специфичности уже известных аутоантител у госпитализированных пациентов с COVID-19 [31]. Выявленные у примерно половины пациентов антитела как минимум к одному из аутоантигенов появились у пациентов *de novo* вместе с IgG к белкам SARS-CoV-2. Авторы полагают, что повышение уровня аутоантител не является просто отражением гипергаммаглобулинемии, т. к. их уровень не пропорционален общей концентрации сывороточных IgG, а их мишенью является лишь небольшое количество аутоантигенов, т. е. происходит избирательная потеря ауто толерантности в ответ на ви-

русную инфекцию. В данной работе помимо описанных выше традиционных аутоантигенов в качестве дополнительных мишеней выявили рибосомальные Р-белки (Р0, Р1 и Р2), антигены щитовидной железы, белки хроматина, редкие антигены, характерные для пациентов с аутоиммунным миоцитом (MDA5, Mi-2 и tPHK-синтетаза), аутоантигены-кандидаты аутоиммунного миокардита (тропонин и MYH6), аутоантигены системного склероза (Th/To (RPP25), фибрилларин и мРНК U11/U12) и даже ангиотензинпревращающий фермент-2 (ACE2). Аутоантигены, которые естественным образом образуют комплексы с молекулой структурной РНК, например, MDA5, могут служить лигандами для Toll-подобных рецепторов (TLR7, TLR3) в клетках-хозяевах. В свою очередь, через экстрафолликулярный, TLR7-зависимый путь, могут активироваться аутореактивные В-клетки, как это происходит, например, при СКВ [40]. Нуклеиновые кислоты, высвобождаемые из разрушающихся клеток, сами по себе также могут образовывать иммунные комплексы с вирусными или собственными антигенами, которые могут способствовать выработке аутоантител.

В вопросе об аутоантителах интересно упомянуть также нейтрофильные внеклеточные ловушки (NETs). NETs образуются в результате нетоза – одного из видов запрограммированной клеточной гибели нейтрофилов, и предназначены для улавливания и «запутывания» патогена и создания локальной высокой концентрации медиаторов воспаления и бактерицидных компонентов. В случае COVID-19, тем не менее, NETs отягощают патогенез заболевания [41]. Содержащиеся в них компоненты – нуклеиновые кислоты, гистоны и бактерицидные пептиды – признаны молекулярными фрагментами, ассоциированными с повреждениями (DAMP), и запускают воспалительные сигналы, усиливая «цитокиновый шторм» (замыкается патологическая петля NETs-IL-1β). У пациентов с тяжёлой инфекцией детектируют аутоантитела против NETs [42], а через месяц после перенесённого заболевания отмечают снижение метаболических резервов нейтрофилов [43]. По-видимому, активация нейтрофилов с образованием NETs и развёртывание на этом фоне антинейтрофильного и анти-NETs аутоиммунитета могут иметь прямые последствия в виде высокого уровня циркулирующего D-димера, тромбовоспаления (иммунотромбоз) и васкулитов [44].

Значительная часть аутоантител у 60–80 % госпитализированных пациентов является АСА (антицитокиновыми) [31]. Подмножество АСА препятствует развитию защитного иммунного ответа при COVID-19, конкурируя за связывание цитокинов (например, IFN I типа, многих интерлейкинов) с их рецепторами на клеточной поверхности. Учитывая нарушение интерфероновой реакции, которое непосредственно вызвано неструктурными белками SARS-CoV-2 и описано выше, становится более ясной связь между тяжестью заболевания и нарушенной активностью IFN [45] у лиц с дополнительным его блокированием за счёт анти-IFN-антител.

Исследуя возможные причины стойкого аутоантительного ответа у пациентов с COVID-19, S.E. Chang и соавт. постулируют, что развитие аутоиммунитета при ин-

фицировании связано с драматическим нарушением координации разных ветвей иммунитета и широким противовирусным ответом не только на структурные, но и на внутренние вирусные белки. Наиболее часто выявляются антитела к структурным белкам SARS-CoV-2 (отметим, однако, что среди них к белку оболочки Е антитела в работе [31] выявлены только у одного пациента из 94), однако среди неструктурных NSP9 является наиболее часто распознаваемым внутренним белком SARS-CoV-2. Примечательно, что уровни IgG на белки других вирусов, включая сезонные коронавирусы и SARS-CoV, не коррелируют с уровнем АСА.

МУЖСКОЕ БЕСПЛОДИЕ И ДИАБЕТ

Согласно мировой статистике, мужчины более подвержены заболеванию COVID-19, чем женщины. В постковидном периоде у пациентов мужского пола всё чаще выявляются снижение фертильности и вновь приобретённый диабет 1-го типа. Высказываются гипотезы об аутоиммунной природе этих осложнений.

В мужских репродуктивных органах, особенно в семенниках, высок уровень экспрессии рецепторов ACE2 [46] и трансмембранной сериновой протеазы 2 (TMPRSS2) [47], которые используются SARS-CoV-2 для проникновения в клетку. Коэкспрессия ACE2 и TMPRSS2 в сперматогониях, клетках Сертоли и Лейдига делает их уязвимыми для инфекции, увеличивает риск дегенерации тестикулярной ткани и мужского бесплодия [48]. Вирус может нарушать сперматогенез напрямую, проникая и разрушая ACE2- и TMPRSS2-коэкспрессирующие клетки, или косвенно, приводя к метаболическому перепрограммированию или нарушая гемато-тестикулярный барьер и вызывая аутоиммунный орхит. Клетки Сертоли отвечают за формирование иммунологической толерантности к сперматогенным клетками, скрывая их от аутоиммунного реагирования, а также обеспечивают стабильное микроокружение, необходимое для сперматогенеза [49]. Инфицируя клетки Сертоли, SARS-CoV-2 повреждает гемато-тестикулярный барьер и приводит к инфильтрации ткани яичка лейкоцитами, которая негативно влияет на функцию тестостерон-продуцирующих клеток Лейдига и непосредственно повреждает семявыносящий эпителий [50]. Продуцируемые повреждёнными клетками провоспалительные цитокины, такие как IL-6, усиливают разрушение гемато-тестикулярного барьера [51] и могут активировать выработку аутоантител в семенных канальцах [46].

Орхит диагностируют у 19 % пациентов с COVID-19 [52], и даже средняя тяжесть инфекции у мужчин ассоциирована со снижением общего количества сперматозоидов в эякуляте и их подвижности [53, 54]. Однако большинство опубликованных данных указывают на отсутствие РНК вируса в образцах спермы [52], что может указывать на воспалительную и аутоиммунную причину повреждения тестикулярной ткани [55], а не на прямое разрушение вирусом. Например, у пациентов с COVID-19 обнаруживаются антифосфолипидные антитела, кото-

рые, как предполагается, снижают фертильность, действуя против развивающихся сперматоцитов, а поскольку вирус вызывает также гиперкоагуляцию, предполагается, что орхит также может быть результатом васкулита [56], или нарушений со стороны антиоксидантной системы организма [57]. Важно, что тестикулярная экспрессия ACE2 зависит от возраста: увеличивается после 20 лет, достигает максимума у 30-летних пациентов и практически не наблюдается у пациентов 60 лет [58]. Таким образом, молодые пациенты мужского пола подвержены более высокому риску постковидных осложнений со стороны репродуктивной системы, чем пациенты старшего возраста.

С.С. Maresch и соавт. указывают на патологическую взаимосвязь между мужской фертильностью, сахарным диабетом (СД) и вирус-индуцированным воспалением [59]. Косвенно гипергликемия усугубляет негативное влияние инфекции на мужской репродуктивный потенциал [60]. Особенно это важно в контексте формирования СД в виде постковидного осложнения. Недавние работы показывают, что у пациентов с COVID-19 всё чаще наблюдается впервые диагностированный диабет обоих типов [61]: риск его развития повышен уже после первых 30 дней болезни у детей, подростков [62] и взрослых [63]. Заражение различными вирусами (вирус краснухи и цитомегаловирус [64], вирус гепатита С [65], SARS-CoV [66]) часто ассоциировано с возникновением СД. Сообщается, что инфекция SARS-CoV-2 приводит к возникновению резистентности к инсулину и острой гипергликемии у людей без диабета, к развитию СД у пациентов с предиабетом и тяжёлыми метаболическими осложнениями ранее существовавшего диабета, в том числе диабетическому кетоацидозу и гиперосмолярности [60, 67]. В этом процессе могут быть задействованы прямые и непрямые патологические механизмы. При вирусной инфильтрации панкреатических островков происходит разрушение ACE2-экспрессирующих β -клеток и может сформироваться СД 1-го типа [61]. Резистентность к инсулину (СД 2-го типа) может также вызываться «цитокиновым штормом» и высокими уровнями АФК [68], наблюдаемыми при COVID-19 [69, 70].

СВЯЗЬ СТРУКТУРНОЙ ГОМОЛОГИИ БЕЛКА SOX13 ЧЕЛОВЕКА И БЕЛКА Е ОБОЛОЧКИ SARS-CoV-2 С АУТОИММУННЫМИ ПОСТКОВИДНЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ

Обсуждая роль молекулярной мимикрии в формировании аутоиммунной патологии, мы предполагаем, что повышенный риск развития СД и нарушений со стороны репродуктивной системы у мужчин после перенесённого COVID-19 могут быть связаны с перекрёстной иммунологической реактивностью. Нами обнаружена структурная гомология между трансмембранным и С-доменами белка оболочки Е SARS-CoV-2 с HMG-мотивом аутоантигена SOX-13 (HMG box factor SOX13).

SOX13 ((Sex-Determining Region Y)-box 13) выполняет роль транскрипционного фактора при регуляции эм-

брионального развития и клеточной дифференцировки, в том числе $\gamma\delta$ -Т-клеток [71], которые, как известно, способствуют В-клеткам в выработке аутоантител [72]. SOX13 участвует также в онкогенезе [73], вероятно, в сперматогенезе [74] и, как установили Н. Kasimiotis и соавт. (2000), также является аутоантигеном островковых клеток (ICA12 – islet cell antigen 12). Первоначально белок охарактеризовали как маркер СД 1-го типа [75], однако позже разница в частоте аутоантител, идентифицируемых у пациентов с СД обоих типов, не подтвердилась [76]. При этом в состав эпитопа, распознаваемого анти-SOX13-антителами, входит большая часть белка, а его экспрессия детектируется в большинстве тканей, с наиболее высоким уровнем в клетках поджелудочной и щитовидной железы, плаценты и почек [75]. Помимо этого, анти-SOX13-антитела обнаружены также у пациентов с первичным билиарным циррозом, аутоиммунным гепатитом и при мультисистемных аутоиммунных заболеваниях, СКВ и ревматоидном артрите, что указывает на способность SOX13 вызывать разнонаправленный аутоиммунный ответ [77]. Недавно было показано, что экспрессия SOX13 снижена в периферических мононуклеарных клетках крови (PMBC) пациентов с синдромом Клайнфельтера – крайне распространённого генетического заболевания у мужчин, вызванного наличием дополнительной X-хромосомы. Синдром Клайнфельтера характеризуется потерей зародышевых клеток, нарушением функции клеток Сертоли, гиперплазией клеток Лейдига, азооспермией и другими вариабельными клиническими признаками, включая аутоиммунитет и СД 2-го типа. R. Cannarella и соавт. (2021) предполагают, что в зародышевых клетках у мужчин с синдромом Клайнфельтера может происходить аналогичное подавление экспрессии SOX13, которое приводит к апоптозу клеток и бесплодию, а также к эндокринно-органоспецифическому гуморальному аутоиммунитету, типичному для пациентов с этим синдромом.

Классическая функция белка оболочки Е вируса SARS-CoV-2 заключается в образовании белково-липидных каналов в мембранах промежуточного компартмента ЭПР-Гольджи (ERGIC) и комплекса Гольджи, влияющих на внутриклеточные ионные градиенты, которые облегчают сборку вирусных частиц [78] и высвобождение вириона [79]. Определение В-клеточных эпитопов и областей связывания МНС-I в структуре белка Е позволило выявить множество перекрывающихся антигенных детерминант, покрывающих почти весь небольшой белок [80]. Ещё в начале пандемии COVID-19 учёные обратили внимание на высокое сходство трансмембранной области белка Е с последовательностью LytR-домена туберкулин-подобных белков микобактерий [81] и предположили, что этот феномен может лежать в основе перекрёстного иммунитета против вируса SARS-CoV-2, вызванного туберкулёзной инфекцией [82], или объяснять наблюдаемое защитное действие вакцины БЦЖ [83].

К сожалению, вирусный белок Е, в отличие от S, остаётся за рамками глобальных исследований, и всего несколько работ посвящены анализу связанного с ним кросс-реактивного аутоиммунитета. В работе A. Vojdani

и соавт. (2020) обнаружено взаимодействие антител к белку Е с восьмью аутоантигенами, наиболее сильное – с митохондриальным М2 и антигенами эпителиальных клеток кишечника. Эти данные позволяют предполагать, что перекрёстная реакция между белком Е SARS-CoV-2 и антигенами тканей желудочно-кишечного тракта человека может быть причиной желудочно-кишечных проявлений COVID-19. В работе Z. Karagöz и соавт. (2021), с использованием биоинформационного анализа сходства белковых последовательностей, показана значительная гомология белка Е с шестью поверхностными транспортными белками пигментного эпителия сетчатки (MRP-4, MRP-5, RFC1, SNAT7, TAUT и MATE). Предполагается, что иммунореактивные эпитопные участки этих белков, сходные с эпитопом белка Е, могут вызывать иммунную стимуляцию Т-цитотоксических и Т-хелперных клеток, поэтому также весьма вероятно аутоиммунная перекрёстная реакция.

Учитывая приведённые выше данные, мы позволим себе выдвинуть гипотезу, что участники гуморального или, что более вероятно, клеточного иммунитета в отношении белка Е, активируемые во время инфекции COVID-19, могут распознавать также антигенные детерминанты собственного белка SOX13, приобретая аутоиммунный потенциал. Основанием предполагать именно клеточную природу иммунного ответа является низкая частота детекции анти-Е-антител среди пациентов с COVID-19. Скорее всего, белок Е, несмотря на наличие В-клеточных эпитопов, является слабым модулятором гуморального иммунного ответа по сравнению с белком S. Тем не менее, выявляемые даже у небольшого количества пациентов антитела против белка Е могли бы принимать участие в развитии перекрёстной реактивности.

Дополнительно к этому, предсуществующие у пациентов с СД или репродуктивными нарушениями В-или Т-клетки, реактивные к SOX13, могут получать активирующие стимулы при связывании их поверхностных рецепторов со сходными эпитопами белка Е. Вероятность их активации многократно возрастает в агрессивной среде «цитокинового шторма». Клональная экспансия анти-Е/SOX13 аутореактивных клеток в конечном итоге будет приводить к развёртыванию иммунного ответа против SOX13-экспрессирующих клеток, например, поджелудочной железы и, вероятно, семенников, приводя к нарушению работы данных органов. Таким образом, мы предполагаем, что кросс-реактивный иммунный ответ против белков Е и SOX13 может послужить причиной аутоиммунных постковидных эндокринных/репродуктивных осложнений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Последние данные позволяют обсуждать общие патогенетические механизмы аутоиммунных заболеваний и COVID-19 и предполагать, что SARS-CoV-2 может выступать в качестве пускового фактора для развития быстрой аутоиммунной и/или аутовоспалительной патологии. Инфекция COVID-19 вызывает обширные наруше-

ния со стороны иммунной системы человека и вызывает стойкий гуморальный аутоиммунитет у более чем половины выживших и выздоравливающих пациентов. Часто выявляются антинуклеарные, антифосфолипидные и антицитокиновые антитела, антитела к цитоплазме нейтрофилов, *Saccharomyces cerevisiae*, цитоплазматическим антигенам SS-A(Ro), аутоантитела против NETs и многих других аутоантигенов человека. При этом активировать гуморальный иммунитет способны как структурные белки вируса, так и неструктурные, такие как NSP9.

Молекулярная мимикрия антигенов является одной из главных причин развития аутоиммунных патологий. Известно, что некоторые белки вируса SARS-CoV-2 могут имитировать эпитопы белков организма-хозяина. Мы постулируем о роли структурной гомологии HMG-мотива SOX13 человека, аутоантигена СД, и белка Е оболочки SARS-CoV-2 в механизмах развития постковидных патологий. Мы предполагаем, что структурное сходство их эпитопов может быть связано с перекрёстной иммунологической реактивностью и развитием сахарного диабета и нарушений со стороны репродуктивной системы у мужчин после перенесённого COVID-19.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Montani D, Savale L, Noel N, Meyrignac O, Colle R, Gasnier M, et al. Post-acute COVID-19 syndrom. *Eur Respir Rev.* 2022; 31(163): 210185. doi: 10.1183/16000617.0185-2021
2. Halpin S, O'Connor R, Sivan M. Long COVID and chronic COVID syndromes. *J Med Virol.* 2021; 93(3): 1242-1243. doi: 10.1002/JMV.26587
3. Huang C, Huang L, Wang Y, Li X, Ren L, Gu X, et al. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: A cohort study. *Lancet.* 2021; 397(10270): 220-232. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32656-8
4. Healey Q, Sheikh A, Daines L, Vasileiou E. Symptoms and signs of long COVID: A rapid review and meta-analysis. *J Glob Health.* 2022; 12: 05014. doi: 10.7189/jogh.12.05014
5. Galeeva J, Babenko V, Bakhtyev R, Baklaushev V, Balykova L, Bashkurov P, et al. 16S rRNA gene sequencing data of the upper respiratory tract microbiome in the SARS-CoV-2 infected patients. *Data Brief.* 2022; 40: 107770. doi: 10.1016/j.dib.2021.107770
6. Ahmed H, Patel K, Greenwood DC, Halpin S, Lewthwaite P, Salawu A, et al. Long-term clinical outcomes in survivors of severe acute respiratory syndrome and Middle East respiratory syndrome coronavirus outbreaks after hospitalisation or ICU admission: A systematic review and meta-analysis. *J Rehabil Med.* 2020; 52(5): jrm00063. doi: 10.2340/16501977-2694
7. Jaimes JA, Millet JK, Whittaker GR. Proteolytic cleavage of the SARS-CoV-2 spike protein and the role of the novel S1/S2 site. *iScience.* 2020; 23(6): 101212. doi: 10.1016/j.isci.2020.101212
8. Cai Y, Zhang J, Xiao T, Peng H, Sterling SM, Walsh RM Jr, et al. Distinct conformational states of SARS-CoV-2 spike protein. *Science.* 2020; 369(6511): 1586-1592. doi: 10.1126/science.abd4251

9. Shin D, Mukherjee R, Grewe D, Bojkova D, Baek K, Bhat-tacharya A, et al. Papain-like protease regulates SARS-CoV-2 viral spread and innate immunity. *Nature*. 2020; 587(7835): 657-662. doi: 10.1038/s41586-020-2601-5
10. Konno Y, Kimura I, Uriu K, Fukushi M, Irie T, Koyanagi Y, et al. SARS-CoV-2 ORF3b is a potent interferon antagonist whose activity is increased by a naturally occurring elongation variant. *Cell Rep*. 2020; 32(12): 108185. doi: 10.1016/j.celrep.2020.108185
11. Viswanathan T, Arya S, Chan SH, Qi S, Dai N, Misra A, et al. Structural basis of RNA cap modification by SARS-CoV-2. *Nat. Commun*. 2020; 11(1): 3718. doi: 10.1038/s41467-020-17496-8
12. Kumar A, Prasoon P, Kumari C, Pareek V, Faiq MA, Narayan RK, et al. SARS-CoV-2-specific virulence factors in COVID-19. *J Med Virol*. 2021; 93(3): 1343-1350. doi: 10.1002/jmv.26615
13. Орлова Е.А., Огарков О.Б., Жданова С.Н., Хромова П.А., Синьков В.В., Хаснатинов М.А., и др. Вирусная нагрузка при COVID-19: недооценённый клинический и эпидемиологический маркер. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(1): 33-39. doi: 10.29413/ABS.2021-6.1.5
14. Chippa V, Aleem A, Anjum F. *Post acute coronavirus (COVID-19) syndrome*. StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2022.
15. Liu A, Wang W, Zhao X, Zhou X, Yang D, Lu M, et al. Disappearance of antibodies to SARS-CoV-2 in a -COVID-19 patient after recovery. *Clin Microbiol Infect*. 2020; 26(12): 1703-1705. doi: 10.1016/j.cmi.2020.07.009
16. Новикова Е.А., Петрова А.Г., Москалева Е.В., Ваяркина А.С., Рычкова Л.В. Ретроспектива международных серологических исследований по формированию и динамике гуморального иммунного ответа к SARS-CoV-2: от 2020 к 2021. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 47-57. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.5
17. Xu X, Chang XN, Pan HX, Su H, Huang B, Yang M, et al. Pathological changes of the spleen in ten patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) by postmortem needle autopsy. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*. 2020; 49(6): 576-582. doi: 10.3760/cma.j.cn112151-20200401-00278
18. Kaneko N, Kuo HH, Boucau J, Farmer JR, Allard-Chamard H, Mahajan VS, et al. Loss of Bcl-6-expressing T follicular helper cells and germinal centers in COVID-19. *Cell*. 2020; 183(1): 143-157.e13. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.025
19. Zhang X, Tan Y, Ling Y, Lu G, Liu F, Yi Z, et al. Viral and host factors related to the clinical outcome of COVID-19. *Nature*. 2020; 583(7816): 437-440. doi: 10.1038/s41586-020-2355-0
20. Klann K, Bojkova D, Tascher G, Ciesek S, Münch C, Cinatl J. Growth factor receptor signaling inhibition prevents SARS-CoV-2 replication. *Mol Cell*. 2020; 80(1): 164-174.e4. doi: 10.1016/j.molcel.2020.08.006
21. Bouhaddou M, Memon D, Meyer B, White KM, Rezelj VV, Correa Marrero M, et al. The global phosphorylation landscape of SARS-CoV-2 infection. *Cell*. 2020; 182(3): 685-712.e19. doi: 10.1016/j.cell.2020.06.034
22. Tomer Y, Davies TF. Infection, thyroid disease, and autoimmunity. *Endocr Rev*. 1993; 14(1): 107-120. doi: 10.1210/edrv-14-1-107
23. Desailoud R, Hober D. Viruses and thyroiditis: An update. *Virol J*. 2009; 6: 5. doi: 10.1186/1743-422X-6-5
24. Gelfand JM. Autoimmune encephalitis after herpes simplex encephalitis: insights into pathogenesis. *Lancet Neurol*. 2018; 17(9): 733-735. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30279-5
25. Whiteside SK, Snook JP, Williams MA, Weis JJ. Bystander T. Cells: A balancing act of friends and foes. *Trends Immunol*. 2018; 39(12): 1021-1035. doi: 10.1016/j.it.2018.10.003
26. Lee HG, Cho MZ, Choi JM. Bystander CD4⁺ T cells: Crossroads between innate and adaptive immunity. *Exp Mol Med*. 2020; 52(8): 1255-1263. doi: 10.1038/s12276-020-00486-7
27. Shim CH, Cho S, Shin YM, Choi JM. Emerging role of bystander T cell activation in autoimmune diseases. *BMB Rep*. 2022; 55(2): 57-64. doi: 10.5483/BMBRep.2022.55.2.183
28. Kotlarz A, Tuka J S, Krzewski K, Brycka E, Lipinska B. Human Hsp40 proteins, DNAJA1 and DNAJA2, as potential targets of the immune response triggered by bacterial DnaJ in rheumatoid arthritis. *Cell Stress Chaperones*. 2013; 18(5): 653-659. doi: 10.1007/s12192-013-0407-1
29. Kayser MS, Dalmau J. Anti-NMDA receptor encephalitis, autoimmunity, and psychosis. *Schizophr Res*. 2016; 176(1): 36-40. doi: 10.1016/j.schres.2014.10.007
30. An H, Eun M, Yi J, Park J. CRESSP: A comprehensive pipeline for prediction of immunopathogenic SARS-CoV-2 epitopes using structural properties of proteins. *Brief Bioinform*. 2022; 23(2): bbac056. doi: 10.1093/bib/bbac056
31. Chang SE, Feng A, Meng W, Apostolidis SA, Mack E, Artandi M, et al. New-onset IgG autoantibodies in hospitalized patients with COVID-19. *Nat Commun*. 2021; 12(1): 5417. doi: 10.1038/s41467-021-25509-3
32. Zhou Y, Han T, Chen J, Hou C, Hua L, He S, et al. Clinical and autoimmune characteristics of severe and critical cases of COVID-19. *Clin Transl Sci*. 2020; 13(6): 1077-1086. doi: 10.1111/cts.12805
33. Reichlin M. Autoantibodies to the RoRNP particles. *Clin Exp Immunol*. 1995; 99(1): 7-9. doi: 10.1111/j.1365-2249.1995.tb03464.x
34. Irure-Ventura J, López-Hoyos M. The past, present, and future in antinuclear antibodies (ANA). *Diagnostics (Basel)*. 2022; 12(3): 647. doi: 10.3390/diagnostics12030647
35. Zhang Y, Xiao M, Zhang S, Xia P, Cao W, Jiang W, et al. Coagulopathy and antiphospholipid antibodies in patients with Covid-19. *N Engl J Med*. 2020; 382(17): e38. doi: 10.1056/NEJMc2007575
36. Taha M, Samavati L. Antiphospholipid antibodies in COVID-19: A meta-analysis and systematic review. *RMD Open*. 2021; 7(2): e001580. doi: 10.1136/rmdopen-2021-001580
37. Li W, Huang H, Cai M, Yuan T, Sheng Y. Antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis update: Genetic pathogenesis. *Front Immunol*. 2021; 12: 624848. doi: 10.3389/fimmu.2021.624848
38. Quinton JF, Sendid B, Reumaux D, Duthilleul P, Cortot A, Grandbastien B, et al. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: Prevalence and diagnostic role. *Gut*. 1998; 42(6): 788-791. doi: 10.1136/gut.42.6.788
39. Bonometti R, Sacchi MC, Stobbione P, Lauritano EC, Tamiasso S, Marchegiani A, et al. The first case of systemic lupus erythematosus (SLE) triggered by COVID-19 infection. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020; 24(18): 9695-9697. doi: 10.26355/eur-rev_202009_23060
40. Jenks SA, Cashman KS, Zumaquero E, Marigorta UM, Patel AV, Wang X, et al. Distinct effector B cells induced by unregulated Toll-like receptor 7 contribute to pathogenic responses in systemic lupus erythematosus. *Immunity*. 2020; 52(1): 203. doi: 10.1016/j.immuni.2019.12.005

41. Al-Kuraishy HM, Al-Gareeb AI, Al-Hussaniy HA, Al-Harcen NAH, Alexiou A, Batiha GE. Neutrophil Extracellular Traps (NETs) and Covid-19: A new frontiers for therapeutic modality. *Int Immunopharmacol*. 2022; 104: 108516. doi: 10.1016/j.intimp.2021.108516
42. Zuo Y, Yalavarthi S, Navaz SA, Hoy CK, Harbaugh A, Gockman K, et al. Autoantibodies stabilize neutrophil extracellular traps in COVID-19. *JCI Insight*. 2021; 6(15): e150111. doi: 10.1172/jci.insight.150111
43. Москалева Е.В., Петрова А.Г., Рычкова Л.В., Новикова Е.А., Ваняркина А.С. Состояние показателей иммунного статуса у детей после перенесённой новой коронавирусной инфекции. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 58-62. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.6
44. Zuo Y, Yalavarthi S, Shi H, Gockman K, Zuo M, Madison JA, et al. Neutrophil extracellular traps in COVID-19. *JCI Insight*. 2020; 5(11): e138999. doi: 10.1172/jci.insight.138999
45. Hadjad J, Yatim N, Barnabei L, Corneau A, Boussier J, Smith N, et al. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science*. 2020; 369(6504): 718-724. doi: 10.1126/science.abc6027
46. Fan C, Lu W, Li K, Ding Y, Wang J. ACE2 expression in kidney and testis may cause kidney and testis infection in COVID-19 patients. *Front Med (Lausanne)*. 2021; 7: 563893. doi: 10.3389/fmed.2020.563893
47. Qi J, Zhou Y, Hua J, Zhang L, Bian J, Liu B, et al. The scRNA-seq expression profiling of the receptor ACE2 and the cellular protease TMPRSS2 reveals human organs susceptible to SARS-CoV-2 infection. *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 18(1): 284. doi: 10.3390/ijerph18010284
48. Adamyan L, Elagin V, Vechorko V, Stepanian A, Dashko A, Doroshenko D, et al. A review of recent studies on the effects of SARS-CoV-2 infection and SARS-CoV-2 vaccines on male reproductive health. *Med Sci Monit*. 2022; 28: e935879. doi: 10.12659/MSM.935879
49. Kaur G, Thompson LA, Dufour JM. Sertoli cells-immunological sentinels of spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol*. 2014; 30: 36-44. doi: 10.1016/j.semcdb.2014.02.011
50. Huang C, Ji X, Zhou W, Huang Z, Peng X, Fan L, et al. Coronavirus: A possible cause of reduced male fertility. *Andrology*. 2021; 9(1): 80-87. doi: 10.1111/andr.12907
51. Zhang H, Yin Y, Wang G, Liu Z, Liu L, Sun F. Interleukin-6 disrupts blood-testis barrier through inhibiting protein degradation or activating phosphorylated ERK in Sertoli cells. *Sci Rep*. 2014; 4: 4260. doi: 10.1038/srep04260
52. Pan F, Xiao X, Guo J, Song Y, Li H, Patel DP, et al. No evidence of severe acute respiratory syndrome-coronavirus 2 in semen of males recovering from coronavirus disease 2019. *Fertil Steril*. 2020; 113(6): 1135-1139. doi: 10.1016/j.fertnstert.2020.04.024
53. Holtmann N, Edimiris P, Andree M, Doehmen C, Baston-Buest D, Adams O, et al. Assessment of SARS-CoV-2 in human semen – a cohort study. *Fertil Steril*. 2020; 114(2): 233-238. doi: 10.1016/j.fertnstert.2020.05.028
54. Курашова Н.А., Дашиев Б.Г., Колесников С.И., Дмитренко П.С., Козловская Э.П., Касьянов С.П., и др. Изменения сперматогенеза и процессов липопероксидации и антиоксидантной защиты у мужчин с патозооспермией, перенёсших Covid-19. Эффективность коррекции перспективным антиоксидантным комплексом. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2022; 173(5): 572-577. doi: 10.47056/0365-9615-2022-173-5-572-577
55. Abobaker A, Raba AA. Does COVID-19 affect male fertility? *World J Urol*. 2021; 39(3): 975-976. doi: 10.1007/s00345-020-03208-w
56. Tariq J, Chatterjee T, Andreoli L, Gupta L. COVID-19 and fertility – at the crossroads of autoimmunity and thrombosis. *Rheumatol Int*. 2021; 41(11): 1885-1894. doi: 10.1007/s00296-021-04977-2
57. Kurashova NA, Dashiev BG, Kolesnikova LI. Glutathione-dependent mechanisms of antioxidant defense in men with pathozoospermia after COVID-19 infection. *Int J Biomed*. 2021; 11(4): 543-545.
58. Shen Q, Xiao X, Aierken A, Yue W, Wu X, Liao M, et al. The ACE2 expression in Sertoli cells and germ cells may cause male reproductive disorder after SARS-CoV-2 infection. *J Cell Mol Med*. 2020; 24(16): 9472-9477. doi: 10.1111/jcmm.15541
59. Maresch CC, Stute DC, Alves MG, Oliveira PF, de Kretser DM, Linn T. Diabetes-induced hyperglycemia impairs male reproductive function: A systematic review. *Hum Reprod Update*. 2018; 24(1): 86-105. doi: 10.1093/humupd/dmx033
60. Jiang Q, Linn T, Drlica K, Shi L. Diabetes as a potential compounding factor in COVID-19-mediated male subfertility. *Cell Biosci*. 2022; 12(1): 35. doi: 10.1186/s13578-022-00766-x
61. Sathish T, Kapoor N, Cao Y, Tapp RJ, Zimmet P. Proportion of newly diagnosed diabetes in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Obes Metab*. 2021; 23(3): 870-874. doi: 10.1111/dom.14269
62. Barrett CE, Koyama AK, Alvarez P, Chow W, Lundeen EA, Perrine CG, et al. Risk for newly diagnosed diabetes > 30 days after SARS-CoV-2 infection among persons aged < 18 years – United States, March 1, 2020 – June 28, 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2022; 71(2): 59-65. doi: 10.15585/mmwr.mm7102e2
63. Al-Aly Z, Xie Y, Bowe B. High-dimensional characterization of post-acute sequelae of COVID-19. *Nature*. 2021; 594(7862): 259-264. doi: 10.1038/s41586-021-03553-9
64. Yoon JW, Ihm SH, Kim KW. Viruses as a triggering factor of type 1 diabetes and genetic markers related to the susceptibility to the virus-associated diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 1989; 7 Suppl 1: S47-S58. doi: 10.1016/0168-8227(89)90088-0
65. Ashfaq UA, Khalid H. Mechanism of hepatitis C virus-induced diabetes mellitus. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2017; 27(4): 363-371. doi: 10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2017020437
66. Yang JK, Lin SS, Ji XJ, Guo LM. Binding of SARS coronavirus to its receptor damages islets and causes acute diabetes. *Acta Diabetol*. 2010; 47(3): 193-199. doi: 10.1007/s00592-009-0109-4
67. Li J, Wang X, Chen J, Zuo X, Zhang H, Deng A. COVID-19 infection may cause ketosis and ketoacidosis. *Diabetes Obes Metab*. 2020; 22(10): 1935-1941. doi: 10.1111/dom.14057
68. Forcados GE, Muhammad A, Oladipo OO, Makama S, Meseko CA. Metabolic implications of oxidative stress and inflammatory process in SARS-CoV-2 pathogenesis: Therapeutic potential of natural antioxidants. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021; 11: 654813. doi: 10.3389/fcimb.2021.654813
69. Рычкова Л.В., Даренская М.А., Семёнова Н.В., Колесников С.И., Петрова А.Г., Никитина О.А., и др. Состояние антиоксидантного статуса у детей и подростков с COVID-19.

Acta biomedica scientifica. 2021; 6(6-2): 29-36. doi: 10.29413/ABS.2021-6.6-2.4

70. Rychkova LV, Darenskaya MA, Semenova NV, Kolesnikov SI, Petrova AG, Nikitina OA, et al. Oxidative stress intensity in children and adolescents with a new coronavirus infection. *Int J Biomed*. 2022; 12(2): 242-246. doi: 10.21103/Article12(2)_OA7

71. Damani-Yokota P, Zhang F, Gillespie A, Park H, Burnside A, Telfer JC, et al. Transcriptional programming and gene regulation in WC1⁺ $\gamma\delta$ T cell subpopulations. *Mol Immunol*. 2022; 142: 50-62. doi: 10.1016/j.molimm.2021.12.016

72. Rampoldi F, Ullrich L, Prinz I. Revisiting the interaction of $\gamma\delta$ T-cells and B-cells. *Cells*. 2020; 9(3): 743. doi: 10.3390/cells9030743

73. Feng M, Fang F, Fang T, Jiao H, You S, Wang X, et al. Sox13 promotes hepatocellular carcinoma metastasis by transcriptionally activating Twist1. *Lab Invest*. 2020; 100(11): 1400-1410. doi: 10.1038/s41374-020-0445-0

74. Daigle M, Roumaud P, Martin LJ. Expressions of Sox9, Sox5, and Sox13 transcription factors in mice testis during postnatal development. *Mol Cell Biochem*. 2015; 407(1-2): 209-221. doi: 10.1007/s11010-015-2470-7

75. Kasimiotis H, Myers MA, Argentaro A, Mertin S, Fida S, Ferraro T, et al. Sex-determining region Y-related protein SOX13 is a diabetes autoantigen expressed in pancreatic islets. *Diabetes*. 2000; 49(4): 555-561. doi: 10.2337/diabetes.49.4.555

76. Davis TM, Mehta Z, Mackay IR, Cull CA, Bruce DG, Fida S, et al. Autoantibodies to the islet cell antigen SOX-13 are associated with duration but not type of diabetes. *Diabet Med*. 2003; 20(3): 198-204. doi: 10.1046/j.1464-5491.2003.00897.x

77. Fida S, Myers MA, Whittingham S, Rowley MJ, Ozaki S, Mackay IR. Autoantibodies to the transcriptional factor SOX13 in primary biliary cirrhosis compared with other diseases. *J Autoimmun*. 2002; 19(4): 251-257. doi: 10.1006/jaut.2002.0622

78. Li X, Zai J, Wang X, Li Y. Potential of large "first generation" human-to-human transmission of 2019-nCoV. *J Med Virol*. 2020; 92(4): 448-454. doi: 10.1002/jmv.25693

79. Lim KP, Liu DX. The missing link in coronavirus assembly. Retention of the avian coronavirus infectious bronchitis virus envelope protein in the pre-Golgi compartments and physical interaction between the envelope and membrane proteins. *J Biol Chem*. 2001; 276(20): 17515-17523. doi: 10.1074/jbc.M009731200

80. Thomas S. Towards determining the epitopes of the structural proteins of SARS-CoV-2. *Methods Mol Biol*. 2022; 2410: 265-272. doi: 10.1007/978-1-0716-1884-4_12

81. Nuovo G, Tili E, Suster D, Matys E, Hupp L, Magro C. Strong homology between SARS-CoV-2 envelope protein and a *Mycobacterium* sp. antigen allows rapid diagnosis of Mycobacterial infections and may provide specific anti-SARS-CoV-2 immunity via the BCG vaccine. *Ann Diagn Pathol*. 2020; 48: 151600. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2020.151600

82. Madan M, Pahuja S, Mohan A, Pandey RM, Madan K, Hadda V, et al. TB infection and BCG vaccination: Are we protected from COVID-19? *Public Health*. 2020; 185: 91-92. doi: 10.1016/j.puhe.2020.05.042.80

83. Netea MG, Giamarellos-Bourboulis EJ, Domínguez-Andrés J, Curtis N, van Crevel R, van de Veerdonk FL, et al. Trained immunity: A tool for reducing susceptibility to and the severity of SARS-CoV-2 infection. *Cell*. 2020; 181(5): 969-977. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.042

REFERENCES

1. Montani D, Savale L, Noel N, Meyrignac O, Colle R, Gasnier M, et al. Post-acute COVID-19 syndrom. *Eur Respir Rev*. 2022; 31(163): 210185. doi: 10.1183/16000617.0185-2021

2. Halpin S, O'Connor R, Sivan M. Long COVID and chronic COVID syndromes. *J Med Virol*. 2021; 93(3): 1242-1243. doi: 10.1002/JMV.26587

3. Huang C, Huang L, Wang Y, Li X, Ren L, Gu X, et al. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: A cohort study. *Lancet*. 2021; 397(10270): 220-232. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32656-8

4. Healey Q, Sheikh A, Daines L, Vasileiou E. Symptoms and signs of long COVID: A rapid review and meta-analysis. *J Glob Health*. 2022; 12: 05014. doi: 10.7189/jogh.12.05014

5. Galeeva J, Babenko V, Bakhtyev R, Baklaushev V, Balykova L, Bashkurov P, et al. 16S rRNA gene sequencing data of the upper respiratory tract microbiome in the SARS-CoV-2 infected patients. *Data Brief*. 2022; 40: 107770. doi: 10.1016/j.dib.2021.107770

6. Ahmed H, Patel K, Greenwood DC, Halpin S, Lewthwaite P, Salawu A, et al. Long-term clinical outcomes in survivors of severe acute respiratory syndrome and Middle East respiratory syndrome coronavirus outbreaks after hospitalisation or ICU admission: A systematic review and meta-analysis. *J Rehabil Med*. 2020; 52(5): jrm00063. doi: 10.2340/16501977-2694

7. Jaimes JA, Millet JK, Whittaker GR. Proteolytic cleavage of the SARS-CoV-2 spike protein and the role of the novel S1/S2 site. *iScience*. 2020; 23(6): 101212. doi: 10.1016/j.isci.2020.101212

8. Cai Y, Zhang J, Xiao T, Peng H, Sterling SM, Walsh RM Jr, et al. Distinct conformational states of SARS-CoV-2 spike protein. *Science*. 2020; 369(6511): 1586-1592. doi: 10.1126/science.abd4251

9. Shin D, Mukherjee R, Grewe D, Bojkova D, Baek K, Bhat-tacharya A, et al. Papain-like protease regulates SARS-CoV-2 viral spread and innate immunity. *Nature*. 2020; 587(7835): 657-662. doi: 10.1038/s41586-020-2601-5

10. Konno Y, Kimura I, Uriu K, Fukushi M, Irie T, Koyanagi Y, et al. SARS-CoV-2 ORF3b is a potent interferon antagonist whose activity is increased by a naturally occurring elongation variant. *Cell Rep*. 2020; 32(12): 108185. doi: 10.1016/j.celrep.2020.108185

11. Viswanathan T, Arya S, Chan SH, Qi S, Dai N, Misra A, et al. Structural basis of RNA cap modification by SARS-CoV-2. *Nat. Commun*. 2020; 11(1): 3718. doi: 10.1038/s41467-020-17496-8

12. Kumar A, Prasoon P, Kumari C, Pareek V, Faiq MA, Narayan RK, et al. SARS-CoV-2-specific virulence factors in COVID-19. *J Med Virol*. 2021; 93(3): 1343-1350. doi: 10.1002/jmv.26615

13. Orlova EA, Ogarkov OB, Zhdanova SN, Khromova PA, Sinkov VV, Khasnatinov MA, et al. Viral load in COVID-19: Underestimated clinical and epidemiological marker. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(1): 33-39. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2021-6.1.5

14. Chippa V, Aleem A, Anjum F. *Post acute coronavirus (COVID-19) syndrome*. StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2022.

15. Liu A, Wang W, Zhao X, Zhou X, Yang D, Lu M, et al. Disappearance of antibodies to SARS-CoV-2 in a -COVID-19 patient after recovery. *Clin Microbiol Infect*. 2020; 26(12): 1703-1705. doi: 10.1016/j.cmi.2020.07.009

16. Novikova EA, Petrova AG, Moskaleva EV, Vanyarkina AS, Rychkova LV. Retrospective of international serological studies on the formation and dynamics of the humoral immune response

- to SARS-CoV-2: From 2020 to 2021. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 47-57. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.5
17. Xu X, Chang XN, Pan HX, Su H, Huang B, Yang M, et al. Pathological changes of the spleen in ten patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) by postmortem needle autopsy. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*. 2020; 49(6): 576-582. doi: 10.3760/cma.j.cn112151-20200401-00278
18. Kaneko N, Kuo HH, Boucau J, Farmer JR, Allard-Chamard H, Mahajan VS, et al. Loss of Bcl-6-expressing T follicular helper cells and germinal centers in COVID-19. *Cell*. 2020; 183(1): 143-157.e13. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.025
19. Zhang X, Tan Y, Ling Y, Lu G, Liu F, Yi Z, et al. Viral and host factors related to the clinical outcome of COVID-19. *Nature*. 2020; 583(7816): 437-440. doi: 10.1038/s41586-020-2355-0
20. Klann K, Bojkova D, Tascher G, Ciesek S, Münch C, Cinatl J. Growth factor receptor signaling inhibition prevents SARS-CoV-2 replication. *Mol Cell*. 2020; 80(1): 164-174.e4. doi: 10.1016/j.molcel.2020.08.006
21. Bouhaddou M, Memon D, Meyer B, White KM, Rezelj VV, Correa Marrero M, et al. The global phosphorylation landscape of SARS-CoV-2 infection. *Cell*. 2020; 182(3): 685-712.e19. doi: 10.1016/j.cell.2020.06.034
22. Tomer Y, Davies TF. Infection, thyroid disease, and autoimmunity. *Endocr Rev*. 1993; 14(1): 107-120. doi: 10.1210/edrv-14-1-107
23. Desaillood R, Hober D. Viruses and thyroiditis: An update. *Virology*. 2009; 6: 5. doi: 10.1186/1743-422X-6-5
24. Gelfand JM. Autoimmune encephalitis after herpes simplex encephalitis: insights into pathogenesis. *Lancet Neurol*. 2018; 17(9): 733-735. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30279-5
25. Whiteside SK, Snook JP, Williams MA, Weis JJ, Bystander T. Cells: A balancing act of friends and foes. *Trends Immunol*. 2018; 39(12): 1021-1035. doi: 10.1016/j.it.2018.10.003
26. Lee HG, Cho MZ, Choi JM. Bystander CD4⁺ T cells: Crossroads between innate and adaptive immunity. *Exp Mol Med*. 2020; 52(8): 1255-1263. doi: 10.1038/s12276-020-00486-7
27. Shim CH, Cho S, Shin YM, Choi JM. Emerging role of bystander T cell activation in autoimmune diseases. *BMB Rep*. 2022; 55(2): 57-64. doi: 10.5483/BMBRep.2022.55.2.183
28. Kotlarz A, Tuka J S, Krzewski K, Brycka E, Lipinska B. Human Hsp40 proteins, DNAJA1 and DNAJA2, as potential targets of the immune response triggered by bacterial DnaJ in rheumatoid arthritis. *Cell Stress Chaperones*. 2013; 18(5): 653-659. doi: 10.1007/s12192-013-0407-1
29. Kayser MS, Dalmau J. Anti-NMDA receptor encephalitis, autoimmunity, and psychosis. *Schizophr Res*. 2016; 176(1): 36-40. doi: 10.1016/j.schres.2014.10.007
30. An H, Eun M, Yi J, Park J. CRESSP: A comprehensive pipeline for prediction of immunopathogenic SARS-CoV-2 epitopes using structural properties of proteins. *Brief Bioinform*. 2022; 23(2): bbac056. doi: 10.1093/bib/bbac056
31. Chang SE, Feng A, Meng W, Apostolidis SA, Mack E, Artandi M, et al. New-onset IgG autoantibodies in hospitalized patients with COVID-19. *Nat Commun*. 2021; 12(1): 5417. doi: 10.1038/s41467-021-25509-3
32. Zhou Y, Han T, Chen J, Hou C, Hua L, He S, et al. Clinical and autoimmune characteristics of severe and critical cases of COVID-19. *Clin Transl Sci*. 2020; 13(6): 1077-1086. doi: 10.1111/cts.12805
33. Reichlin M. Autoantibodies to the RoRNP particles. *Clin Exp Immunol*. 1995; 99(1): 7-9. doi: 10.1111/j.1365-2249.1995.tb03464.x
34. Irure-Ventura J, López-Hoyos M. The past, present, and future in antinuclear antibodies (ANA). *Diagnostics (Basel)*. 2022; 12(3): 647. doi: 10.3390/diagnostics12030647
35. Zhang Y, Xiao M, Zhang S, Xia P, Cao W, Jiang W, et al. Coagulopathy and antiphospholipid antibodies in patients with Covid-19. *N Engl J Med*. 2020; 382(17): e38. doi: 10.1056/NEJMc2007575
36. Taha M, Samavati L. Antiphospholipid antibodies in COVID-19: A meta-analysis and systematic review. *RMD Open*. 2021; 7(2): e001580. doi: 10.1136/rmdopen-2021-001580
37. Li W, Huang H, Cai M, Yuan T, Sheng Y. Antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis update: Genetic pathogenesis. *Front Immunol*. 2021; 12: 624848. doi: 10.3389/fimmu.2021.624848
38. Quinton JF, Sendid B, Reumaux D, Duthilleul P, Cortot A, Grandbastien B, et al. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: Prevalence and diagnostic role. *Gut*. 1998; 42(6): 788-791. doi: 10.1136/gut.42.6.788
39. Bonometti R, Sacchi MC, Stobbione P, Lauritano EC, Tamiazzo S, Marchegiani A, et al. The first case of systemic lupus erythematosus (SLE) triggered by COVID-19 infection. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020; 24(18): 9695-9697. doi: 10.26355/eur-rev_202009_23060
40. Jenks SA, Cashman KS, Zumaquero E, Marigorta UM, Patel AV, Wang X, et al. Distinct effector B cells induced by unregulated Toll-like receptor 7 contribute to pathogenic responses in systemic lupus erythematosus. *Immunity*. 2020; 52(1): 203. doi: 10.1016/j.immuni.2019.12.005
41. Al-Kuraishy HM, Al-Gareeb AI, Al-Hussaniy HA, Al-Harcen NAH, Alexiou A, Batiha GE. Neutrophil Extracellular Traps (NETs) and Covid-19: A new frontiers for therapeutic modality. *Int Immunopharmacol*. 2022; 104: 108516. doi: 10.1016/j.intimp.2021.108516
42. Zuo Y, Yalavarthi S, Navaz SA, Hoy CK, Harbaugh A, Gockman K, et al. Autoantibodies stabilize neutrophil extracellular traps in COVID-19. *JCI Insight*. 2021; 6(15): e150111. doi: 10.1172/jci.insight.150111
43. Moskaleva EV, Petrova AG, Rychkova LV, Novikova EA, Vanyarkina AS. Indicators of the immune status in children after a new coronavirus infection. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 58-62. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.6
44. Zuo Y, Yalavarthi S, Shi H, Gockman K, Zuo M, Madison JA, et al. Neutrophil extracellular traps in COVID-19. *JCI Insight*. 2020; 5(11): e138999. doi: 10.1172/jci.insight.138999
45. Hadjadj J, Yatim N, Barnabei L, Corneau A, Boussier J, Smith N, et al. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science*. 2020; 369(6504): 718-724. doi: 10.1126/science.abc6027
46. Fan C, Lu W, Li K, Ding Y, Wang J. ACE2 expression in kidney and testis may cause kidney and testis infection in COVID-19 patients. *Front Med (Lausanne)*. 2021; 7: 563893. doi: 10.3389/fmed.2020.563893
47. Qi J, Zhou Y, Hua J, Zhang L, Bian J, Liu B, et al. The scRNA-seq expression profiling of the receptor ACE2 and the cellular protease TMPRSS2 reveals human organs susceptible to SARS-CoV-2 infection. *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 18(1): 284. doi: 10.3390/ijerph18010284

48. Adamyan L, Elagin V, Vechorko V, Stepanian A, Dashko A, Doroshenko D, et al. A review of recent studies on the effects of SARS-CoV-2 infection and SARS-CoV-2 vaccines on male reproductive health. *Med Sci Monit.* 2022; 28: e935879. doi: 10.12659/MSM.935879
49. Kaur G, Thompson LA, Dufour JM. Sertoli cells-immunological sentinels of spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol.* 2014; 30: 36-44. doi: 10.1016/j.semcdb.2014.02.011
50. Huang C, Ji X, Zhou W, Huang Z, Peng X, Fan L, et al. Coronavirus: A possible cause of reduced male fertility. *Andrology.* 2021; 9(1): 80-87. doi: 10.1111/andr.12907
51. Zhang H, Yin Y, Wang G, Liu Z, Liu L, Sun F. Interleukin-6 disrupts blood-testis barrier through inhibiting protein degradation or activating phosphorylated ERK in Sertoli cells. *Sci Rep.* 2014; 4: 4260. doi: 10.1038/srep04260
52. Pan F, Xiao X, Guo J, Song Y, Li H, Patel DP, et al. No evidence of severe acute respiratory syndrome-coronavirus 2 in semen of males recovering from coronavirus disease 2019. *Fertil Steril.* 2020; 113(6): 1135-1139. doi: 10.1016/j.fertnstert.2020.04.024
53. Holtmann N, Edimiris P, Andree M, Doehmen C, Baston-Buest D, Adams O, et al. Assessment of SARS-CoV-2 in human semen – a cohort study. *Fertil Steril.* 2020; 114(2): 233-238. doi: 10.1016/j.fertnstert.2020.05.028
54. Kurashova NA, Dashiev BG, Kolesnikov SI, Dmitrenok PS, Kozlovskaya EP, Kasyanov SP, et al. Changes in spermatogenesis, lipoperoxidation processes and antioxidant protection in men with pathozoospermia after COVID-19 infection. The effectiveness of correction with a promising antioxidant complex. *Bull Exp Biol Med.* 2022; 173(5): 572-577. (In Russ.). doi: 10.47056/0365-9615-2022-173-5-572-577
55. Abobaker A, Raba AA. Does COVID-19 affect male fertility? *World J Urol.* 2021; 39(3): 975-976. doi: 10.1007/s00345-020-03208-w
56. Tariq J, Chatterjee T, Andreoli L, Gupta L. COVID-19 and fertility – at the crossroads of autoimmunity and thrombosis. *Rheumatol Int.* 2021; 41(11): 1885-1894. doi: 10.1007/s00296-021-04977-2
57. Kurashova NA, Dashiev BG, Kolesnikova LI. Glutathione-dependent mechanisms of antioxidant defense in men with pathozoospermia after COVID-19 infection. *Int J Biomed.* 2021; 11(4): 543-545.
58. Shen Q, Xiao X, Aierken A, Yue W, Wu X, Liao M, et al. The ACE2 expression in Sertoli cells and germ cells may cause male reproductive disorder after SARS-CoV-2 infection. *J Cell Mol Med.* 2020; 24(16): 9472-9477. doi: 10.1111/jcmm.15541
59. Maresch CC, Stute DC, Alves MG, Oliveira PF, de Kretser DM, Linn T. Diabetes-induced hyperglycemia impairs male reproductive function: A systematic review. *Hum Reprod Update.* 2018; 24(1): 86-105. doi: 10.1093/humupd/dmx033
60. Jiang Q, Linn T, Drlica K, Shi L. Diabetes as a potential compounding factor in COVID-19-mediated male subfertility. *Cell Biosci.* 2022; 12(1): 35. doi: 10.1186/s13578-022-00766-x
61. Sathish T, Kapoor N, Cao Y, Tapp RJ, Zimmet P. Proportion of newly diagnosed diabetes in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Obes Metab.* 2021; 23(3): 870-874. doi: 10.1111/dom.14269
62. Barrett CE, Koyama AK, Alvarez P, Chow W, Lundeen EA, Perrine CG, et al. Risk for newly diagnosed diabetes > 30 days after SARS-CoV-2 infection among persons aged < 18 years – United States, March 1, 2020 – June 28, 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2022; 71(2): 59-65. doi: 10.15585/mmwr.mm7102e2
63. Al-Aly Z, Xie Y, Bowe B. High-dimensional characterization of post-acute sequelae of COVID-19. *Nature.* 2021; 594(7862): 259-264. doi: 10.1038/s41586-021-03553-9
64. Yoon JW, Ihm SH, Kim KW. Viruses as a triggering factor of type 1 diabetes and genetic markers related to the susceptibility to the virus-associated diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 1989; 7 Suppl 1: S47-S58. doi: 10.1016/0168-8227(89)90088-0
65. Ashfaq UA, Khalid H. Mechanism of hepatitis C virus-induced diabetes mellitus. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2017; 27(4): 363-371. doi: 10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2017020437
66. Yang JK, Lin SS, Ji XJ, Guo LM. Binding of SARS coronavirus to its receptor damages islets and causes acute diabetes. *Acta Diabetol.* 2010; 47(3): 193-199. doi: 10.1007/s00592-009-0109-4
67. Li J, Wang X, Chen J, Zuo X, Zhang H, Deng A. COVID-19 infection may cause ketosis and ketoacidosis. *Diabetes Obes Metab.* 2020; 22(10): 1935-1941. doi: 10.1111/dom.14057
68. Forcados GE, Muhammad A, Oladipo OO, Makama S, Meseko CA. Metabolic implications of oxidative stress and inflammatory process in SARS-CoV-2 pathogenesis: Therapeutic potential of natural antioxidants. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021; 11: 654813. doi: 10.3389/fcimb.2021.654813
69. Rychkova LV, Darenskaya MA, Semenova NV, Kolesnikov SI, Petrova AG, Nikitina OA, et al. Antioxidant status in children and adolescents with COVID-19. *Acta biomedica scientifica.* 2021; 6(6-2): 29-36. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2021-6.6-2.4
70. Rychkova LV, Darenskaya MA, Semenova NV, Kolesnikov SI, Petrova AG, Nikitina OA, et al. Oxidative stress intensity in children and adolescents with a new coronavirus infection. *Int J Biomed.* 2022; 12(2): 242-246. doi: 10.21103/Article12(2)_OA7
71. Damani-Yokota P, Zhang F, Gillespie A, Park H, Burnside A, Telfer JC, et al. Transcriptional programming and gene regulation in WC1⁺ $\gamma\delta$ T cell subpopulations. *Mol Immunol.* 2022; 142: 50-62. doi: 10.1016/j.molimm.2021.12.016
72. Rampoldi F, Ullrich L, Prinz I. Revisiting the interaction of $\gamma\delta$ T-cells and B-cells. *Cells.* 2020; 9(3): 743. doi: 10.3390/cells9030743
73. Feng M, Fang F, Fang T, Jiao H, You S, Wang X, et al. Sox13 promotes hepatocellular carcinoma metastasis by transcriptionally activating Twist1. *Lab Invest.* 2020; 100(11): 1400-1410. doi: 10.1038/s41374-020-0445-0
74. Daigle M, Roumaud P, Martin LJ. Expressions of Sox9, Sox5, and Sox13 transcription factors in mice testis during postnatal development. *Mol Cell Biochem.* 2015; 407(1-2): 209-221. doi: 10.1007/s11010-015-2470-7
75. Kasimiotis H, Myers MA, Argentaro A, Mertin S, Fida S, Ferraro T, et al. Sex-determining region Y-related protein SOX13 is a diabetes autoantigen expressed in pancreatic islets. *Diabetes.* 2000; 49(4): 555-561. doi: 10.2337/diabetes.49.4.555
76. Davis TM, Mehta Z, Mackay IR, Cull CA, Bruce DG, Fida S, et al. Autoantibodies to the islet cell antigen SOX-13 are associated with duration but not type of diabetes. *Diabet Med.* 2003; 20(3): 198-204. doi: 10.1046/j.1464-5491.2003.00897.x
77. Fida S, Myers MA, Whittingham S, Rowley MJ, Ozaki S, Mackay IR. Autoantibodies to the transcriptional factor SOX13 in primary biliary cirrhosis compared with other diseases. *J Autoimmun.* 2002; 19(4): 251-257. doi: 10.1006/jaut.2002.0622
78. Li X, Zai J, Wang X, Li Y. Potential of large “first generation” human-to-human transmission of 2019-nCoV. *J Med Virol.* 2020; 92(4): 448-454. doi: 10.1002/jmv.25693

79. Lim KP, Liu DX. The missing link in coronavirus assembly. Retention of the avian coronavirus infectious bronchitis virus envelope protein in the pre-Golgi compartments and physical interaction between the envelope and membrane proteins. *J Biol Chem.* 2001; 276(20): 17515-17523. doi: 10.1074/jbc.M009731200
80. Thomas S. Towards determining the epitopes of the structural proteins of SARS-CoV-2. *Methods Mol Biol.* 2022; 2410: 265-272. doi: 10.1007/978-1-0716-1884-4_12
81. Nuovo G, Tili E, Suster D, Matys E, Hupp L, Magro C. Strong homology between SARS-CoV-2 envelope protein and a *Mycobacterium* sp. antigen allows rapid diagnosis of Mycobacterial infections and may provide specific anti-SARS-CoV-2 immunity via the BCG vaccine. *Ann Diagn Pathol.* 2020; 48: 151600. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2020.151600
82. Madan M, Pahuja S, Mohan A, Pandey RM, Madan K, Hadda V, et al. TB infection and BCG vaccination: Are we protected from COVID-19? *Public Health.* 2020; 185: 91-92. doi: 10.1016/j.puhe.2020.05.042.80
83. Netea MG, Giamarellos-Bourboulis EJ, Domínguez-Andrés J, Curtis N, van Crevel R, van de Veerdonk FL, et al. Trained immunity: A tool for reducing susceptibility to and the severity of SARS-CoV-2 infection. *Cell.* 2020; 181(5): 969-977. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.042

Сведения об авторах

Орлова Елизавета Андреевна – аспирант, младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2169-0242>

Кондратов Илья Геннадьевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: kondratovig@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>

Огарков Олег Борисович – доктор медицинских наук, заведующий отделом эпидемиологии и микробиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: obogarkov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>

Колесникова Любовь Ильинична – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

Information about the authors

Elizaveta A. Orlova – Postgraduate, Junior Research Officer at the Laboratory of Epidemically and Socially Significant Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: elizaveta.a.orlova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2169-0242>

Ilya G. Kondratov – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Epidemically and Socially Significant Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: kondratovig@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2631-4724>

Oleg B. Ogarkov – Dr. Sc. (Med.), Head of the Department of Epidemiology and Microbiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: obogarkov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>

Lyubov I. Kolesnikova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Academician of RAS, Academic Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

ОЦЕНКА ОБЩЕГО СОСТОЯНИЯ И КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ЖЕНЩИН ПОСТРЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА, ПЕРЕНЁСШИХ COVID-19 БЕССИМПТОМНО, И ЧЕРЕЗ 12 МЕСЯЦЕВ ПОСЛЕ СРЕДНЕТЯЖЁЛОЙ ФОРМЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ

РЕЗЮМЕ

Вырупаева Е.В.,
Семёнова Н.В.,
Рычкова Л.В.,
Петрова А.Г.,
Даренская М.А.,
Колесников С.И.,
Самбялова А.Ю.,
Колесникова Л.И.

ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Вырупаева Екатерина Викторовна,
e-mail: goliafm@yandex.ru

Цель исследования. Оценка общего состояния, лабораторных показателей, качества жизни женщин пострепродуктивного возраста после бессимптомного течения COVID-19 и через 12 месяцев после среднетяжёлого течения заболевания.

Материал и методы. Обследованы 47 женщин (45–69 лет), разделённые на три группы: не болевшие COVID-19, не привитые (1-я группа – контроль; $n = 15$); женщины через 12 месяцев после COVID-19, среднетяжёлое течение, сопровождающееся пневмонией (2-я группа; $n = 19$); женщины с наличием в крови IgG, отрицающие какие-либо симптомы COVID-19 (3-я группа; $n = 13$).

Результаты и обсуждение. Проведена оценка общего состояния женщин в пострепродуктивном возрасте. Через 12 месяцев после COVID-19 выявлен более низкий уровень общего билирубина по сравнению с бессимптомной группой ($p = 0,004$). Отмечено повышение тромбинового времени в группах переболевших COVID-19 с симптоматическим ($p = 0,014$) и бессимптомным ($p = 0,025$) течением по сравнению с контролем. У переболевших бессимптомно выявлен более высокий уровень холестерина липопротеинов высокой плотности по сравнению с контролем ($p = 0,016$) и 2-й группой ($p = 0,006$). По сравнению с контролем во 2-й группе ниже баллы по общему состоянию здоровья ($p = 0,006$), жизненной активности ($p = 0,013$), общему физическому благополучию ($p = 0,039$), физическому функционированию ($p = 0,046$); в 3-й группе – выше по ролевому функционированию, обусловленному физическим состоянием ($p = 0,049$). При сравнении 2-й и 3-й групп выявлены более низкие баллы по физическому функционированию ($p = 0,002$), интенсивности боли ($p = 0,034$), ролевому функционированию, обусловленному физическим состоянием ($p = 0,049$), общему состоянию здоровья ($p = 0,003$), жизненной активности ($p = 0,018$), общему физическому благополучию ($p = 0,001$) в группе переболевших среднетяжёлой формой COVID-19.

Заключение. Через 12 месяцев после перенесённого COVID-19 в среднетяжёлой форме отмечаются выраженные ухудшения физического, эмоционального здоровья; у пациенток, переболевших бессимптомно, можно предположить более совершенные защитные функции организма.

Ключевые слова: COVID-19, качество жизни, женщины, пострепродуктивный период

Для цитирования: Вырупаева Е.В., Семёнова Н.В., Рычкова Л.В., Петрова А.Г., Даренская М.А., Колесников С.И., Самбялова А.Ю., Колесникова Л.И. Оценка общего состояния и качества жизни женщин пострепродуктивного возраста, перенёсших COVID-19 бессимптомно, и через 12 месяцев после среднетяжёлой формы заболевания. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 77-85. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.9

Статья поступила: 09.06.2022

Статья принята: 06.09.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

ASSESSMENT OF THE GENERAL CONDITION AND QUALITY OF LIFE OF WOMEN OF POST-REPRODUCTIVE AGE AFTER ASYMPTOMATIC COVID-19 AND 12 MONTHS AFTER MODERATE COVID-19

Vyrupaeva E.V.,
Semenova N.V.,
Rychkova L.V.,
Petrova A.G.,
Darenskaya M.A.,
Kolesnikov S.I.,
Sambyalova A.Yu.,
Kolesnikova L.I.

Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Ekaterina V. Vyrupaeva,
e-mail: goliafm@yandex.ru

ABSTRACT

The aim. To assess the general condition, laboratory parameters, quality of life of women of post-reproductive age after asymptomatic COVID-19 and 12 months after moderate COVID-19.

Material and methods. We examined 47 women (45–69 years old), divided into 3 groups: those who did not have COVID-19, not vaccinated (group 1 – control; $n = 15$); women 12 months after moderate COVID-19, accompanied by pneumonia (group 2; $n = 19$); women with IgG in their blood who deny any symptoms of COVID-19 (group 3; $n = 13$).

Results and discussion. An assessment of the general condition of women in post-reproductive age was carried out. In women 12 months after COVID-19 we found a lower level of total bilirubin compared to the group with asymptomatic COVID-19 ($p = 0.004$). An increase in thrombin time was determined in the groups of patients with symptomatic ($p = 0.014$) and asymptomatic ($p = 0.025$) COVID-19 course compared with the control group. Patients with asymptomatic COVID-19 course had a higher level of high-density lipoprotein cholesterol compared with the control group ($p = 0.016$) and the group 2 ($p = 0.006$). Compared with the control group, the group 2 had lower scores for general health ($p = 0.006$), vital activity ($p = 0.013$), general physical well-being ($p = 0.039$), physical functioning ($p = 0.046$); and the group 3 had higher scores in role functioning due to physical condition ($p = 0.049$). When comparing groups 2 and 3, lower scores in the group of women who recovered from the moderate COVID-19 were found in physical functioning ($p = 0.002$), pain intensity ($p = 0.034$), role functioning due to physical condition ($p = 0.049$), general health ($p = 0.003$), vital activity ($p = 0.018$), general physical well-being ($p = 0.001$).

Conclusion. 12 months after moderate COVID-19, there is a pronounced deterioration in physical and emotional health; and in asymptomatic patients, better protective functions of an organism can be assumed.

Key words: COVID-19, quality of life, women, post-reproductive period

For citation: Vyrupaeva E.V., Semenova N.V., Rychkova L.V., Petrova A.G., Darenskaya M.A., Kolesnikov S.I., Sambyalova A.Yu., Kolesnikova L.I. Assessment of the general condition and quality of life of women of post-reproductive age after asymptomatic COVID-19 and 12 months after moderate COVID-19. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 77-85. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.9

Received: 09.06.2022
Accepted: 06.09.2022
Published: 08.12.2022

ВВЕДЕНИЕ

Пандемия COVID-19, вызванная вирусом SARS-CoV-2, вошла в историю как чрезвычайная ситуация международного значения. Хотя это преимущественно респираторное заболевание, данные свидетельствуют о том, что имеет место полиорганное поражение [1]. Исследования показывают, что особенно уязвимы для поражения головной мозг, сердечно-сосудистая система, желудочно-кишечный тракт и почки [2]. Известно, что с возрастом уязвимость к среднетяжелому и тяжелому течению COVID-19 и последующим осложнениям становится выше [3], при этом у мужчин отмечается более тяжелое течение заболевания [4]; однако с увеличением возраста гендерные различия по течению COVID-19 нивелируются, что может быть связано со снижением уровня эстрогенов у женщин в пострепродуктивном периоде. Кроме того, у женщин в возрасте ≥ 60 лет, получающих заместительную гормональную терапию, вероятность положительного теста на SARS-CoV-2 ниже на 46 % [5], что свидетельствует о возможном влиянии эстрогенов на проникновение вируса SARS-CoV-2.

Довольно часто у переболевших COVID-19 отмечается постковидный синдром, который может возникнуть независимо от тяжести течения заболевания и представляет собой симптомокомплекс, продолжающийся более 12 недель и возникающий волнообразно или на постоянной основе, не имея альтернативного диагноза [6]. Предполагается, что постковидный синдром длится до 6 месяцев, значимо снижая качество жизни, в связи с чем большинство исследований ограничиваются данным временным промежутком [7, 8]. Наравне с этим оценка состояния пациентов после COVID-19 ограничивается симптоматическими жалобами без учёта комплексной оценки качества жизни. В то же время у женщин в пострепродуктивном периоде качество жизни снижено вследствие гормонально-метаболических изменений [9, 10], что может влиять на длительность восстановительного периода после перенесённого COVID-19. Актуальность данного исследования заключается в оценке качества жизни и лабораторных показателей у женщин в пострепродуктивном возрасте в более отдалённом периоде (через 12 месяцев), а также носит комплексный характер, давая возможность своевременно корректировать терапию, получить больше сведений о постковидном синдроме и последствиях после перенесённой инфекции.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка общего состояния, лабораторных показателей и качества жизни женщин пострепродуктивного возраста после бессимптомного течения COVID-19 и через 12 месяцев после среднетяжелого течения заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на базе ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции челове-

ка» (ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ) в соответствии с этическими нормами, принятыми Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (1964 г., последний пересмотр – Форталеа, Бразилия, 2013 г.). Каждая женщина подписала информированное согласие на участие в исследовании, протокол которого был одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (выписка из протокола заседания № 6.1 от 19.06.2020).

В исследовании участвовали 47 женщин в возрасте от 45 до 69 лет, которые были разделены на три группы. В первую группу (контроль) вошли 15 женщин (средний возраст – $57 \pm 6,61$ года; индекс массы тела (ИМТ) – $27,48 \pm 3,39$ кг/м²), не болевшие COVID-19, не привитые, с отсутствием антител к COVID-19 (IgG). Во вторую группу вошли 19 женщин (средний возраст – $58 \pm 6,23$ года; ИМТ – $34,6 \pm 6,67$ кг/м²), перенёвших лабораторно подтверждённый ПЦР-тестом COVID-19 среднетяжелого течения, сопровождающийся пневмонией, и госпитализированных в ОГБУЗ «Иркутская областная инфекционная клиническая больница» за период с июня 2020 по март 2021 г. (срок после перенесённого заболевания – 12 месяцев). При формировании контрольной группы были выявлены женщины ($n = 13$; средний возраст – $54 \pm 7,75$ года; ИМТ – $28,63 \pm 4,96$ кг/м²) с наличием в крови IgG, отрицающие какие-либо симптомы новой коронавирусной инфекции за последние 12 месяцев, что позволило определить их в третью группу – перенесённый COVID-19 в бессимптомной форме. Женщины, принимающие заместительную гормональную терапию, были исключены из исследования. Все участницы исследования были осмотрены терапевтом-кардиологом с расчётом ИМТ, измерением уровня артериального давления, температуры тела, проведением электрокардиограммы. Для исключения на момент исследования наличия COVID-19 проводился соответствующий экспресс-тест (РАПИД БИО, Россия). Для оценки качества жизни проводилось анкетирование по опроснику Short Form-36 (SF-36) [11]. Расчёт сосудистого возраста проводили по шкале SCORE, включающей для расчёта такие факторы, как систолическое артериальное давление, возраст, общий холестерин, курение [12].

Лабораторное обследование включало: общий анализ крови на анализаторе BC-5300 (Mindray, Китай) с использованием реагентов фирмы «Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd» (Китай); биохимический анализ крови на анализаторе BTS-330 (BioSystems, Испания) (щелочная фосфатаза (ЩФ), гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ), мочевины, мочевая кислота, общий белок, альбумин); общий билирубин, аланинаминотрансфераза (АлТ), аспартатаминотрансфераза (АсТ) (Витал, Россия), креатинин (Cormay, Польша); исследование системы гемостаза (протромбиновое время (ПТ), активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ), тромбиновое время (ТВ), международное нормализованное отношение (МНО), фибриноген, Д-димер) на анализаторах Duo Plus, Junior (HumaClot, Германия) с использованием реагентов МБООИ «Общество больных гемофилией» (Россия), ООО ФИРМА «Технология стандарт» (Россия) и «HUMAN Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH» (Герма-

ния); исследование липидного профиля (общий холестерол (ОХС), триацилглицеролы (ТГ), ХСЛПВП, холестерол липопротеидов низкой плотности (ХСЛПНП), холестерол липопротеидов очень низкой плотности (ХСЛПОНП), коэффициент атерогенности (КА)) на анализаторе BTS-330 (BioSystems, Испания) с использованием коммерческих наборов «BioSystems» (Испания) и соответствующим расчётом, согласно рекомендациям В.С. Камышникова (2009) [13], уровня антител к COVID-19 (IgG) на анализаторе Multiscan Go Thermo Scientific (Финляндия) коммерческими наборами «Вектор-Бест» (Россия).

Полученные данные обрабатывали в программе Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Близость к нормальному закону распределения количественных признаков оценивалась визуально-графическим методом, а также критериями согласия Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро – Уилка. Данные по возрасту и ИМТ представлены в виде среднего арифметического $\pm$ стандартное отклонение ($m \pm \sigma$), для параметров лабораторных исследований – в виде медианы и интерквартильного размаха (Me [Q1; Q3]). Анализ межгрупповых различий для независимых выборок проводили с использованием критерия Краскела – Уоллиса (Kruskal – Wallis ANOVA by Ranks) и медианного теста (median test) с последующими апостериорными сравнениями с использованием критерия Манна – Уитни (Mann – Whitney U-Test). Критический уровень значимости принимался за 5 % (0,05).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведённого исследования не установлено каких-либо различий по параметрам общего анализа крови между исследуемыми группами (табл. 1). Кроме того, не выявлено статистически значимых межгрупповых различий по печёночной и ренальной системам, за исключением более низкого уровня общего билирубина во 2-й группе женщин по сравнению с 3-й; а также аналогичная тенденция отмечена по сравнению с контролем. Несколько независимых исследований подтвердили высокую распространённость острого повреждения печени у госпитализированных пациентов с COVID-19 [14, 15]. Полученные в нашем исследовании результаты могут быть объяснены тем, что биохимические показатели оценивались не в острую фазу заболевания, а через 12 месяцев. Снижение уровня общего билирубина во 2-й группе можно расценить как снижение функционирования гепатобилиарной и антиоксидантной систем, поскольку в настоящее время имеется подтверждение как антиоксидантных свойств билирубина [16, 17], так и роли окислительного стресса в патогенезе COVID-19 [18–21].

При сравнительной оценке системы гемостаза выявлено повышение тромбинового времени в группах женщин, переболевших COVID-19 как с симптоматическим, так и с бессимптомным течением, по сравнению с контрольной группой. Необходимо учитывать, что уро-

вень фибриногена в пределах нормы; антикоагулянты на момент исследования пациенты не принимали, так как с профилактической целью после выписки препараты назначали на 3 месяца, других показаний (фибрилляция и трепетание предсердий, тромбоэмболия лёгочной артерии) для приёма антикоагулянтов не было, в связи с чем можно предположить, что в постковидном периоде независимо от течения заболевания имеет место предрасположенность к нарушению свёртывающей системы крови, а именно скорость превращения фибриногена в фибрин, которая является и защитной функцией организма при повреждении сосудистой стенки.

При анализе липидного профиля выявлен статистически значимо более высокий уровень ХСЛПВП в 3-й группе женщин по сравнению с контролем и 2-й группой. Наравне с этим в группе бессимптомно переболевших женщин отмечено более низкое значение КА по сравнению с переболевшими среднетяжёлой формой заболевания. Несмотря на небольшую выборку пациентов, можно предположить, что в группе женщин, переболевших заболеванием бессимптомно, показатели иммунного статуса, эндотелиальной функции выше, чем в контрольной группе и в группе перенёсших COVID-19 с выраженными симптомами, поэтому инфекционный процесс у данной группы женщин протекал бессимптомно или в очень стёртой форме. Возможно, женщины из 3-й группы не имели симптомов, так как у них выявлены лучшие показатели по ХСЛПВП, являющиеся одним из факторов наилучшего функционирования эндотелия. Изначально данный класс липидов рассматривался только как антиатерогенный за счёт транспортировки ХСЛПНП в печёночную систему и их дальнейшего метаболизма, но позднее стало ясно, что ХСЛПВП обладают противовоспалительным и антиоксидантным эффектами, улучшая эндотелиальную функцию или предупреждая повреждение эндотелия [22–24].

При расчёте сосудистого возраста не выявлено статистически значимых различий между группами, однако установлена тенденция к его повышению во 2-й группе женщин ($57,05 \pm 7,04$ года) по сравнению с контролем ($55,13 \pm 7,45$ года) и группой переболевших COVID-19 бессимптомно ($51,84 \pm 10,20$ года). Также установлено, что во всех группах чаще встречался низкий сердечно-сосудистый риск. При этом высокий сердечно-сосудистый риск выявлен только в группе переболевших среднетяжёлым течением COVID-19 в 5,3 % случаев (рис. 1).

Результаты анализа опросника качества жизни в исследуемых группах представлены на рисунке 2. Выявлены различия между контролем и группой женщин, перенёсших COVID-19 12 месяцев назад, с более низкими показателями в группе переболевших по общему состоянию здоровья ($68 \pm 14,4$ и $52,58 \pm 12,9$ балла соответственно; $p = 0,006$), жизненной активности ($69,6 \pm 7,66$ и $58,68 \pm 15,97$ балла соответственно; $p = 0,013$), общему физическому благополучию ($48,6 \pm 6,84$ и $42,22 \pm 9,61$ балла соответственно; $p = 0,039$) и физическому функционированию ($83 \pm 15,09$ и $65,79 \pm 26,57$ балла соответственно; $p = 0,046$). При сравнении показателей контроля с группой женщин, перенёсших COVID-19

ТАБЛИЦА 1

ПАРАМЕТРЫ ОБЩЕГО И БИОХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КРОВИ, СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА, ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ В ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУППАХ, МЕ [Q1; Q3]

TABLE 1

PARAMETERS OF GENERAL AND BIOCHEMICAL BLOOD TESTS, HEMOSTASIS SYSTEM, LIPID PROFILE IN THE STUDY GROUPS, ME [Q1; Q3]

Показатели	Контроль (n = 15)	Пост-COVID-19 (n = 19)	Пост-COVID-19 бессимптомный (n = 13)	Уровень статистической значимости (p_{ij})
	1	2	3	
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	5,68 [5,03; 6,50]	5,73 [4,92; 7,27]	5,39 [4,68; 5,66]	–
Нейтрофилы, $\times 10^9/\text{л}$	3,22 [2,60; 3,64]	3,17 [2,72; 4,57]	2,8 [2,65; 3,61]	–
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,77 [1,41; 2,11]	2,05 [1,74; 2,2]	1,92 [1,43; 2,29]	–
Моноциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,26 [0,23; 0,37]	0,29 [0,26; 0,34]	0,31 [0,28; 0,34]	–
Эозинофилы, $\times 10^9/\text{л}$	0,10 [0,08; 0,13]	0,13 [0,09; 0,19]	0,09 [0,06; 0,12]	–
Базофилы, $\times 10^9/\text{л}$	0,02 [0,01; 0,03]	0,02 [0,02; 0,03]	0,02 [0,02; 0,02]	–
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	4,42 [4,28; 4,56]	4,52 [4,41; 4,78]	4,73 [4,46; 4,81]	–
Гемоглобин, г/л	135,5 [128,5; 144]	137 [129,5; 142]	141,5 [138; 145,5]	–
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	248 [219; 258]	263 [212; 304,5]	278 [226,25; 316]	–
СОЭ, мм/ч	15 [11,25; 22]	15 [9,25; 18]	14,5 [5,5; 17,75]	–
ЩФ, Е/л	83,7 [80,2; 88,4]	81,4 [72,2; 100,3]	93,3 [81,7; 102]	–
АлТ, Е/л	23,25 [19; 31,2]	20,5 [17,9; 26,4]	21,35 [18; 29,5]	–
АсТ, Е/л	28,5 [27,5; 32,6]	31 [26,4; 33,9]	27,1 [24,3; 32,7]	–
ГГТ, Е/л	16 [14; 26]	18,1 [17; 25]	16 [14; 19]	–
Общий билирубин, мкм/л	16,62 [12; 18]	12,75 [10,5; 16]	17 [14,5; 18,5]	$p_{2-3} = 0,004$
Креатинин, мкм/л	88,05 [81,1; 91,7]	88,2 [79,1; 93,2]	87,95 [78,4; 98]	–
Мочевина, мм/л	3,55 [2,8; 4,7]	3,2 [2,9; 4,3]	2,9 [2,6; 3,7]	–
Мочевая кислота, мкм/л	207,1 [183,9; 232,6]	200,9 [168,7; 246]	233,75 [185,2; 263,1]	–
Общий белок, г/л	69,55 [66,9; 73,1]	69,4 [66,3; 77,7]	68,85 [66,9; 70,3]	–
Альбумин, г/л	36,75 [35,8; 42,8]	39,3 [36,4; 41,8]	39 [36,7; 40,7]	–
ПТ, с	16,25 [15,9; 17]	15,6 [14,65; 16,9]	16 [14,97; 16,87]	–
ПТ, % по Квику	83,8 [77,7; 86,8]	89,5 [78,5; 98,4]	85,95 [78,7; 95,27]	–
МНО	1,14 [1,12; 1,21]	1,09 [1,01; 1,2]	1,12 [1,04; 1,2]	–
АПТВ, с	29 [27,1; 30,22]	26,6 [25,55; 29,95]	28,25 [27,75; 29,62]	–
Фибриноген, г/л	4,04 [3,76; 4,36]	3,98 [3,51; 4,43]	3,82 [3,39; 4,02]	–
ТВ, с	16,75 [15,72; 17,67]	19 [16,9; 19,7]	17,85 [17,3; 18,95]	$p_{1-2} = 0,014$ $p_{1-3} = 0,025$
Д-димер, нг/мл	70 [53; 113,25]	87 [53; 130,5]	53 [35,75; 113,25]	–
ОХС, ммоль/л	4,66 [3,9; 5,54]	4,96 [4,71; 5,53]	4,53 [4; 5,36]	–
ТГ, ммоль/л	0,9 [0,72; 1,19]	1,19 [0,84; 1,49]	0,71 [0,54; 1,38]	–
ХСЛПВП, ммоль/л	0,86 [0,81; 1,03]	0,88 [0,76; 1,03]	1,03 [0,97; 1,18]	$p_{1-3} = 0,016$ $p_{2-3} = 0,006$
ХСЛПНП, ммоль/л	3,12 [2,72; 3,8]	3,69 [3,09; 4,12]	2,96 [2,48; 3,66]	–
ХСЛПОНП, ммоль/л	0,41 [0,33; 0,54]	0,54 [0,38; 0,68]	0,32 [0,24; 0,63]	–
КА	4,43 [3,39; 5,28]	5,19 [3,61; 5,81]	3 [2,69; 3,93]	$p_{2-3} = 0,002$

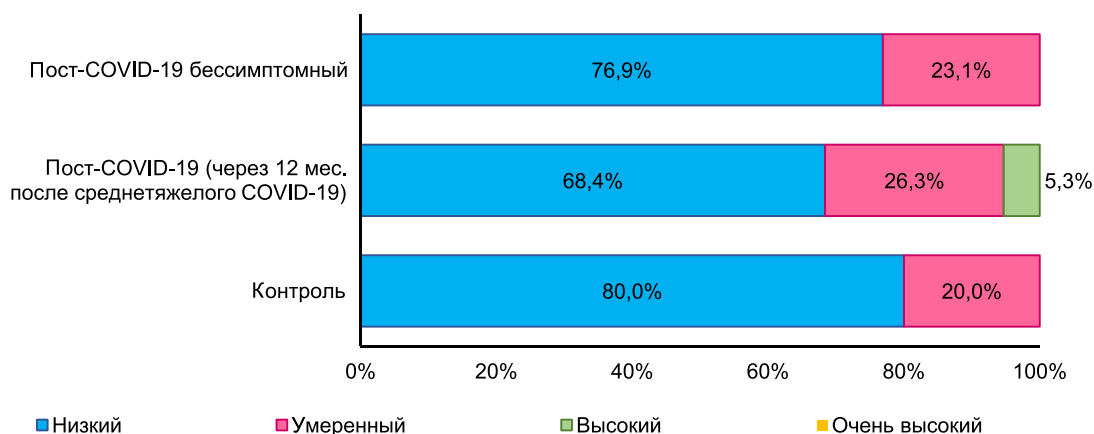


РИС. 1.

Частота встречаемости женщин с разным сердечно-сосудистым риском в исследуемых группах

FIG. 1.

The frequency of occurrence of women with different cardiovascular risk in the study groups



РИС. 2.

Параметры качества жизни по опроснику Short Form-36 в исследуемых группах: * – различия между 1-й и 2-й группами; & – различия между 1-й и 3-й группами; # – различия между 2-й и 3-й группами ($p_U < 0,05$)

FIG. 2.

Quality of life parameters according to the Short Form-36 questionnaire in the study groups: * – differences between groups 1 and 2; & – differences between groups 1 and 3; # – differences between groups 2 and 3 ($p_U < 0.05$)

в бессимптомной форме, выявлены различия по ролевому функционированию, обусловленному физическим состоянием ($75 \pm 29,88$ и $90,38 \pm 24,01$ балла соответственно; $p = 0,049$).

При сравнении группы пациентов, перенёвших лабораторно подтверждённый COVID-19, и группы женщин, перенёвших заболевание в бессимптомной форме, выявлены статистически значимые различия в сторону более низких баллов у женщин после среднетяжёлой формы заболевания по физическому функционированию, обусловленному физическим состоянием ($65,79 \pm 26,57$ и $91,15 \pm 8,45$ балла соответственно; $p = 0,002$), что го-

ворит о степени ограничения в выполнении физической нагрузки (самообслуживание, ходьба, подъём по лестнице, переноска тяжестей и т. п.), интенсивности боли ($59,52 \pm 20,85$ и $77 \pm 20,51$ балла соответственно; $p = 0,034$), ролевому функционированию, обусловленному физическим состоянием ($69,47 \pm 37,78$ и $90,38 \pm 24,01$ балла соответственно; $p = 0,049$), общему состоянию здоровья ($52,58 \pm 12,9$ и $69,84 \pm 13,68$ балла соответственно; $p = 0,003$), жизненной активности ($58,68 \pm 15,97$ и $72,31 \pm 14,23$ балла соответственно; $p = 0,018$), которая подразумевает ощущение себя полным сил и энергии или, напротив, обессиленным, а так-

же по общему физическому благополучию ($42,22 \pm 9,61$ и $52,74 \pm 5,32$ балла соответственно; $p = 0,001$).

Таким образом, результаты проведённого исследования демонстрируют выраженные ухудшения как в физическом, так и в эмоциональном здоровье у женщин пострепродуктивного возраста после перенесённого в среднетяжёлой форме COVID-19. Данное исследование характеризует среднесрочные последствия COVID-19, которые мы отмечаем спустя 12 месяцев после перенесённой инфекции. Полученные результаты предполагают потенциальную связь между COVID-19 и будущим риском снижения когнитивных функций, стойким ухудшением здоровья и качества жизни. Необходимо приложить дальнейшие усилия по пониманию роли конкретных иммунопатологических механизмов, лежащих в основе воспалительного процесса при COVID-19, и выработки стратегии купирования этих механизмов, целью которой является ограничения долгосрочного пагубного воздействия COVID-19 на физическое и психическое здоровье пациентов. Что касается пациенток, перенёвших заболевание бессимптомно, можно предположить наличие у них более совершенной антиоксидантной системы, лучшее функционирование органов и систем, более адаптированную иммунную систему, или в данном случае может играть немаловажную роль возможная низкая вирусная нагрузка.

Источники финансирования

Работа выполнена при поддержке Совета по грантам Президента РФ (МД-3674.2022.1.4) с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Иркутск).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Weiss P, Murdoch DR. Clinical course and mortality risk of severe COVID-19. *Lancet*. 2020; 395(10229): 1014-1015. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30633-4
2. Puellès VG, Lütgehetmann M, Lindenmeyer MT, Sperhake JP, Wong MN, Allweiss L, et al. Multiorgan and renal tropism of SARS-CoV-2. *N Engl J Med*. 2020; 383(6): 590-592. doi: 10.1056/NEJMc2011400
3. Zhang J, Wang X, Jia X, Li J, Hu K, Chen G, et al. Risk factors for disease severity, unimprovement, and mortality in COVID-19 patients in Wuhan, China. *Clin Microbiol Infect*. 2020; 26(6): 767-772. doi: 10.1016/j.cmi.2020.04.012
4. Nekaeva ES, Bolshakova AE, Malysheva ES, Galova EA, Makarova EV, Nekrasova TA, et al. Gender characteristics of the novel coronavirus infection (COVID-19) in middle-aged adults. *Sovremennye tehnologii v medicine*. 2021; 13(4): 16-26. doi: 10.17691/stm2021.13.4.02
5. Prinelli F, Trevisan C, Noale M, Franchini M, Giacomelli A, Cori L, et al. Sex- and gender-related differences linked to SARS-

CoV-2 infection among the participants in the web-based EPI-COVID19 survey: the hormonal hypothesis. *Maturitas*. 2022; 158: 61-69. doi: 10.1016/j.maturitas.2021.11.015

6. National Institute for Health and Care Excellence. *COVID-19 rapid guideline: Managing the long-term effects of COVID-19*. London, UK; 2020. URL: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng188> [date of access: 25.03.2022].

7. Амиров Н.Б., Давлетшина Э.И., Васильева А.Г., Фатыхов Р.Г. Постковидный синдром: мультисистемные «дефициты». *Вестник современной клинической медицины*. 2021; 14(6): 94-104. doi: 10.20969/VSKM.2021.14(6).94-104

8. Raman B, Cassar MP, Tunnicliffe EM, Filippini N, Griffanti L, Alfaro-Almagro F, et al. Medium-term effects of SARS-CoV-2 infection on multiple vital organs, exercise capacity, cognition, quality of life and mental health, post-hospital discharge. *EClinicalMedicine*. 2021; 31: 100683. doi: 10.1016/j.eclinm.2020.100683

9. Брюхина Е.В., Усольцева Е.Н., Иванова О.В. Качество жизни женщин в зависимости от проявлений климактерического синдрома. *Акушерство и гинекология*. 2014; 10: 52-58.

10. Колесникова Л.И., Колесников С.И., Мадаева И.М., Семенова Н.В. *Этногенетические и молекулярно-метаболические аспекты нарушений сна в климактерическом периоде*. М., 2019.

11. Ware JE Jr, Sherbourne CD. The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. *Medical Care*. 1992; 30: 473-483.

12. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. *Eur Heart J*. 2016; 37(29): 2315-2381. doi: 10.1093/eurheartj/ehw106

13. Камышников В.С. *Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике*; 3-е изд. М.: МЕДпресс-информ; 2009.

14. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020; 395(10223): 497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5

15. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020; 382(18): 1708-1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032

16. Ziberna L, Martelanc M, Franko M, Passamonti S. Bilirubin is an endogenous antioxidant in human vascular endothelial cells. *Sci Rep*. 2016; 6: 29240. doi: 10.1038/srep29240

17. Maruhashi T, Kihara Y, Higashi Y. Bilirubin and endothelial function. *J Atheroscler Thromb*. 2019; 26(8): 688-696. doi: 10.5551/jat.RV17035

18. Gadotti AC, Lipinski AL, Vasconcellos FT, Marqueze LF, Cunha EB, Campos AC, et al. Susceptibility of the patients infected with SARS-CoV-2 to oxidative stress and possible interplay with severity of the disease. *Free Radic Biol Med*. 2021; 165: 184-190. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.01.044

19. Martín-Fernández M, Aller R, Heredia-Rodríguez M, Gómez-Sánchez E, Martínez-Paz P, Gonzalo-Benito H, et al. Lipid peroxidation as a hallmark of severity in COVID-19 patients. *Redox Biol*. 2021; 6(48): 102181. doi: 10.1016/j.redox.2021.102181

20. Rychkova LV, Darenskaya MA, Semenova NV, Kolesnikov SI, Petrova AG, Nikitina OA, et al. Oxidative stress intensity in children and adolescents with a new coronavirus infection. *International*

Journal of Biomedicine. 2022; 12(2): 242-246. doi: 10.21103/Article12(2)_OA7

21. Semenova NV, Rychkova LV, Darenskaya MA, Kolesnikov SI, Nikitina OA, Petrova AG, et al. Superoxide dismutase activity in male and female patients of different age with moderate COVID-19. *Bull Exp Biol Med*. 2022; 173(1): 51-53. doi: 10.1007/s10517-022-05491-6

22. Kudinov VA, Alekseeva OY, Torkhovskaya TI, Baskaev KK, Artyushev RI, Saburina IN, et al. High-density lipoproteins as homeostatic nanoparticles of blood plasma. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(22): 8737. doi: 10.3390/ijms21228737

23. Пизов Н.А., Пизов А.В., Скачкова О.А., Пизова Н.В. Эндотелиальная функция в норме и при патологии. Медицинский совет. 2019; 6: 154-159. doi: 10.21518/2079-701X-2019-6-154-159

24. Шабров А.В., Апресян А.Г., Добкес А.Л., Ермолов С.Ю., Ермолова Т.В., Манасян С.Г., и др. Современные методы оценки эндотелиальной дисфункции и возможности их применения в практической медицине. Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2016; 12(6): 733-742. doi: 10.20996/1819-6446-2016-12-6-733-742

REFERENCES

1. Weiss P, Murdoch DR. Clinical course and mortality risk of severe COVID-19. *Lancet*. 2020; 395(10229): 1014-1015. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30633-4

2. Puellès VG, Lütgehetmann M, Lindenmeyer MT, Sperhake JP, Wong MN, Allweiss L, et al. Multiorgan and renal tropism of SARS-CoV-2. *N Engl J Med*. 2020; 383(6): 590-592. doi: 10.1056/NEJMc2011400

3. Zhang J, Wang X, Jia X, Li J, Hu K, Chen G, et al. Risk factors for disease severity, unimprovement, and mortality in COVID-19 patients in Wuhan, China. *Clin Microbiol Infect*. 2020; 26(6): 767-772. doi: 10.1016/j.cmi.2020.04.012

4. Nekaeva ES, Bolshakova AE, Malysheva ES, Galova EA, Makarova EV, Nekrasova TA, et al. Gender characteristics of the novel coronavirus infection (COVID-19) in middle-aged adults. *Sovremennye tehnologii v medicine*. 2021; 13(4): 16-26. doi: 10.17691/stm2021.13.4.02

5. Prinelli F, Trevisan C, Noale M, Franchini M, Giacomelli A, Cori L, et al. Sex- and gender-related differences linked to SARS-CoV-2 infection among the participants in the web-based EPI-COVID19 survey: the hormonal hypothesis. *Maturitas*. 2022; 158: 61-69. doi: 10.1016/j.maturitas.2021.11.015

6. National Institute for Health and Care Excellence. *COVID-19 rapid guideline: Managing the long-term effects of COVID-19*. London, UK; 2020. URL: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng188> [date of access: 25.03.2022].

7. Amirov NB, Davletshina EI, Vasilieva AG, Fatykhov RG. Post-COVID syndrome: Multisystem "deficits". *Vestnik sovremennoy klinicheskoy mediciny*. 2021; 14(6): 94-104. (In Russ.). doi: 10.20969/VSKM.2021.14(6).94-104

8. Raman B, Cassar MP, Tunnicliffe EM, Filippini N, Griffanti L, Alfaro-Almagro F, et al. Medium-term effects of SARS-CoV-2 infection on multiple vital organs, exercise capacity, cognition, quality of life and mental health, post-hospital discharge. *EclinicalMedicine*. 2021; 31: 100683. doi: 10.1016/j.eclinm.2020.100683

9. Bryukhina EV, Usoltseva EN, Ivanova OV. The quality of life in women according to climacteric syndrome. *Obstetrics and Gynecology*. 2014; 10: 52-58. (In Russ.).

10. Kolesnikova LI, Kolesnikov SI, Madaeva IM, Semenova NV. *Ethnogenetic and molecular-metabolic aspects of sleep disorders in menopause*. Moscow, 2019. (In Russ.).

11. Ware JE Jr, Sherbourne CD. The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. *Medical Care*. 1992; 30: 473-483.

12. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. *Eur Heart J*. 2016; 37(29): 2315-2381. doi: 10.1093/eurheartj/ehw106

13. Kamysnikov VS. *Handbook of clinical biochemical research and laboratory diagnostics*. Moscow: MEDpress-inform; 2009. (In Russ.).

14. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020; 395(10223): 497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5

15. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020; 382(18): 1708-1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032

16. Ziberna L, Martelanc M, Franko M, Passamonti S. Bilirubin is an endogenous antioxidant in human vascular endothelial cells. *Sci Rep*. 2016; 6: 29240. doi: 10.1038/srep29240

17. Maruhashi T, Kihara Y, Higashi Y. Bilirubin and endothelial function. *J Atheroscler Thromb*. 2019; 26(8): 688-696. doi: 10.5551/jat.RV17035

18. Gadotti AC, Lipinski AL, Vasconcellos FT, Marqueze LF, Cunha EB, Campos AC, et al. Susceptibility of the patients infected with SARS-CoV-2 to oxidative stress and possible interplay with severity of the disease. *Free Radic Biol Med*. 2021; 165: 184-190. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.01.044

19. Martín-Fernández M, Aller R, Heredia-Rodríguez M, Gómez-Sánchez E, Martínez-Paz P, Gonzalo-Benito H, et al. Lipid peroxidation as a hallmark of severity in COVID-19 patients. *Redox Biol*. 2021; 6(48): 102181. doi: 10.1016/j.redox.2021.102181

20. Rychkova LV, Darenskaya MA, Semenova NV, Kolesnikov SI, Petrova AG, Nikitina OA, et al. Oxidative stress intensity in children and adolescents with a new coronavirus infection. *International Journal of Biomedicine*. 2022; 12(2): 242-246. doi: 10.21103/Article12(2)_OA7

21. Semenova NV, Rychkova LV, Darenskaya MA, Kolesnikov SI, Nikitina OA, Petrova AG, et al. Superoxide dismutase activity in male and female patients of different age with moderate COVID-19. *Bull Exp Biol Med*. 2022; 173(1): 51-53. doi: 10.1007/s10517-022-05491-6

22. Kudinov VA, Alekseeva OY, Torkhovskaya TI, Baskaev KK, Artyushev RI, Saburina IN, et al. High-density lipoproteins as homeostatic nanoparticles of blood plasma. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(22): 8737. doi: 10.3390/ijms21228737

23. Pizov AV, Pizov NA, Skachkova OA, Pizova NV. Endothelial function in normal and pathological conditions. *Meditsinskiy sovet*. 2019; 6: 154-159. (In Russ.). doi: 10.21518/2079-701X-2019-6-154-159

24. Shabrov AV, Апресян AG, Dobkes AL, Ermolov SU, Ermolova TV, Manasyan SG, et al. Current methods of endothelial dysfunction assessment and their possible use in the practical medicine. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2016; 12(6): 733-742. (In Russ.). doi: 10.20996/1819-6446-2016-12-6-733-742

Сведения об авторах

Вырупаева Екатерина Викторовна – аспирант, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: goliafm@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7954-9570>

Семёнова Наталья Викторовна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: natkor_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6512-1335>

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: rychkova.nc@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2910-0737>

Петрова Алла Германовна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: rudial75@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7965-8061>

Даренская Марина Александровна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: mops_my@front.ru <https://orcid.org/0000-0003-3255-2013>

Колесников Сергей Иванович – доктор медицинских наук, академик РАН, главный научный сотрудник, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; профессор, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», e-mail: sikolesnikov2012@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2124-6328>

Самбялова Александра Юрьевна – младший научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: sambialova95@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5790-6282>

Колесникова Любовь Ильинична – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

Information about the authors

Ekaterina V. Vyrupeva – Postgraduate, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: goliafm@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7954-9570>

Natalya V. Semanova – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: natkor_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6512-1335>

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: rychkova.nc@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2910-0737>

Alla G. Petrova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis in Pediatrics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: rudial75@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7965-8061>

Marina A. Darenskaya – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: mops_my@front.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3255-2013>

Sergey I. Kolesnikov – Dr. Sc. (Med.), Academician of the RAS, Chief Research Officer, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; Professor, Lomonosov Moscow State University, e-mail: sikolesnikov2012@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2124-6328>

Alexandra Yu. Sambyalova – Junior Research Officer at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: sambialova95@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5790-6282>

Lyubov I. Kolesnikova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Academician of RAS, Academic Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS

ОЦЕНКА РЕФЕРЕНСНЫХ ИНТЕРВАЛОВ АЦИЛКАРНИТИНОВ У НОВОРОЖДЁННЫХ СИБИРИ

Немчинова Н.В.,
Баирова Т.А.,
Бельских А.В.,
Бугун О.В.,
Рычкова Л.В.

ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Немчинова
Надежда Владимировна,
e-mail: nemchinova.nad@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Частота заболеваний, связанных с нарушением транспорта и окисления жирных кислот, составляет 1:5000 – 1:9000 новорождённых. Высокая заболеваемость, риск летального исхода при отсутствии своевременной коррекции, неспецифичность клинических проявлений обуславливают важность их своевременной лабораторной диагностики, основанной на определении свободного карнитина и ацилкарнитинов в крови. Референсные значения свободного карнитина и ацилкарнитинов варьируют в разных популяциях.

Цель исследования. Определение референсных интервалов свободного карнитина и ацилкарнитинов у новорождённых детей Иркутской области и их сравнение с аналогичными показателями в других странах мира.

Методы. Проведён анализ 229 образцов сухих пятен крови здоровых новорождённых детей Иркутской области в возрасте от 0 до 7 дней. Анализ концентраций ацилкарнитинов проводился с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией.

Результаты. Для 13 ацилкарнитинов рассчитаны 2,5-й и 97,5-й перцентили (мкмоль/л): C0 – [8,78; 38,08]; C2 – [3,55; 19,09]; C3 – [0,33; 1,96]; C4 – [0,08; 0,51]; C5 – [0,06; 0,44]; C5DC – [0,03; 0,17]; C6 – [0,01; 0,07]; C8 – [0,01; 0,07]; C10 – [0,02; 0,07]; C12 – [0,04; 0,51]; C14 – [0,07; 0,24]; C16 – [0,58; 3,25]; C18 – [0,35; 1,16].

Заключение. Выявлены различия референсных интервалов ацилкарнитинов: C0, C2, C3, C5DC, C8, C10, C14, C16 и C18 – ниже в нашем исследовании, C5 и C12 – выше в нашем исследовании по сравнению с аналогичными параметрами у новорождённых других популяций мира.

Ключевые слова: ацилкарнитины, новорождённые, референсы, ВЭЖХ-МС/МС

Статья поступила: 16.06.2022
Статья принята: 02.09.2022
Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Немчинова Н.В., Баирова Т.А., Бельских А.В., Бугун О.В., Рычкова Л.В. Оценка референсных интервалов ацилкарнитинов у новорождённых Сибири. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 86-99. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.10

ASSESSMENT OF REFERENCE INTERVALS OF ACYLCARNITINES IN NEWBORNS IN SIBERIA

Nemchinova N.V.,
Bairova T.A.,
Belskikh A.V.,
Bugun O.V.,
Rychkova L.V.

Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Nadezhda V. Nemchinova,
e-mail: nemchinova.nad@gmail.com

ABSTRACT

Background. The incidence of diseases associated with impaired transport and oxidation of fatty acids is from 1:5,000 to 1:9,000 newborns. High morbidity, risk of death in the absence of timely correction, non-specificity of clinical manifestations define the importance of their timely laboratory diagnosis based on the determination of free carnitine and acylcarnitines in the blood. Reference values for free carnitine and acylcarnitines vary in different populations.

The aim. To determine the reference intervals of free carnitine and acylcarnitines in newborns of the Irkutsk region and to compare them with similar reference intervals in newborns in other countries.

Methods. The analysis of 229 samples of dry blood spots of healthy newborn children of the Irkutsk region aged from 0 to 7 days was carried out. Analysis of acylcarnitine concentrations was performed using high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry.

Results. 2.5 and 97.5 percentiles ($\mu\text{mol/l}$) were calculated for 13 acylcarnitines: C0 – [8.78; 38.08]; C2 – [3.55; 19.09]; C3 – [0.33; 1.96]; C4 – [0.08; 0.51]; C5 – [0.06; 0.44]; C5DC – [0.03; 0.17]; C6 – [0.01; 0.07]; C8 – [0.01; 0.07]; C10 – [0.02; 0.07]; C12 – [0.04; 0.51]; C14 – [0.07; 0.24]; C16 – [0.58; 3.25]; C18 – [0.35; 1.16].

Conclusion. Differences in acylcarnitine reference intervals were found: compared with other countries, the concentrations of reference intervals for C0, C2, C3, C5DC, C8, C10, C14, C16 and C18 were lower in our study, reference intervals for C5 and C12 were higher in our country.

Key words: acylcarnitines, newborns, references, HPLC-MS/MS

Received: 16.06.2022
Accepted: 02.09.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Nemchinova N.V., Bairova T.A., Belskikh A.V., Bugun O.V., Rychkova L.V. Assessment of reference intervals of acylcarnitines in newborns in Siberia. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 86-99. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.10

АКТУАЛЬНОСТЬ

Сегодня неонатальный скрининг включает исследование на выявление пяти генетических заболеваний: фенилкетонурии, муковисцидоза, галактоземии, врождённой гиперплазии надпочечников и гипотиреоза. С января 2023 г. в Российской Федерации повсеместно внедряется расширенная программа скрининга новорождённых на 36 заболеваний, в том числе на нарушения транспорта и окисления жирных кислот.

Заболевания, связанные с нарушением транспорта и окисления жирных кислот, занимают важное место в структуре детской заболеваемости и смертности, т. к. имеют достаточно высокую распространённость (1:5000 – 1:9000 новорождённых) и летальность, которая достигает 20 % [1, 2]. Известно около полутора десятков заболеваний, связанных с нарушением транспорта и окисления жирных кислот [3, 4]. Данные заболевания имеют сходные полиморфные клинические проявления, в том числе гипокетотическую гипогликемию, судорожные приступы, дисфункцию печени, кардиомиопатию [5], что затрудняет диагностический процесс.

D. McHugh и соавт., а также авторы других работ указывают на различия в уровнях ацилкарнитинов у жителей, проживающих на разных территориях, в разных странах [6–8]. A. Bermúdez и соавт. свидетельствуют о различии уровней ацилкарнитинов у представителей разных этнических групп в пределах одной страны [9].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение референсных интервалов свободного карнитина и ацилкарнитинов у новорождённых детей Иркутской области и их сравнение с аналогичными данными других стран.

Дизайн исследования: обсервационное.

Характеристика обследуемых

Материалом для исследования явились сухие пятна крови 229 здоровых новорождённых детей Иркутской области, полученные в рамках массового регионального неонатального скрининга в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 22.03.2006 № 185 «Положение об организации проведения массового обследования новорождённых детей на наследственные заболевания». Из 229 новорождённых – 115 (50,22 %) мальчиков и 114 (49,78 %) девочек. Медиана возраста новорождённых составила 3 дня (Q1 = 3 дня; Q3 = 4 дня). Средняя масса тела при рождении составила 3393 ± 461 г, в том числе у мальчиков – 3438 ± 485 г, у девочек – 3346 ± 431 г.

Критерии включения:

1. Новорождённые (срок гестации – 37–42 недели беременности).
2. Вес при рождении – 2500–4000 г.
3. Оценка по шкале Апгар через 10 минут – более 7 баллов.
4. Возраст от 3 до 7 дней/

5. Грудное вскармливание на момент забора крови.
6. Забор крови из пятки новорождённого ребёнка через 3 часа после кормления.

Критерии исключения:

1. Недоношенные (рождённые в срок гестации менее 36 недель включительно).
2. Наличие врождённых нарушений обмена веществ.
3. Наличие заболеваний печени, почек, сердца, скелетных мышц.
4. Наличие судорог, пороков развития.
5. Указание на проведение медикаментозной терапии.
6. Наличие сахарного диабета у матери.
7. Отсутствие информированного согласия матери.

Исследование проведено с соблюдением принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (Бразилия, 2013). Родители новорождённых информированы о научной стороне исследования и подписали информированное согласие.

Методы исследования.

Пробоподготовку образцов осуществляли набором реагентов «MassChrom® Amino Acids and Acylcarnitines from Dried Blood» (Chromsystems, Германия). Исследование проводилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) на приборе «Shimadzu LCMS-8060» (Shimadzu, Япония).

Данная работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (Иркутск).

Статистический анализ выполнен с использованием программ SPSS Statistics, версия 26.0 (IBM Corp., США) и Jamovi, версия 2.2.5 (Jamovi, США). Значения ацилкарнитинов, характеристики новорождённых (пол, возраст и вес) описывали с помощью описательной статистики. Результаты представили в виде среднего значения (M) и стандартного отклонения (SD) или в виде медианы (Me) и 25-го и 75-го перцентилей. Проверка на нормальность распределения выполнялась с использованием теста Шапиро – Уилка. Для сравнения результатов уровней ацилкарнитинов с данными других популяций рассчитывали 0,1-й, 1-й, 2,5-й, 97,5-й, 99-й и 99,5-й перцентили и 95%-й доверительный интервал (95% ДИ).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Жирные кислоты (ЖК) являются важным источником энергии организма. Энергетическая роль жирных кислот возрастает в условиях интеркуррентных заболеваний, голодания [3, 10], что определяет эти состояния как триггерные в реализации клинического фенотипа.

Для осуществления окисления ЖК необходима определённая последовательность биохимических реакций:

1. Транспорт жирных кислот в митохондрию (проникновение ЖК через наружную и внутреннюю мембрану митохондрий).

ТАБЛИЦА 1

ПЕРВИЧНЫЕ И ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ В-ОКИСЛЕНИЯ И ИХ СООТНОШЕНИЯ ПРИ РАЗНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ, СВЯЗАННЫХ С НАРУШЕНИЕМ ТРАНСПОРТА И ОКИСЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ [3, 4]

TABLE 1

PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES OF B-OXIDATION AND THEIR RATIOS IN VARIOUS DISEASES ASSOCIATED WITH IMPAIRED TRANSPORT AND OXIDATION OF FATTY ACIDS [3, 4]

Заболевания	Фермент	Первичные маркеры	Вторичные маркеры	Соотношения ацилкарнитинов	Органические кислоты и ацилглицины в моче
Пропионовая ацидемия	Пропионил-CoA-карбоксилаза	C3 ↑	Глицин ↑	C3/C0; C3/C4; C3/C16	3-гидроксипропионовая, метиллимонная кислоты, пропионил- и тиглилглицин
Метилмалоновая ацидурия (тип mut)	Метилмалонил-CoA-мутаза				
Метилмалоновая ацидурия (типы Cbl A и B)	Митохондриальная кобаламин трансфераза, АТФ: кобаламинаденизилтрансфераза	C3 ↑	Глицин ↑	C3/C0; C3/C4; C3/C16	Метилмалоновая, 3-гидроксипропионовая, 3-гидрокси-п-валериановая, метиллимонная кислоты, пропионилглицин
Метилмалоновая ацидурия (типы Cbl C и D)	Метилмалонил-CoA-мутаза, метионинсинтаза		Метионин ↑ C16:1OH ↑		
Изовалериановая ацидемия	Изовалерил-CoA-дегидрогеназа	C5 ↑	–	C5/C3; C5/C4; C5/C8	Изовалериановая, 3-гидроксизовалериановая кислоты и изовалерилглицин
Множественный дефицит карбоксилаз	Биотинидаза либо синтетаза голокарбоксилаз	C5OH ↑	C3 n/ ↑	–	–
3- метилкротонилглицинурия	3-метилкротонил-CoA-карбоксилаза	C5OH ↑	–	–	–
Глутаровая ацидемия I типа	Глутарил-CoA-дегидрогеназа	C5DC ↑	–	C5DC/C4; C5DC/C8; 5DC/C12; C5DC/C3DC	Глутаровая и 3-OH-глутаровая кислоты
Дефицит 3-OH-3 метилглутарил-CoA-лиаза	3-гидрокси-3-метилглутарил-CoA-лиаза	C5OH ↑	C6DC n/ ↑	–	3-гидрокси-3-метилглутаровая, 3-метилглутаровая, 3-гидроксизовалериановая кислоты, 3-метилкротонилглицин
Дефицит β-кетотиолазы	Митохондриальная ацетоацетил-CoA-тиолаза	C5:1 ↑	C5OH n/ ↑	–	2-метил-3-гидроксимасляная и 2-метилацетоуксусная кислоты, тиглилглицин

TABLE 1 (continued)

ТАБЛИЦА 1 (продолжение)

Заболевания	Фермент	Первичные маркеры	Вторичные маркеры	Соотношения ацилкарнитинов	Органические кислоты и ацилглицины в моче
Первичный дефицит карнитина	Плазмальный мембранный транспортер карнитина	C0 ↑	–	–	Норма
Дефицит среднецепочечной ацил-КоА дегидрогеназы жирных кислот (MCAD)	Среднецепочечная ацил-КоА-дегидрогеназа жирных кислот	C6 ↑; C8 ↑; C10:1 ↑	C10 ↑	C6/C8 ↑; C8/C10 ↓; C8/C2 ↑	От C6 до C8 гексаноилглицин, суберилглицин, фенилпропионилглицин
Дефицит ацил-КоА-дегидрогеназы с очень длинной цепью (VLCAD)	Ацил-КоА-дегидрогеназа с очень длинной цепью	C14:1 ↑	C14 n/ ↑; C16 n/ ↑; C18:1 n/ ↑	C14:1/C4; C14:1/C5; C14:1/C8	Дикарбоновые кислоты от C6 до C14
Дефицит длинноцепочечной гидроксиацил-КоА-дегидрогеназы (LCHAD)	Длинноцепочечная гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа	C16-OH ↑; C16:1-OH ↑; C18-OH ↑; C18:1OH ↑	–	↑ C16-OH/C16	ОН-дикарбоновые кислоты от C6 до C14; дикарбоновые кислоты от C6 до C14
Дефицит митохондриального трифункционального белка (MTP)	Ферментный комплекс: длинноцепочечные еноил-КоА-гидратаза, 3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа и 3-кетоацил-КоА-тиолаза	C16-OH ↑; C16:1-OH ↑	C18-OH ↑; C14 ↑	↑ C16-OH/C16	
Малоновая ацидурия	Малонил-КоА-декарбоксилаза	C3DC ↑	–	–	–
Дефицит 2-метил-3-ОН-бутирил-КоА-дегидрогеназы	2-метил-3-гидроксibuтирил-КоА-дегидрогеназа	C5OH ↑	–	–	2-метил-3-гидроксibuтират и тиглилглицин
Дефицит короткоцепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы (SCAD)	Короткоцепочечная ацил-КоА-дегидрогеназа	C4 ↑	–	–	Этилмалоновая, метилглицитанная кислоты, бутирилглицин
Глутаровая ацидемия II типа (MAD)	Электрон-переносающий флавопротеин	C4-C18 ↑	–	↑ C8/C2; ↑ C14:1/C2	Изовалерил, гексаноил- и суберилглицины
Дефицит короткоцепочечной гидроксиацил-КоА-дегидрогеназы (HAD)	Короткоцепочечная гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа	C4OH ↑; C6OH ↑	–	↑ C4-OH/C4	3-ОН-глутаровая кислота, дикарбоновые и ОН-дикарбоновые кислоты от C6 до C14
Дефицит 2,4-диеноил-КоА-редуктазы (DECR1)	2,4-диеноил-КоА-редуктаза	C10:2 ↑	–	–	Норма или гиперлизинемия

TABLE 1 (continued)

ТАБЛИЦА 1 (продолжение)

Заболевания	Фермент	Первичные маркеры	Вторичные маркеры	Соотношения ацилкарнитинов	Органические кислоты и ацилглицины в моче
Дефицит длинноцепочечной 3-кетоацил-КоА-тиолазы (LCKAT)	Длинноцепочечная 3-кетоацил-КоА-тиолаза	C14:1 ↑ и C16:1 ↑; C16OH ↑ и C18:1OH ↑	–	–	Дикарбоновые и OH-дикарбоновые кислоты
Дефицит 3-метилглутаконил-КоА-гидратазы	3-метилглутаконил-КоА-гидратаза	C5OH ↑	–	–	3-метилглутаконическая и 3-метилглутаровая кислоты
Дефицит изобутирил-КоА-дегидрогеназы	Изобутирил-КоА-дегидрогеназа	C4 ↑	–	–	–
Дефицит карнитин-ацилкарнитин-транслоказы (CACT)	Карнитин-ацилкарнитин-транслоказа	C16 ↑; C16:1 ↑; C18 ↑; C18:1 ↑	–	↑ (C16 + C18:1)/C2; ↓ C0/(C16 + C18)	Тяжелая дикарбоновая ацидурия с избытком ненасыщенных дикарбоновых кислот
Дефицит карнитинпальмитоил-трансферазы II (CPT II)	Карнитинпальмитоил-трансфераза 2	C16 ↑; C18:1 ↑	C2 ↓	↑ (C16 + C18:1)/C2 в течение 10 дней жизни; ↓ C0/(C16 + C18)	Норма
Дефицит карнитинпальмитоил-трансферазы I (CPT I)	Карнитинпальмитоил-трансфераза 1	C16↓; C18↓	C0 n/ ↑	↑ C0/(C16 + C18) в течение 10 дней жизни; ↓ (C16 + C18:1)/C2	Дикарбоновые кислоты C12

2. Поэтапное укорочение углеродной цепочки жирных кислот до получения конечного продукта – ацетил-коэнзима А (ацетил-КоА).

Выделяют короткоцепочечные (< C6), среднецепочечные (C6–C12) и длинноцепочечные (C14–C20) жирные кислоты. Каждый этап укорочения углеродной цепочки сопряжён с использованием различных ферментов и переносчиков. Диагноз врождённых нарушений метаболизма ацилкарнитинов основан на их количественном анализе. Изменение концентраций ацилкарнитинов свидетельствует о нарушении работы ферментов, участвующих в β-окислении (табл. 1).

Концентрации метаболитов у младенцев с наследственными заболеваниями транспорта и окисления жирных кислот превышают соответствующие пороговые значения. Концентрация метаболитов зависит от метаболического статуса новорождённого [8], его этнической и/или расовой принад-

лежности [9, 11], рациона питания [8] и зрелости младенцев [7, 12], а также от отклонений в технологии забора, хранения и выполнения исследования ацилкарнитинов [7, 11].

Зависимая от времени деградация метаболитов при длительном хранении высушенных фильтр-карт может определять изменение концентрации метаболитов [13]. В связи с этим прежде чем устанавливать окончательную клиническую ценность результатов, необходимо стандартизировать физиологические и преаналитические переменные, аналитические методы, обработку данных и представление результатов [14].

В данной работе проведён анализ концентрации ацилкарнитинов у здоровых новорождённых через 1–1,5 месяца после забора биоматериала, сгенерированы перцентильные ряды концентрации 13 ацилкарнитинов (табл. 2).

Сравнение результатов собственного исследования с данными других стран представлено в таблице 3.

ТАБЛИЦА 2

ПЕРЦЕНТИЛИ АЦИЛКАРНИТИНОВ В 229 СУХИХ ПЯТНАХ КРОВИ НОВОРОЖДЁННЫХ ДЕТЕЙ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ

TABLE 2

ACYLCARNITINES PERCENTILES IN DRY BLOOD SPOTS OF 229 NEWBORNS OF THE IRKUTSK REGION

Ацилкарнитины	Концентрации ацилкарнитинов (мкмоль/л), Ме (95 %)					
Перцентили	0,1-й	1-й	2,5-й	97,5-й	99-й	99,5-й
Короткоцепочечные ацилкарнитины						
Карнитин свободный (C0)	8,39 (8,39; 8,64)	8,47 (8,39; 8,83)	8,78 (8,58; 11,12)	38,08 (34,34; 40,88)	41,98 (37,74; 47,58)	46,85 (39,18; 47,58)
Ацетилкарнитин (C2)	2,95 (2,95; 3,52)	3,11 (2,95; 3,56)	3,55 (3,13; 3,94)	19,09 (16,02; 24,82)	25,27 (19,06; 25,58)	25,58 (19,18; 25,58)
Пропионилкарнитин (C3)	0,23 (0,23; 0,33)	0,24 (0,23; 0,35)	0,33 (0,27; 0,41)	1,96 (1,64; 2,18)	2,18 (1,90; 2,84)	2,74 (2,12; 2,84)
Бутирилкарнитин (C4)	0,07 (0,07; 0,07)	0,07 (0,07; 0,08)	0,08 (0,07; 0,08)	0,51 (0,42; 0,73)	0,77 (0,49; 0,80)	0,80 (0,67; 0,80)
Изовалерилкарнитин (C5)	0,05 (0,05; 0,06)	0,05 (0,05; 0,06)	0,06 (0,05; 0,07)	0,44 (0,33; 0,59)	0,73 (0,43; 0,83)	0,83 (0,48; 0,83)
Глутарилкарнитин (C5DC)	0,02 (0,02; 0,02)	0,02 (0,02; 0,03)	0,03 (0,02; 0,03)	0,17 (0,14; 0,19)	0,19 (0,16; 0,20)	0,20 (0,18; 0,20)
Среднецепочечные ацилкарнитины						
Гексаноилкарнитин (C6)	0,01 (0,01; 0,01)	0,01 (0,01; 0,01)	0,01 (0,01; 0,02)	0,07 (0,06; 0,09)	0,12 (0,07; 0,14)	0,14 (0,07; 0,14)
Октаноилкарнитин (C8)	0,01 (0,01; 0,01)	0,01 (0,01; 0,01)	0,01 (0,01; 0,01)	0,07 (0,05; 0,07)	0,07 (0,07; 0,07)	0,07 (0,07; 0,07)
Деканоилкарнитин (C10)	0,01 (0,01; 0,02)	0,02 (0,01; 0,02)	0,02 (0,02; 0,02)	0,07 (0,06; 0,08)	0,08 (0,07; 0,10)	0,10 (0,07; 0,10)
Додеcanoилкарнитин (C12)	0,04 (0,04; 0,04)	0,04 (0,04; 0,04)	0,04 (0,04; 0,05)	0,51 (0,42; 0,56)	0,58 (0,50; 0,59)	0,59 (0,54; 0,59)
Длинноцепочечные ацилкарнитины						
Миристоилкарнитин (Тетрадеcanoил, C14)	0,05 (0,05; 0,06)	0,06 (0,05; 0,07)	0,07 (0,06; 0,07)	0,24 (0,22; 0,26)	0,26 (0,23; 0,27)	0,27 (0,26; 0,27)
Пальмитоилкарнитин (C16)	0,37 (0,37; 0,54)	0,54 (0,37; 0,64)	0,58 (0,54; 0,81)	3,25 (2,72; 3,94)	4,80 (3,20; 5,37)	5,37 (3,40; 5,37)
Октадеcanoилкарнитин (Стеароил, C18)	0,31 (0,31; 0,34)	0,31 (0,31; 0,36)	0,35 (0,32; 0,38)	1,16 (1,07; 1,31)	1,32 (1,14; 1,32)	1,32 (1,29; 1,32)

ТАБЛИЦА 3
СРАВНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ
С ДАННЫМИ ДРУГИХ ИССЛЕДОВАТЕЛЕЙ

Страна	МГЦ	45 стран	GD производителя (Германия)	GD производителя (Австрия)	Колумбия	Бангладеш	Китай	Китай (Jining city)	Тибет	Норвегия
Ссылка	[15]	D.M.S. McHugh, 2011 [6]	Руководство производителя [16]	N. Céspedes, 2017 [7]	S.K. Sarker, 2019 [11]	F. He, 2021 [12]	C.-J. Yang, 2018 [17]	Ch. Zhang, 2019 [8]	T. Tangeraas, 2020 [18]	
Возраст	–	1–5 дней	0–28 дней	0–28 дней	1–18 дней	1–7 дней	от 2 дней до ≤3 дней	3–37 дней	Новорождённые	Новорождённые
N	–	25–30 млн	1500	2500	891	120	1 053 952	100 077	15 029	461 369
Биоматериал	–	DBS	DBS	DBS	DBS	DBS	DBS	DBS	DBS	DBS
Cutt-off	min: max	1:99ile	99,5ile	99,5ile	1:99ile	2,5:97,5ile	2,5:97,5ile мальчики	2,5:97,5ile девочки	1:99ile	пороговые значения
Carnitine	8:190	11#:59#	60,3# min 5,2	49,8# min 8,0	13,63#:78,74#	15,60#:73,73#	11,30#:37,73	10,65#:34,69	9,56#:66,22#	<0,6
C2 Carnitine	6:75	10#:52#	47,8#	57,3#	9,02#:54,31#	6,88#:64,68#	8,78#:32,74#	8,17#:30,42#	1,12*:36,63#	–
C3 Carnitine	0,13:7,4	0,57#:4,74#	4,72#	4,88#	0,23:4,05#	0,61#:6,88#	0,77#:2,95#	0,74#:2,84#	0,26:4,28#	4,75
C4 Carnitine	0:1,3	0,08:0,75	0,81#	0,62*	0,07:0,64	0,08:0,63	0,10#:0,33*	0,11#:0,36*	0,08:0,47*	–
C5 Carnitine	0:1	0,05:0,39*	0,45*	0,46*	0,09#:0,59	0,09#:0,55	0,05:0,17*	0,04*:0,18*	0,04*:0,39*	1
C5DC Carnitine	0:0,45	–	0,34#	0,22#	0,03:0,36#	0,04#:0,29#	–	–	–	0,4
C6 Carnitine	0:0,35	0,02#:0,18#	0,16#	0,13	0,04#:0,51#	0,00*:0,09	0,02:0,08	0,02:0,07	0,01:0,09	–
C8 Carnitine	0:0,5	0,02#:0,21#	0,19#	0,11#	0,05#:0,43#	0,00*:0,14#	0,03#:0,10#	0,03#:0,10#	0,01:0,13#	0,4
C10 Carnitine	0:0,43	0,02:0,26#	0,26#	0,21#	0,05#:0,45#	0,03#:0,18#	0,03#:0,15#	0,03#:0,14#	0,01:0,20#	–
C12 Carnitine	0:0,35	0,04:0,41*	0,41*	0,56	0,08#:0,81#	0,03*:0,23*	0,04:0,17*	0,03*:0,15*	0,01*:0,20*	0,4
C14 Carnitine	0:0,555	0,07:0,5#	0,43#	0,38#	0,10#:0,84#	0,11#:0,51#	0,10#:0,32#	0,09#:0,27	0,04*:0,38#	–
C16 Carnitine	0,11:6,3	0,8#:6,0#	5,06	5,81#	0,72#:6,17#	0,88#:7,23#	1,45#:5,51#	1,35#:5,14#	0,38:5,24	5,5
C18 Carnitine	0,07:2,4	0,31:1,7#	2,59#	1,58#	0,30*:2,00#	0,32:1,69#	0,46#:1,44#	0,44*:1,40#	0,19*:1,70#	–

Примечание: * – наш RI выше, чем RI в сопоставимом исследовании; # – наш RI ниже, чем RI в сопоставимом исследовании

Согласно руководству «Clinical and Laboratory Standards Institute» (CLSI CA28-3, 2018), лаборатории, разрабатывающие и оценивающие референсные интервалы, должны учитывать сопоставимость референсной популяции, преаналитических и аналитических методов исследования. Для проведения сравнительного анализа сопоставлены результаты аналогичных исследований в других странах мира. Критериями включения в сравнительный анализ явились: возраст до 28 суток жизни; использование метода ВЭЖХ-МС/МС для установления концентраций ацилкарнитинов; валидированная аналитическая методика; применение непараметрических методов для статистической оценки данных.

Количество исследуемых новорожденных варьировало от 120 (Бангладеш) до 25–30 млн (мультицентровое исследование). Согласно CLSI CA28-3 (2018), для установления референсных интервалов в исследование должно быть включено не менее 120 «референсных» респондентов.

Результаты представленного исследования свидетельствуют о различиях референсных значений ацилкарнитинов. Так, концентрация свободного карнитина (C0) у новорожденных детей Иркутской области ниже, чем у новорожденных в других странах, но верхняя граница референсных интервалов сопоставима с данными из Китая. Ниже концентрации ацилкарнитинов C2, C3, C5DC, C8, C10, C14 (верхнее значение референсного интервала у девочек сопоставимо с данными новорожденных Китая), C16 (собственные данные сопоставимы с данными новорожденных Германии и Тибета), C18.

Концентрации C4 в нашем исследовании сопоставимы с данными мультицентрового исследования (45 стран), Колумбии, Бангладеш и при этом выше, чем в Австрии, Китае и Тибете, и ниже, чем в Германии. Содержание C6 в нашем исследовании сопоставимо с данными Австрии, Бангладеш, Китая и Тибета, но ниже, чем в мультицентровом исследовании, Германии, Колумбии.

Концентрации C5 выше, чем у новорожденных детей в других странах, – в мультицентровом исследовании, Германии, Австрии, Китае, Тибете, Колумбии, Бангладеш. Концентрации C12 у новорожденных Иркутской области выше, чем Германии, Бангладеш, Китае, Тибете, но ниже, чем в Колумбии, и сопоставимы с данными Австрии.

Причиной различий в концентрациях, по мнению J.A. Schmidt и соавт., могут быть различия культуры питания: у мясоедов выше концентрации C0, C3, C4, C5 и C16 по сравнению с любителями рыбы, вегетарианцами и веганами [19]. Известно, в питании жителей Иркутской области высок удельный вес белков и жиров животного происхождения [20], что позволяет подойти к пониманию возможных особенностей референсных диапазонов ацилкарнитинов у новорожденных Прибайкалья.

Другими факторами, которые можно рассмотреть в качестве причин различий в концентрациях, являются возраст и масса тела респондента. E. Vieira Neto и соавт. указывают на отсутствие или слабую корреляцию между концентрацией ацилкарнитинов в сухих пятнах кро-

ви и массой тела при рождении или гестационным возрастом [21]. Однако на концентрации может влиять возраст новорожденного. Было определено, что в группах новорожденных в возрасте от 8 до 30 дней концентрации ацилкарнитинов выше, чем у новорожденных в возрасте до 7 дней [22].

Наиболее существенные различия наблюдались в референсных концентрациях среднепочечного ацилкарнитина C10, верхняя граница референсных интервалов которого в нашем исследовании более чем в 2 раза ниже, чем у новорожденных других стран мира, а также короткоцепочечных ацилкарнитинов (по ацилкарнитину C2 наши референсные значения преимущественно в 2–3 раза ниже; по ацилкарнитину C3 наши референсные диапазоны преимущественно в 2 раза ниже).

Дефицит короткоцепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы наследуется аутосомно-рецессивно; его предполагаемая частота составляет от 1:50000 до 1:1000 в Нидерландах [3]. Ацил-КоА-дегидрогеназа с короткой цепью (SCAD, short-chain acyl-CoA dehydrogenase) участвует в первой стадии митохондриального β -окисления жирных кислот длиной от четырех до шести атомов углерода.

Во многих случаях отмечают бессимптомное течение, поэтому дефицит SCAD теперь рассматривается как биохимический фенотип, а не заболевание. Большинство детей с дефицитом SCAD были выявлены при проведении скрининга новорожденных, и подавляющее большинство выявленных случаев дефицита SCAD остаётся бессимптомным на протяжении нескольких лет [10].

Клинические проявления заболевания вариабельны: чаще всего наблюдаются мышечная гипотония и задержка развития (приобретение моторных сидеть/ходить и/или речевых, а также социальных навыков), судороги при отсутствии гипокетотической гипогликемии, – в отличие от других заболеваний с нарушением β -окисления жирных кислот и карнитиновой системы.

Симптомы дефицита SCAD возникают вследствие мутаций гена *ACADS* (12q24), кодирующего короткоцепочечную ацил-КоА дегидрогеназу жирных кислот от C2 до C3, и дефицита короткоцепочечной 3-гидроксиацил-КоА дегидрогеназы (SCHAD) вследствие мутации гена *HADH* (4q25).

При мутациях гена *ACADS* в плазме определяется повышенная концентрация бутирилкарнитина (C4) и/или этилмалоновой кислоты (EMA), увеличивается соотношение этерифицированный карнитин/свободный карнитин C0. В моче определяется этилмалоновая ацидурия, увеличивается экскреция бутирилглицина и метилантарной кислоты. Для более точной диагностики необходимы подтверждающие методы, так как высокий уровень C4 характерен не только для дефицита короткоцепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы, но и для дефицита изобутирил-КоА-дегидрогеназы, а повышенная экскреция этилмалоновой кислоты наблюдается при других заболеваниях, например, при множественном дефиците ацил-КоА-дегидрогеназы, митохондриальных заболеваниях дыхательной цепи, синдроме этилмалоновой энцефалопатии [3]. Возможно проведение моле-

кулярно-генетического анализа с целью определения мутаций в гене *SCAD*, однако не выявлено часто встречающихся мутаций, однозначно вызывающих заболевание. Имеются сведения о двух генетических вариантах (*511C>T*; *625G>A*), распространённых в европейской популяции, способствующих предрасположенности к заболеванию при наличии других генетических и клеточных факторов. Также диагноз подтверждается при проведении биопсии мышц для измерения ферментативной активности *SCAD* [23]. Лечение дефицита ацил-КоА дегидрогеназы жирных кислот с короткой цепью основывается на частом дробном питании с исключением голодания, снижении в рационе содержания липидов, увеличении потребления продуктов, богатых углеводами, а также назначении витаминов группы В [1]. При наличии судорожного синдрома назначаются антиконвульсанты, кроме вальпроатов [24].

Дефицит короткоцепочечной 3-гидроксиацил-КоА дегидрогеназы (*SCHAD*) является аутосомно-рецессивным заболеванием, связанным с мутациями гена *SCHAD* или *HADH* (гидроксиацил-коэнзим дегидрогеназа), кодирующего короткоцепочечную 3-гидроксиацил-КоА дегидрогеназу жирных кислот (*SCHAD*).

Заболевание в большинстве случаев манифестирует на первом году жизни, но возможен и более поздний возраст начала симптомов. Описано около десяти случаев дефицита *SCHAD* [10].

Основные клинические проявления дефицита *SCHAD* отличаются от других наследственных дефектов β -окисления жирных кислот, поскольку при нём гипогликемия связана с гиперинсулинизмом. Р.Т. Clayton и соавт. (2001) сообщили о младенце женского пола от неродственных индийских родителей, у которого в возрасте 4 месяцев дебютировали гипогликемические судороги. Дальнейшие эпизоды гипокетотической гипогликемии были связаны с неадекватно повышенными концентрациями инсулина в плазме. Однако, в отличие от других детей с гиперинсулинизмом, у этого пациента отмечалась стойко повышенная концентрация гидроксибутирилкарнитина в пятнах крови как при приёме пищи, так и натощак. Измерение активности L-3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназы в культивируемых фибробластах кожи с субстратом ацетоацетил-КоА показало снижение её активности. Секвенирование геномной ДНК короткоцепочечной L-3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназы (*SCHAD*) выявило гомозиготную мутацию (*C773T*), детерминирующую замену пролина на лейцин в положении 258. Анализ крови родителей показал, что они гетерозиготны по данной мутации. Исследования экспрессии показали, что фермент P258L не обладает каталитической активностью, что позволило авторам свидетельствовать о патогенетической роли мутации *C773T* гена *SCHAD* в формировании данного заболевания [25].

В подростковом возрасте у носителей мутации гена *SCHAD* регистрируются миоглобинурия, гипокетотическая гипогликемическая энцефалопатия, гипертрофическая/дилатационная кардиомиопатия, мышечная гипотония, стеатоз печени, печёночная недостаточность. Нередко отмечаются эпилептические приступы, миопатия,

задержка физического развития, нарушения вскармливания [26, 27]. Стресс и голодание способны провоцировать симптомы. Позднее установление диагноза способно привести к формированию эпилепсии и когнитивным нарушениям на фоне рецидивирующей гипогликемии [10].

Распространённость дефицита ацил-КоА-дегидрогеназы жирных кислот со средней длиной углеродной цепи (*MCAD*, medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency) составляет 1:10000 новорождённых [3]. При этом частота дефицита ацил-КоА-дегидрогеназы средней цепи (*MCAD*) по данным тандемного масс-спектрометрического скрининга пятен крови выше частоты клинических проявлений. Так, частота по данным масс-спектрометрического скрининга составляет 1:14600 (95% ДИ: 1:13500–1:15900), т. е. почти у 8,2 млн новорождённых во всём мире, что в 2–3 раза выше, чем в той же популяции после клинических проявлений [28].

Заболевание связано с нарушением работы ферментов, что приводит к накоплению жирных кислот со средней длиной цепи из-за нарушения их расщепления в процессе β -окисления. Ген *Acyl-CoA Dehydrogenase Medium Chain (ACADM)*, кодирующий среднецепочечную ацил-КоА дегидрогеназу жирных кислот, расположен в 1p31.1. Описано 502 патогенных или вероятно патогенных варианта (GeneCards.org, 12.06.2022).

Проявление заболевания возможно в любом возрасте. Пусковыми факторами дебюта заболевания являются голодание или метаболический стресс, приводящие к гипогликемии, коме и летальному исходу. Уже при первом эпизоде кatabолической декомпенсации четверть пациентов погибает, у 10–30 % пациентов наблюдаются стойкие неврологические нарушения [29].

В плазме крови определяется гипогликемия, повышаются уровни свободных жирных кислот C8, C10:1 и C10. Обнаруживаются высокие уровни ацилкарнитинов C6, C8, C10 и C10:1, среди которых C8-карнитин является наиболее значимым. Концентрации ацилкарнитинов определяются не только в периоды декомпенсации, но и в периоды стабильности, поэтому могут быть использованы при скрининге новорождённых. Уровень свободного карнитина понижен. Соотношение ацилкарнитин/свободный карнитин увеличивается. Также определяются повышенные соотношения C8/C10 и C8/C2, с помощью которых можно дифференцировать поражённых людей от носителей. Подтверждение диагноза проводят путём обнаружения сходных изменений в профиле ацилкарнитина в плазме, повышенных концентраций гексаноилглицина и суберилглицина в моче, определением ферментативной активности в фибробластах, лимфоцитах или мышечных тканях, а также идентификацией патогенных вариантов в гене *ACADM* [3, 29]. По результатам массового неонатального скрининга в популяциях новорождённых США, на мутацию *985A>G (K329E)* приходится 54–90 % аллелей болезни, при этом гомозиготы составляют около 47–80 % случаев дефицита жирных кислот со средней длиной цепи. Во всём мире уровни октаноилкарнитина C8 являются эффективным пер-

вичным скринингом дефицита MCAD у новорождённых. Новорождённые, гомозиготные по мутации 985A<G, имеют более высокие уровни октаноилкарнитина, чем компаунд-гетерозиготные по мутации 985A<G и дети с другими генотипами [28].

Пациентам рекомендован отказ от голодания. Возможно назначение добавок карнитина, однако нет однозначных данных о его эффективности при дефиците MCAD [29].

Дефицит длинноцепочечной 3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназы (LCHAD, long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase) диагностируется с частотой 1:244000 [3] и относится к аутосомно-рецессивным заболеваниям.

Клиническая картина характеризуется вялостью, гипогликемией, гипотонией, кардиомиопатией и острым метаболическим кризисом. От других нарушений β -окисления данные формы отличаются наличием ретинопатии и периферической невропатии. В зависимости от начала манифестации заболевания выделяют три формы: форма с ранним началом, для которой характерны острая манифестация (рвота, судороги, вялость, нарушения дыхания), кардиомиопатия, гипогликемия и внезапная детская смерть; младенческая форма, которая чаще манифестирует как синдром Рейе, характеризуется рецидивирующей гипокетотической гипогликемией и вялостью натошак или при вирусных инфекциях, во время приступа возможна внезапная смерть; более лёгкая форма с поздним началом, которая возникает в ответ на физическое переутомление, голод или инфекции и связана с прогрессирующей периферической невропатией, рецидивирующим рабдомиолизом и дисфункцией печени.

Диагностика основана на определении ацилкарнитин-ов C16OH, C16:1OH, C18OH в плазме, ацилглицеринов в моче и анализе органических кислот в моче [30]. Однако их повышение не является специфичным для данных состояний. В моче определяется C6-C14-дикарбоновая ацидурия, отсутствие ацилглицеринов и кетонурии. Подтверждающая диагностика основывается на измерении ферментативной активности фибробластов или лимфоцитов, а также генетических исследованиях. К дефициту LCHAD приводит мутация в гене *Hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase Trifunctional Multienzyme Complex Subunit Alpha (HADHA)*, расположенном в 2p23.3 (Genecards.org, 12.06.2022).

Лечение также основано на отказе от голодания, диете с низким содержанием длинноцепочечных жирных кислот (жирные сорта рыб, растительное масло, орехи), использовании добавок карнитина [3, 31].

Есть данные о возможности определения ацилкарнитин-ов в пуповинной крови, что позволяет раньше диагностировать нарушения метаболизма ацилкарнитин-ов, однако данный метод не выявляет у новорождённых детей все наследственные нарушения обмена веществ, которые определяются только на 4–7-й день в рамках неонатального скрининга. Кроме того, определение в пуповинной крови изменённых уровней ацилкарнитин-ов и других метаболитов может свидетельствовать о наличии заболевания не у ребёнка, а у матери [21, 32]. Также при исследовании пуповинной крови следует учи-

тывать, что концентрация ацилкарнитин-ов в ней меньше, чем в крови новорождённого на 4–7-й день жизни. Это предположительно связано с ограниченным переносом жирных кислот через плаценту и, как следствие, с низким уровнем липидов в крови у новорождённых, а также вызвано адаптацией к грудному молоку, содержащему большую концентрацию жирных кислот [21].

Ограничения исследования

Представленное исследование является пилотным. Дальнейшее изучение данной темы с увеличением объёма изучаемой выборки позволит получить более надёжные пороговые значения ацилкарнитин-ов у новорождённых Сибири.

Пороговые значения ацилкарнитин-ов зависят от этнической и расовой принадлежности исследуемых. В данном исследовании референсных интервалов ацилкарнитин-ов у новорождённых в Иркутской области отсутствовало указание на расовую и этническую принадлежность до трёх поколений. По данным Всероссийской переписи населения 2010 г., в изучаемом регионе проживает 88,28 % русских, 1,27 % украинцев и 0,33 % белорусов, что позволяет свидетельствовать о преимущественном проживании в изучаемом регионе европеоидов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты сравнительного анализа свидетельствуют об отличии референсных значений свободного карнитина и ацилкарнитин-ов от аналогичных данных в других популяциях мира. При этом референсные интервалы C0, C2, C3, C5DC, C8, C10, C14, C16 и C18 в нашем исследовании ниже, а референсные интервалы C5 и C12 – выше, чем у новорождённых других популяций мира.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность сотрудникам ГБУЗ «Иркутский областной перинатальный центр» и всем медицинским сотрудникам, принявшим участие в заборе биоматериала для неонатального скрининга.

ЛИТЕРАТУРА

1. Николаева Е.А., Мамедов И.С. Диагностика и лечение наследственных дефектов обмена жирных кислот у детей. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2009; 54(2): 51-65.
2. Николаева Е.А., Шулякова И.В., Цыганкова П.Г., Байдакова Г.В., Захарова Е.Ю., Белоусова Е.Д. Симптоматическая эпилепсия как проявление дефицита ацил-КоА дегидрогеназы жирных кислот с очень длинной углеводной цепью. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2008; 53(3): 87-91.
3. Ruiz-Sala P, Peña-Quintana L. Biochemical markers for the diagnosis of mitochondrial fatty acid oxidation diseases. *J Clin Med*. 2021; 10(21): 4855. doi: 10.3390/jcm10214855

4. La Marca G. Mass spectrometry in clinical chemistry: the case of newborn screening. *J Pharm Biomed Anal.* 2014; 101: 174-182. doi: 10.1016/j.jpba.2014.03.047
5. Knottnerus SJ, Bleeker JC, Wüst RC, Ferdinandusse S, IJlst L, Wijburg FA, et al. Disorders of mitochondrial long-chain fatty acid oxidation and the carnitine shuttle. *Rev Endocr Metab Disord.* 2018; 19(1): 93-106. doi: 10.1007/s11154-018-9448-1
6. McHugh D, Cameron CA, Abdenur JE, Abdulrahman M, Adair O, Al Nuaimi SA, et al. Clinical validation of cutoff target ranges in newborn screening of metabolic disorders by tandem mass spectrometry: A worldwide collaborative project. *Genet Med.* 2011; 13(3): 230-254. doi: 10.1097/GIM.0b013e31820d5e67
7. Céspedes N, Valencia A, Echeverry CA, Arce-Plata MI, Colón C, Castiñeiras DE, et al. Reference values of amino acids, acylcarnitines and succinylacetone by tandem mass spectrometry for use in newborn screening in southwest Colombia. *Colombia Médica.* 2017; 48(3): 113-119. doi: 10.25100/cm.v48i3.2180
8. Zhang C, Dha D, Cheng Y, Ma Y, Meng Y, Tse D, et al. An investigation of amino acid and acylcarnitine levels in neonates from the Tibet Autonomous. *Research Square [Preprint]*. 2019. doi: 10.21203/rs.2.18538/v1
9. Bermúdez A, Robayo D, Porras G, Acosta MA. Amino acids and acylcarnitines reference values for neonatal screening of inborn errors of metabolism in colombia by tandem mass spectrometry. *J Inborn Errors Metab Screeng.* 2021; 9. doi: 10.1590/2326-4594-JIEMS-2021-0012
10. Союз педиатров России. Клинические рекомендации. Нарушения митохондриального β -окисления жирных кислот. URL: <https://www.pediatr-russia.ru/> [дата доступа: 06.05.2022].
11. Sarker SK, Islam MT, Biswas A, Bhuyan GS, Sultana R, Sultana N, et al. Age-specific cut-off values of amino acids and acylcarnitines for diagnosis of inborn errors of metabolism using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *BioMed Res Int.* 2019; 2019: 3460902. doi: 10.1155/2019/3460902
12. He F, Yang R, Huang X, Tian Y, Pei X, Bohn MK, et al. Reference standards for newborn screening of metabolic disorders by tandem mass spectrometry: A nationwide study on millions of Chinese neonatal populations. *Frontiers Mol Biosci.* 2021; 8: 719866. doi: 10.3389/fmolb.2021.719866
13. Strnadova KA, Holub M, Muhl A, Heinze G, Ratschmann R, Mascher H, et al. Long-term stability of amino acids and acylcarnitines in dried blood spots. *Clin Chem.* 2007; 53(4): 717-722. doi: 10.1373/clinchem.2006.076679
14. Mussap M, Antonucci R, Noto A, Fanos V. The role of metabolomics in neonatal and pediatric laboratory medicine. *Clin Chim Acta.* 2013; 426: 127-138. doi: 10.1016/j.cca.2013.08.020
15. Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова: официальный сайт. URL: <https://med-gen.ru> [дата доступа: 02.04.2022].
16. Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH. *Mass-Chrom® amino acids and acylcarnitines from dried blood – LC-MS/MS.* URL: <https://chromsystems.com/> [date of access: 04.04.2022].
17. Yang CJ, Wei N, Li M, Xie K, Li JQ, Huang CG, et al. Diagnosis and therapeutic monitoring of inborn errors of metabolism in 100,077 newborns from Jining city in China. *BMC Pediatr.* 2018; 18(1): 1-8. doi: 10.1186/s12887-018-1090-2
18. Tangeraas T, Sæves I, Klingenberg C, Jørgensen J, Kristensen E, Gunnarsdottir G, et al. Performance of expanded newborn screening in Norway supported by post-analytical bioinformatics tools and rapid second-tier DNA analyses. *Int J Neonatal Screen.* 2020; 6(3): 51. doi: 10.3390/ijns6030051
19. Schmidt JA, Rinaldi S, Ferrari P, Carayol M, Achaintre D, Scalbert A, et al. Metabolic profiles of male meat eaters, fish eaters, vegetarians, and vegans from the EPIC-Oxford cohort. *Am J Clin Nutr.* 2015; 102(6): 1518-1526. doi: 10.3945/ajcn.115.111989
20. Баирова Т.А., Долгих В.В., Колесникова Л.И., Первушина О.А. Нутрициогенетика и факторы риска сердечно-сосудистой патологии: ассоциативные исследования в популяциях Восточной Сибири. *Acta biomedica scientifica.* 2013; (4): 87-92.
21. Vieira Neto E, Fonseca AA, Almeida RF, Figueiredo, MP, Porto MAS, Ribeiro MG. Analysis of acylcarnitine profiles in umbilical cord blood and during the early neonatal period by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Braz J Med Biol Res.* 2012; 45(6): 546-556. doi: 10.1590/S0100-879X2012007500056
22. De T, Kruthika-Vinod TP, Nagaraja D, Christopher R. Post-natal variations in blood free and acylcarnitines. *J Clin Lab Anal.* 2011; 25(2): 126-129. doi: 10.1002/jcla.20445
23. Nagan N, Kruckeberg KE, Tauscher AL, Bailey KS, Rinaldo P, Matern D. The frequency of short-chain acyl-CoA dehydrogenase gene variants in the US population and correlation with the C4-acylcarnitine concentration in newborn blood spots. *Mol Genet Metab.* 2003; 78(4): 239-246. doi: 10.1016/S1096-7192(03)00034-9
24. Orphanet. URL: <https://www.orpha.net/> [date of access: 12.06.2022].
25. Clayton PT, Eaton S, Aynsley-Green A, Edginton M, Hussain K, Krywawych S, et al. Hyperinsulinism in short-chain L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency reveals the importance of β -oxidation in insulin secretion. *J Clin Invest.* 2001; 108(3): 457-465. doi: 10.1172/JCI11294
26. Darenskaya M, Grebenkina L, Gnusina S, Kolesnikov S, Kolesnikova L. Parameters of antioxidant defense system in patients with diabetes mellitus from various ethnicity. *Diabetes Technol Ther.* 2018; 20(1): 142-143.
27. Иевлева К.Д., Баирова Т.А., Калюжная О.В., Первушина О.А., Рычкова Л.В., Колесникова Л.И., и др. Ген фолатного цикла MTHFR и питание. *Acta biomedica scientifica.* 2016; 1(3-2): 138-144.
28. Rhead WJ. Newborn screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: A global perspective. *J Inherit Metab Dis.* 2006; 29(2-3): 370-377. doi: 10.1007/s10545-006-0292-1
29. Anderson DR, Viau K, Botto LD, Pasquali M, Longo N. Clinical and biochemical outcomes of patients with medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Mol Gen Metab.* 2020; 129(1): 13-19. doi: 10.1016/j.ymgme.2019.11.006
30. Browning MF, Larson C, Strauss A, Marsden DL. Normal acylcarnitine levels during confirmation of abnormal newborn screening in long-chain fatty acid oxidation defects. *J Inherit Metab Dis.* 2005; 28(4): 545-550. doi: 10.1007/s10545-005-0545-4
31. Stinton C, Fraser H, Geppert J, Johnson R, Connock M, Johnson S. Newborn screening for long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase and mitochondrial trifunctional protein deficiencies using acylcarnitines measurement in dried blood spots – A systematic review of test accuracy. *Front Pediatr.* 2021; 9: 110. doi: 10.3389/fped.2021.606194
32. Walter JH, Patterson A, Till J, Besley GTN, Fleming G, Henderson MJ. Bloodspot acylcarnitine and amino acid analysis in cord blood samples: Efficacy and reference data from a large cohort study. *J Inherit Metab Dis.* 2009; 32(1): 95-101. doi: 10.1007/s10545-008-1047-y

REFERENCES

1. Nikolayeva EA, Mamedov IS. Hereditary fatty acid metabolic defects in children: diagnosis and treatment. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii*. 2009; 54(2): 51-65. (In Russ.).
2. Nikolayeva EA, Shulyakova IV, Tsygankova PG, Baidakova GV, Zakharova EYu, Belousova ED. Symptomatic epilepsy as a manifestation of very long chain acyl-coa dehydrogenase deficiency. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii*. 2008; 53(3): 87-91. (In Russ.).
3. Ruiz-Sala P, Peña-Quintana L. Biochemical markers for the diagnosis of mitochondrial fatty acid oxidation diseases. *J Clin Med*. 2021; 10(21): 4855. doi: 10.3390/jcm10214855
4. La Marca G. Mass spectrometry in clinical chemistry: the case of newborn screening. *J Pharm Biomed Anal*. 2014; 101: 174-182. doi: 10.1016/j.jpba.2014.03.047
5. Knottnerus SJ, Bleeker JC, Wüst RC, Ferdinandusse S, IJlst L, Wijburg FA, et al. Disorders of mitochondrial long-chain fatty acid oxidation and the carnitine shuttle. *Rev Endocr Metab Disord*. 2018; 19(1): 93-106. doi: 10.1007/s11154-018-9448-1
6. McHugh D, Cameron CA, Abdenur JE, Abdulrahman M, Adair O, Al Nuaimi SA, et al. Clinical validation of cutoff target ranges in newborn screening of metabolic disorders by tandem mass spectrometry: A worldwide collaborative project. *Genet Med*. 2011; 13(3): 230-254. doi: 10.1097/GIM.0b013e31820d5e67
7. Céspedes N, Valencia A, Echeverry CA, Arce-Plata MI, Colón C, Castiñeiras DE, et al. Reference values of amino acids, acylcarnitines and succinylacetone by tandem mass spectrometry for use in newborn screening in southwest Colombia. *Colombia Médica*. 2017; 48(3): 113-119. doi: 10.25100/cm.v48i3.2180
8. Zhang C, Dha D, Cheng Y, Ma Y, Meng Y, Tse D, et al. An investigation of amino acid and acylcarnitine levels in neonates from the Tibet Autonomous. *Research Square [Preprint]*. 2019. doi: 10.21203/rs.2.18538/v1
9. Bermúdez A, Robayo D, Porras G, Acosta MA. Amino acids and acylcarnitines reference values for neonatal screening of inborn errors of metabolism in colombia by tandem mass spectrometry. *J Inborn Errors Metab Screeng*. 2021; 9. doi: 10.1590/2326-4594-JIEMS-2021-0012
10. The Union of Pediatricians of Russia. *Clinical guidelines. Disorders in mitochondrial β -oxidation of fatty acids*. URL: <https://www.pediatr-russia.ru/> [date of access: 06.05.2022]. (In Russ.).
11. Sarker SK, Islam MT, Biswas A, Bhuyan GS, Sultana R, Sultana N, et al. Age-specific cut-off values of amino acids and acylcarnitines for diagnosis of inborn errors of metabolism using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *BioMed Res Int*. 2019; 2019: 3460902. doi: 10.1155/2019/3460902
12. He F, Yang R, Huang X, Tian Y, Pei X, Bohn MK, et al. Reference standards for newborn screening of metabolic disorders by tandem mass spectrometry: A nationwide study on millions of Chinese neonatal populations. *Frontiers Mol Biosci*. 2021; 8: 719866. doi: 10.3389/fmolb.2021.719866
13. Strnadova KA, Holub M, Muhl A, Heinze G, Ratschmann R, Mascher H, et al. Long-term stability of amino acids and acylcarnitines in dried blood spots. *Clin Chem*. 2007; 53(4): 717-722. doi: 10.1373/clinchem.2006.076679
14. Mussap M, Antonucci R, Noto A, Fanos V. The role of metabolomics in neonatal and pediatric laboratory medicine. *Clin Chim Acta*. 2013; 426: 127-138. doi: 10.1016/j.cca.2013.08.020
15. Research Centre for Medical Genetics. URL: <https://med-gen.ru> [date of access: 02.04.2022]. (In Russ.).
16. Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH. *Mass-Chrom® amino acids and acylcarnitines from dried blood – LC-MS/MS*. URL: <https://chromsystems.com/> [date of access: 04.04.2022].
17. Yang CJ, Wei N, Li M, Xie K, Li JQ, Huang CG, et al. Diagnosis and therapeutic monitoring of inborn errors of metabolism in 100,077 newborns from Jining city in China. *BMC Pediatr*. 2018; 18(1): 1-8. doi: 10.1186/s12887-018-1090-2
18. Tangeraas T, Sæves I, Klingenberg C, Jørgensen J, Kristensen E, Gunnarsdottir G, et al. Performance of expanded newborn screening in Norway supported by post-analytical bioinformatics tools and rapid second-tier DNA analyses. *Int J Neonatal Screen*. 2020; 6(3): 51. doi: 10.3390/ijns6030051
19. Schmidt JA, Rinaldi S, Ferrari P, Carayol M, Achaintre D, Scalbert A, et al. Metabolic profiles of male meat eaters, fish eaters, vegetarians, and vegans from the EPIC-Oxford cohort. *Am J Clin Nutr*. 2015; 102(6): 1518-1526. doi: 10.3945/ajcn.115.111989
20. Bairova TA, Dolgikh VV, Kolesnikova LI, Pervushina OA. Nutritciogenetics and risk factors of cardiovascular disease: Associated research in Eastern Siberia populations. *Acta biomedica scientifica*. 2013; (4): 87-92. (In Russ.).
21. Vieira Neto E, Fonseca AA, Almeida RF, Figueiredo MP, Porto MAS, Ribeiro MG. Analysis of acylcarnitine profiles in umbilical cord blood and during the early neonatal period by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Braz J Med Biol Res*. 2012; 45(6): 546-556. doi: 10.1590/S0100-879X2012007500056
22. De T, Kruthika-Vinod TP, Nagaraja D, Christopher R. Postnatal variations in blood free and acylcarnitines. *J Clin Lab Anal*. 2011; 25(2): 126-129. doi: 10.1002/jcla.20445
23. Nagan N, Kruckeberg KE, Tauscher AL, Bailey KS, Rinaldo P, Matern D. The frequency of short-chain acyl-CoA dehydrogenase gene variants in the US population and correlation with the C4-acylcarnitine concentration in newborn blood spots. *Mol Genet Metab*. 2003; 78(4): 239-246. doi: 10.1016/S1096-7192(03)00034-9
24. Orphanet. URL: <https://www.orpha.net/> [date of access: 12.06.2022].
25. Clayton PT, Eaton S, Aynsley-Green A, Edginton M, Hussain K, Krywawych S, et al. Hyperinsulinism in short-chain L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency reveals the importance of β -oxidation in insulin secretion. *J Clin Invest*. 2001; 108(3): 457-465. doi: 10.1172/JCI11294
26. Darenskaya M, Grebenkina L, Gnusina S, Kolesnikov S, Kolesnikova L. Parameters of antioxidant defense system in patients with diabetes mellitus from various ethnicity. *Diabetes Technol Ther*. 2018; 20(1): 142-143.
27. Ievleva KD, Bairova TA, Kalyuzhnaya OV, Pervushina OA, Rychkova LV, Kolesnikova LI, et al. Gene of folate cycle *MTHFR* and nutrition. *Acta biomedica scientifica*. 2016; 1(3-2): 138-144. (In Russ.).
28. Rhead WJ. Newborn screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: A global perspective. *J Inher Metab Dis*. 2006; 29(2-3): 370-377. doi: 10.1007/s10545-006-0292-1
29. Anderson DR, Viau K, Botto LD, Pasquali M, Longo N. Clinical and biochemical outcomes of patients with medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Mol Gen Metab*. 2020; 129(1): 13-19. doi: 10.1016/j.ymgme.2019.11.006
30. Browning MF, Larson C, Strauss A, Marsden DL. Normal acylcarnitine levels during confirmation of abnormal newborn

screening in long-chain fatty acid oxidation defects. *J Inherit Metab Dis*. 2005; 28(4): 545-550. doi: 10.1007/s10545-005-0545-4

31. Stinton C, Fraser H, Geppert J, Johnson R, Connock M, Johnson S. Newborn screening for long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase and mitochondrial trifunctional protein deficiencies using acylcarnitines measurement in dried blood spots –

A systematic review of test accuracy. *Front Pediatr*. 2021; 9: 110. doi: 10.3389/fped.2021.606194

32. Walter JH, Patterson A, Till J, Besley GTN, Fleming G, Henderson MJ. Bloodspot acylcarnitine and amino acid analysis in cord blood samples: Efficacy and reference data from a large cohort study. *J Inherit Metab Dis*. 2009; 32(1): 95-101. doi: 10.1007/s10545-008-1047-y

Сведения об авторах

Немчинова Надежда Владимировна – лаборант-исследователь лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nemchinova.nad@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9720-8750>

Баирова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: tbairova38@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3704-830X>

Бельских Алексей Владимирович – кандидат химических наук, инженер лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: alex590750@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3678-7274>

Бугун Ольга Витальевна – доктор медицинских наук, заместитель директора по клинической работе – главный врач клиники, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: clinica_zam1@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2162-3683>

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2910-0737>

Information about the authors

Nadezhda V. Nemchinova – Research Assistant at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nemchinova.nad@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9720-8750>

Tatyana A. Bairova – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: tbairova38@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3704-830X>

Aleksey V. Belskikh – Cand. Sc. (Chem.), Engineer at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: alex590750@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3678-7274>

Olga V. Bugun – Dr. Sc. (Med.), Deputy Director for Clinical Work – Chief Physician of the Clinics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: clinica_zam1@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2162-3683>

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2910-0737>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

RESISTANCE OF *RHODOCOCCUS RUBER* BIOFILMS TO CUO NANOPARTICLES DEPENDING ON EXOPOLYMER MATRIX COMPOSITION

Bayandina E.A.¹,
Glebov G.G.^{1,2},
Kuyukina M.S.^{1,2},
Ivshina I.B.^{1,2}

¹ Perm State University
(Bukireva str. 15, Perm 614068,
Russian Federation)

² Institute of Ecology and Genetics
of Microorganisms, Perm Federal
Research Center of the Ural Branch
of the Russian Academy of Sciences
(Goleva str. 13, Perm 614081,
Russian Federation)

Corresponding author:

Elena A. Bayandina,
e-mail: elenabaiandinapsu@gmail.com

ABSTRACT

Background. The widespread use of copper oxide nanoparticles (CuO NPs) increases their release into the environment, which leads to accumulation in trophic chains. Bacterial biofilms are more resistant to physico-chemical factors compared to planktonic cells due to an exopolymer matrix (EPM) consisting of polysaccharides, proteins, lipids and nucleic acids. *Rhodococcus actinobacteria* are promising for environmental biotechnology due to biodegradation of petroleum products, pesticides and other organic pollutants, as well as bioaccumulation of heavy metals.

The aim. To investigate effects of CuO NPs on the viability of *Rhodococcus ruber* IEGM 231 cells in biofilms and the dynamics of EPM components.

Methods. *R. ruber* biofilms were grown on microscopy cover glass with CuO NPs and EPM components were studied using confocal laser scanning microscopy (CLSM) by differentiating staining with LIVE/DEAD to determine the number of living and dead cells, Nile Red for lipids, FITC for proteins and Calcofluor White for beta-polysaccharides.

Results. It was found that *R. ruber* biofilms grown in a mineral medium with 1.0 vol.% *n*-hexadecane are more resistant to CuO NPs compared to biofilms growing in a rich culture medium (meat-peptone broth). This was due to more intensive EPM formation, which plays a major role in protecting cells from the bactericidal action of nanometals. A weak stimulating effect of a low (0.001 g/l) concentration of CuO NPs on biofilm formation was registered. Dynamics and localization of main EPM components were monitored during prolonged (24–72 h) biofilm cultivation with CuO NPs. When exposed to high (0.01–0.1 g/l) concentrations of CuO NPs, a consistently high lipid content and an increase in concentrations of polysaccharides and proteins were revealed.

Conclusion. Understanding the complex interaction mechanisms of nanometals and biofilms will contribute to the development of effective biocatalysts based on immobilized bacterial cells. Also, the obtained data can be used to combat unwanted biofilms with the help of metal nanoparticles.

Key words: biofilms, *Rhodococcus*, metal nanoparticles, confocal laser scanning microscopy, exopolymer matrix

Received: 02.06.2022

Accepted: 21.09.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Bayandina E.A., Glebov G.G., Kuyukina M.S., Ivshina I.B. Resistance of *Rhodococcus ruber* biofilms to CuO nanoparticles depending on exopolymer matrix composition. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 100-109. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.11

УСТОЙЧИВОСТЬ БИОПЛЁНОК *RHODOCOCCLUS RUBER* К НАНОЧАСТИЦАМ CuO В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОСТАВА ЭКЗОПОЛИМЕРНОГО МАТРИКСА

Баяндина Е.А.¹,
Глебов Г.Г.^{1,2},
Куюкина М.С.^{1,2},
Ившина И.Б.^{1,2}

¹ ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет» (614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15, Россия)

² Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН (614081, г. Пермь, ул. Голева, 13, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Баяндина Елена Александровна,
e-mail: elenabaiandinapsu@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Введение. Широкое использование наночастиц оксида меди (HЧ CuO) увеличивает их выброс в окружающую среду, что приводит к накоплению в трофических цепях. Бактериальные биоплёнки более устойчивы к физико-химическим факторам по сравнению с планктонными клетками благодаря экзополимерному матриксу (ЭПМ), состоящему из полисахаридов, белков, липидов и нуклеиновых кислот. Актинобактерии рода *Rhodococcus* перспективны для экобиотехнологии благодаря способности к биодеградации нефтепродуктов, пестицидов и других органических загрязнителей, а также биоаккумуляции тяжёлых металлов.

Цель исследования. Изучить влияние HЧ CuO на жизнеспособность клеток *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 231 в биоплёнках и динамику основных компонентов ЭПМ.

Материалы и методы. Биоплёнки *R. ruber* выращивали на покровных стёклах в присутствии HЧ CuO , компоненты ЭПМ изучали с помощью конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (КЛСМ) путём дифференцирующего окрашивания флуорофорами: LIVE/DEAD – для живых и мёртвых клеток; Nile Red – для липидов; FITC – для белков; Calcofluor White – для бета-полисахаридов.

Результаты. Биоплёнки *R. ruber*, выращенные в минеральной среде с 1,0 об.% n-гексадекана , были более устойчивы к HЧ CuO по сравнению с биоплёнками, растущими в полноценной питательной среде (МПБ). Это обусловлено более интенсивным формированием ЭПМ, играющего основную роль в защите клеток от бактерицидного действия нанометалла. Показан слабый стимулирующий эффект низкой (0,001 г/л) концентрации HЧ CuO на биоплёнокообразование родококков. Изучены динамика и локализация основных компонентов ЭПМ биоплёнок при длительном (24–72 ч) культивировании с HЧ CuO . Выявлено повышенное содержание липидного компонента ЭПМ, увеличение относительного содержания полисахаридов и белков при воздействии высоких (0,01–0,1 г/л) концентраций HЧ CuO .

Заключение. Понимание механизмов взаимодействия нанометаллов и биоплёнок родококков будет способствовать созданию эффективных биокатализаторов на их основе и способов очистки окружающей среды. Полученные данные могут также использоваться для борьбы с нежелательными биоплёнками с помощью наночастиц металлов.

Ключевые слова: биоплёнки, *Rhodococcus*, наночастицы металлов, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия, экзополимерный матрикс

Для цитирования: Баяндина Е.А., Глебов Г.Г., Куюкина М.С., Ившина И.Б. Устойчивость биоплёнок *Rhodococcus ruber* к наночастицам CuO в зависимости от состава экзополимерного матрикса. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 100-109. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.11

Статья поступила: 02.06.2022

Статья принята: 21.09.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

INTRODUCTION

Due to monoclinic structure, superheat conductivity, high stability and antimicrobial activity, CuO NPs are used as an active catalyst, gas sensor, highly efficient heat-conducting material, in magnetic recording media and solar panels, in agriculture in the form of fertilizers, as well as antimicrobial agents [1–3]. CuO NPs can accumulate in living organisms and exhibit a cytotoxic effect on animals, plants and microorganisms. Antimicrobial activity of nanometals usually includes adsorption on the cell wall, subsequent penetration into cells and damage to cellular compartments. The main mechanisms of nanometal toxicity are increased production of reactive oxygen species (ROS) and membranotropic action [4]. However, despite the growing use and accumulation of CuO NPs in the environment, the toxicological aspects of their effects on living organisms, in particular bacterial cells and their communities, have not been sufficiently studied.

Biofilms are complex, structurally organized communities consisting of microbial cells and associated exopolymer matrix (EPM), which consists mainly of polysaccharides, proteins, lipids and nucleic acids. Biofilm formation can be considered as a way of bacterial growth that protects cells, thereby allowing them to survive in a stressful environment (under strong ultraviolet radiation, dehydration, in the presence of antibiotics) [5–7], as well as to protect cells from predators and parasites [8]. Due to the protective properties of EPM, microbial biofilms are more resistant to physico-chemical stresses compared to planktonic cells, leading to a decrease in the effectiveness of antimicrobial agents and problems in medical practice. However, along with undesirable biofilms, the biofilm formation process has a positive value, for example, when developing heterogeneous biocatalysts consisting of microbial cells immobilized on solid carriers.

Actinobacteria of the genus *Rhodococcus* are known for their bioremediation potential due to their ability to degrade complex organic pollutants such as petroleum hydrocarbons, pesticides and other xenobiotics, accumulate and inactivate heavy metal ions [9]. Biocatalysts based on immobilized *Rhodococcus* cells are used for the treatment of oily wastewater and bioremediation of polluted ecosystems [10]. Previously, it was shown that treatment with nickel nanoparticles increased the efficiency of biopurification of water contaminated with jet fuel in a bioreactor with immobilized rhodococci [11]. Therefore, a fundamental understanding of the interactions between nanometals and *Rhodococcus* biofilms can contribute to the development of more effective biocatalysts and environmental purification strategies. In addition, some representatives of this genus are pathogenic – *R. corynebacterioides* and “*Rhodococcus fascians* assemblage”, causing bacteriosis of fruit and berry plants, and “*Rhodococcus equi* (*Rhodococcus hoagii/Prescottella equi*)” causing human and animal diseases [12], which raises the question of combating unwanted *Rhodococcus* biofilms.

Fluorescence microscopy methods and, in particular, modern confocal laser scanning microscopy (CLSM),

are widely used in biofilm studies, since they allow quantitative analysis of the components of the EPM without its destruction using differentiating fluorescent staining [13].

The purpose of this work is to study the effect of CuO NPs on the viability of *Rhodococcus ruber* cells in biofilms and the dynamics of the main (polysaccharides, proteins and lipids) components of EPM.

MATERIALS AND METHODS

The used strain *Rhodococcus ruber* IEGM 231 was from the Regional Specialised Collection of Alkanotrophic Microorganisms (acronym IEGM; WFCC/WDCM #768; www.iegmc.ru). Cultivation of biofilms on microscopy 24 × 50 × 0.15 mm coverslips (Gerhard Menzel, UK) was carried out in parallel in meat-peptone broth (Nutrient Broth) (Biotechnology LLC, Russia) and liquid mineral medium K [14] with 1.0 vol.% *n*-hexadecane, in 150 ml Erlenmeyer flasks with constant stirring (130 rpm), 28 °C for 24–72 hours. Biofilms were obtained under dynamic conditions for uniform cell adhesion to glass.

CuO NPs in the form of nano-powder (Equilibrium LLC, Saransk, Russia) were suspended in a phosphate buffer (PBS) and processed using Soniprep 150 ultrasonic homogenizer (MSE, UK) immediately before use. Ultrasound-treated suspensions of CuO NPs were introduced in tenfold concentrations (0.001–0.1 g/l) to daily growing biofilms and cultured under dynamic conditions (130 rpm; 28 °C) for 24–72 hours.

CLSM scanning was performed on a FluoView 1000 microscope (Olympus Corporation, Japan) using an immersion lens (×100, numerical aperture 1.4). The cover glass with the grown biofilm was dried in air for 10–15 minutes, then the fluorescent dye LIVE/DEAD® BacLight™ Bacterial Viability Kit (Invitrogen, USA) was added and left in a dark place for 15–20 minutes. The sample was washed with deionized water to remove dye residues, media and planktonic cells. To excite the fluorescence of SYTO9 and Propidium Iodide (PI), which are part of the LIVE/DEAD dye, an argon laser (λ = 488 nm) with a 505/525 nm barrier filter and a helium-neon laser (λ = 543 nm) with a 560/660 nm barrier filter were used. Image analysis was performed using the FV10-ASW 3.1 program (Olympus Corporation, Japan).

Visualization and quantitative analysis of EPM components were performed by three-component staining of samples with the following fluorescent dyes: Nile Red (Invitrogen, USA), FITC (Invitrogen, USA), Calcofluor White (CFW) (Sigma, USA), staining lipids, proteins and beta-polysaccharides, respectively. Staining was performed sequentially: first, 1 mg of Nile Red was dissolved in 1 ml of dimethyl sulfoxide (DMSO), 15 µl of dye was applied to cover glass with a grown biofilm and kept in a dark place for 30 minutes. Then 1 mg of FITC was dissolved in 100 µl of DMSO, 15 µl of dye was applied to the biofilm preparation and kept in a dark place for 30 min. Finally, 15 ml of the commercial CFW solution was applied to the preparation and kept in a dark place for 2–3 minutes. The preparation was washed with deionized water to remove the remnants of dyes, plankton cells and the medium, and a CLSM scanning was per-

formed under the same conditions. To excite the fluorescence of Nile Red, FITC and CFW, an argon and helium-neon laser with a wavelength of 405, 488 and 543 nm and a barrier filter of 430/470, 505/525 and 560/660 nm, respectively, were used. The scans were processed in the FV10-ASW 3.1 program (Olympus Corporation, Japan). The biofilm growth was estimated by the total fluorescence intensity of its components. For quantitative analysis of EPM components (lipids, proteins and beta-polysaccharides), 20 similar ROI (regions of interest) were isolated on the scan and the fluorescence intensity of the isolated sites was determined. The adhesion of bacteria to the cover glass was evaluated in dynamics by the average number of attached cells per 1 mm². The parameters of each sample were measured using 5 fields of view.

The obtained data were subjected to statistical analysis using a standard Excel program, calculating the average value and standard deviation ($m \pm SD$). The reliability of the differences between the mean data was determined using the Student's unpaired t-test.

RESULTS AND DISCUSSION

According to our data (Fig. 1), the viability of *R. ruber* IEGM 231 cells in biofilms grown in Nutrient Broth decreased by 60–90 % when exposed to elevated (0.01–0.1 g/l) concentrations of CuO NPs. Moreover, an increase in the duration of biofilm cultivation in the presence of 0.1 g/l CuO NPs enhanced their toxic effect. The results obtained are consistent with the data of other studies [15–17], reporting a pronounced inhibitory effect of copper nanoxide against microbial biofilms and planktonic cells.

However, when growing biofilms in a mineral medium with *n*-hexadecane, a higher resistance of *R. ruber* to CuO NPs was observed, especially noticeable at elevated concentrations of nanometal (the number of viable cells was 5.5–14 times higher compared to biofilms grown in Nutrient Broth). Thus, after 48–72 h cultivation in the presence of hydrocarbon and CuO NPs, the viability of cells in biofilms de-

creased by only 4–30 % compared to control samples. Earlier, a similar increase in the resistance of *Rhodococcus* to antibiotics was revealed after the transfer of the culture from a predominantly carbohydrate (Nutrient Broth) medium to a hydrocarbon substrate [14], although this fact with a higher biofilm tolerance to nanometal was shown for the first time in the present study. It should be noted that the control biofilms grown on *n*-hexadecane were formed by a large accumulation of cells, of which 80–90 % were viable (Fig. 2). The appearance of dead cells in the biofilm under optimal growth conditions is natural during its formation [18].

Biofilm formation is a complex dynamic process involving several stages: cell adhesion and distribution on the substrate surface, active cell division to form cell colonies or clusters and, ultimately, the formation of EPM [19]. The adhesive activity of bacteria is largely determined by the properties of the cell surface, primarily by the degree of its hydrophobicity [20], which is significantly influenced by culture conditions. *Rhodococcus* cells co-adhere better when growing on hydrophobic substrates [12]. This effect is due to the increased content of lipids, in particular saturated fatty acids and neutral phospholipids, in the cells grown in the presence of *n*-hexadecane [12, 14]. Also, when growing on hydrocarbons, rhodococci synthesize glycolipid biosurfactants that promote cell adhesion both to the substrate and to each other (co-adhesion) [21]. Co-adhesion, the formation of cellular aggregates, is a physiological adaptation of bacteria to protect against adverse environmental conditions [12]. The obtained CLSM scans of *R. ruber* biofilms (Fig. 2) show that when exposed to high concentrations of CuO NPs, viable cells are embedded in a matrix formed by dead cells and biomolecules – EPM components. According to our data (Fig. 2, Table. 1), the number of *R. ruber* in growing biofilms was 2–5 times lower at the maximum concentration of CuO NPs compared to the control, which indicates the inhibition of physiological processes of bacterial adhesion and co-adhesion by nanometal. Interestingly, the lowest (0.001 g/l) of the studied concentrations of CuO NPs stimulated the biofilm formation in the first 24 h of cultivation (Table 1).

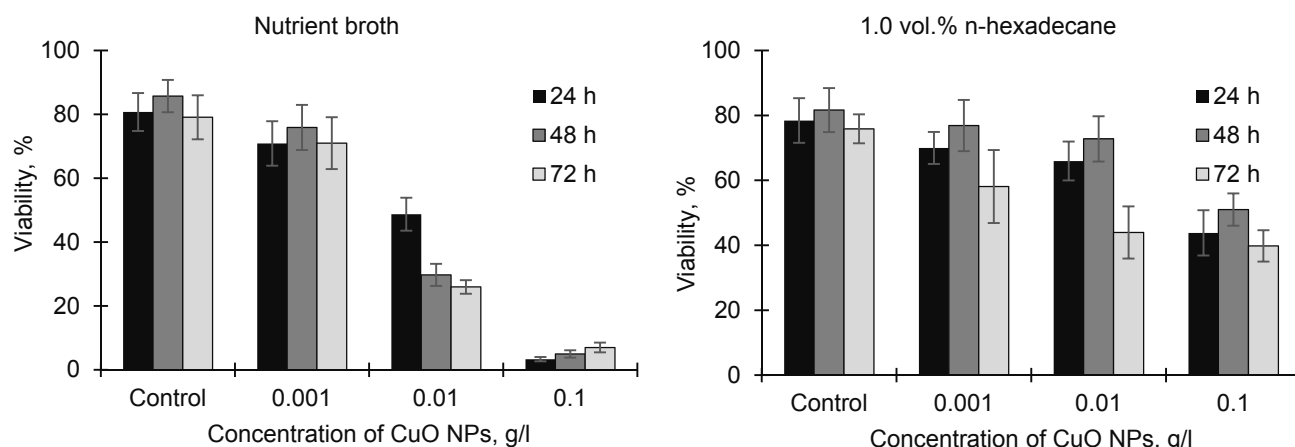


FIG. 1.

The effect of CuO NPs on the viability of *R. ruber* IEGM 231 cells in biofilms grown on different media

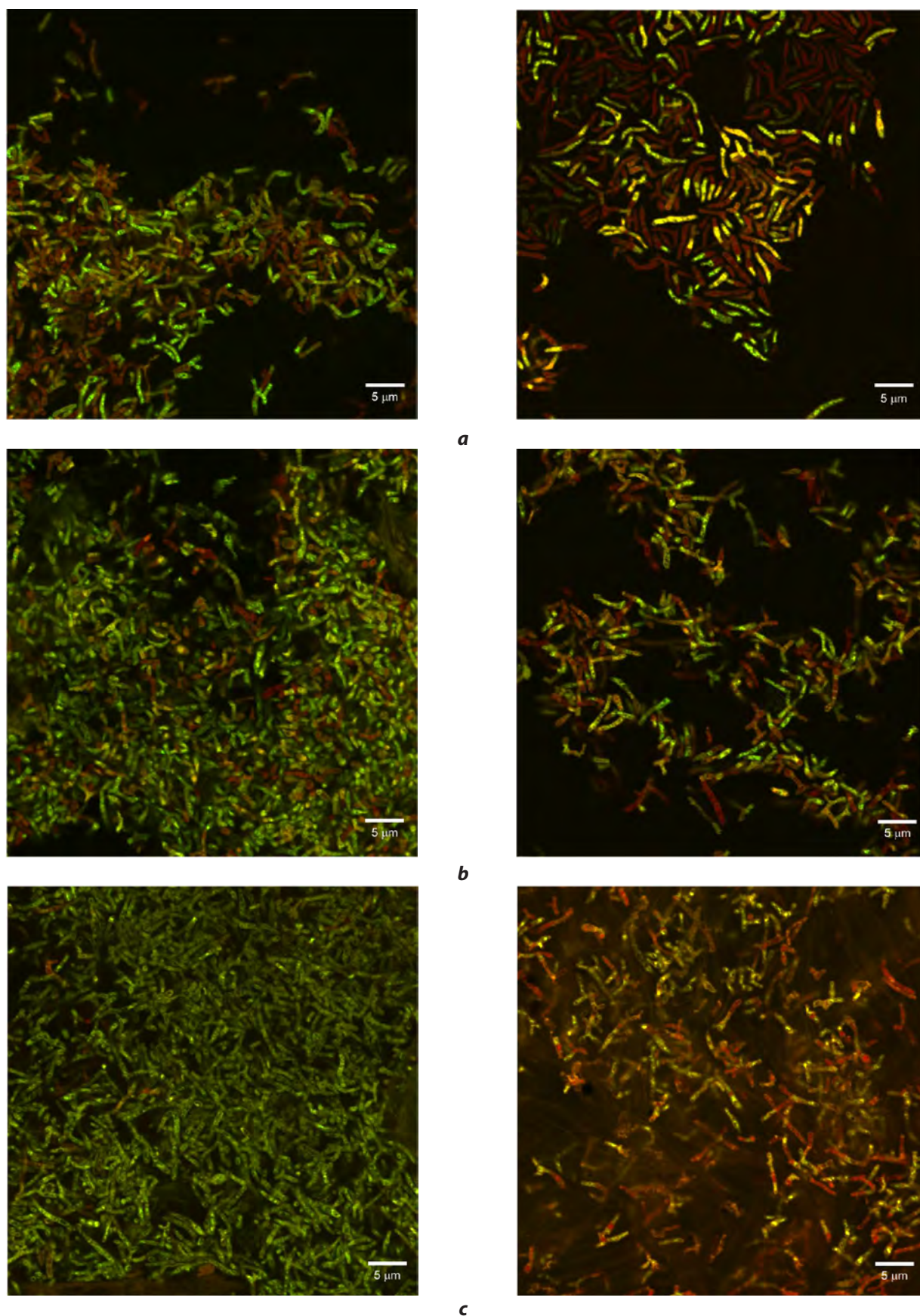


FIG. 2.

CLSM-images of *R. ruber* IEGM 231 biofilms grown in a mineral medium with 1 vol.% *n*-hexadecane for 24 (**a**), 48 (**b**) and 72 (**c**) hours and stained with LIVE/DEAD® fluorescent dye to detect live (green) and dead (red) cells. On the left panel – control biofilms; on the right panel – biofilms cultivated in the presence of 0.1 g/l CuO NPs

According to [22], the interaction of metal nanoparticles with biofilms can be described by three sequential mechanisms: transfer of NPs to the biofilm – liquid interface, attachment to the biofilm surface (outer region), and migration inside the biofilm matrix. Upon NPs contact with the polymer compounds of the matrix, a “biomolecular corona” is formed,

which leads to a change in the surface properties of the nano-metal [23] and, consequently, partial neutralization of its toxic properties. It is possible that biosurfactants released by *Rhodococcus* when growing on a hydrophobic substrate are able to bind to metal NPs, similar to their metal-chelating action against heavy metal ions [24], and neutralize their toxic effects.

TABLE 1
DYNAMICS OF *R. RUBER* IEGM 231 NUMBERS (CELLS/MM²) IN BIOFILMS GROWN IN THE PRESENCE OF VARIOUS CONCENTRATIONS (G/L) OF CUO NPS

Time, h	Control	0.001	0.01	0.1
24	$(4.17 \pm 0.3) \times 10^4$	$(5.71 \pm 0.5) \times 10^4$	$(4.07 \pm 0.42) \times 10^4$	$(1.76 \pm 0.37) \times 10^4$
48	$(8.12 \pm 1.04) \times 10^4$	$(6.94 \pm 0.98) \times 10^4$	$(0.23 \pm 0.29) \times 10^4$	$(2.69 \pm 0.14) \times 10^4$
72	$(10.4 \pm 1.3) \times 10^4$	$(4.84 \pm 0.42) \times 10^4$	$(3.86 \pm 0.17) \times 10^4$	$(3.94 \pm 0.41) \times 10^4$

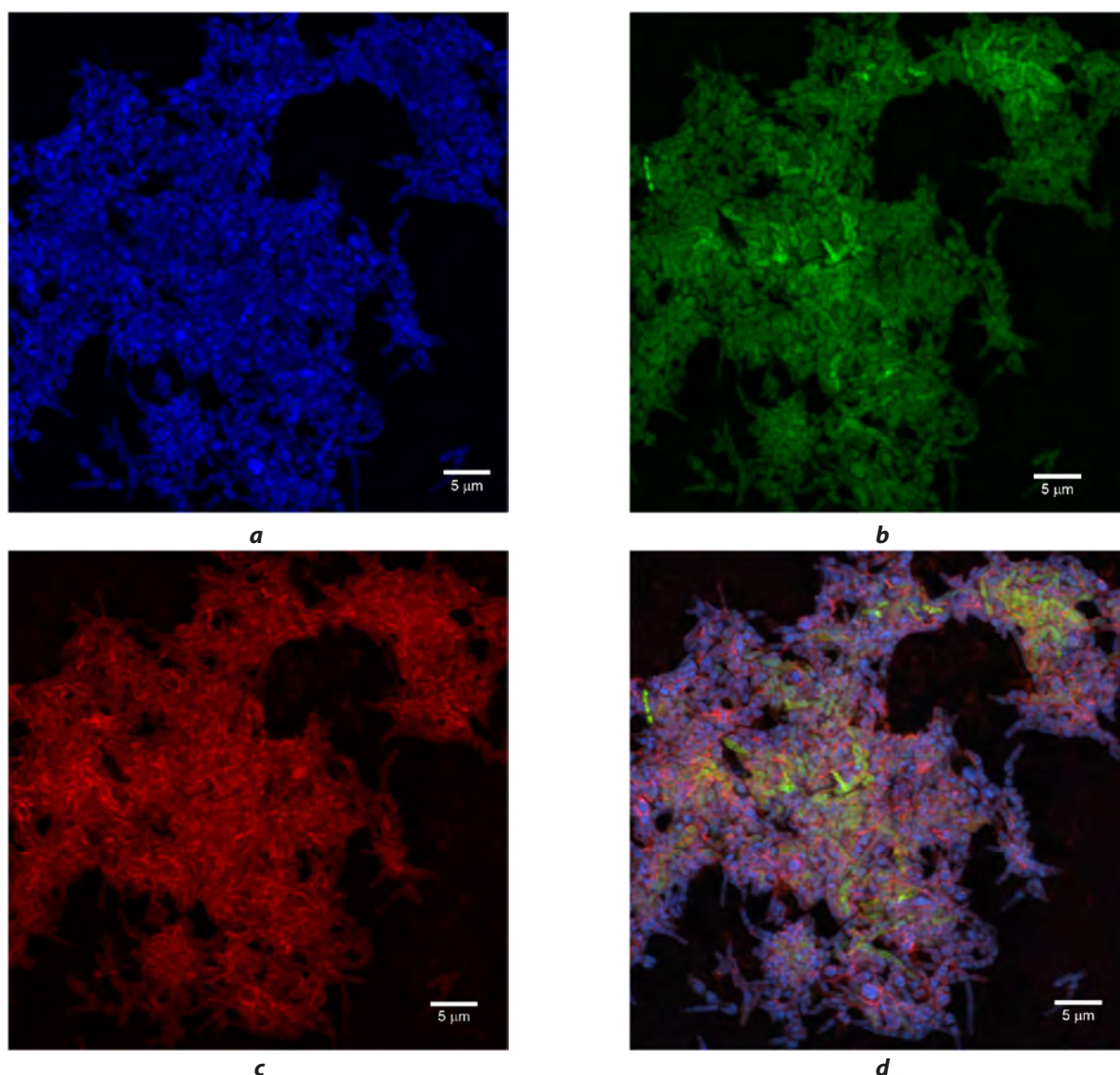


FIG. 3.
CLSM-images of *R. ruber* IEGM 231 control biofilms grown in a mineral medium with 1 vol.% *n*-hexadecane for 24 hours and stained with fluorescent dyes: FITC (a), CW (b), NileRed (c), and their combined image (d)

Using a modified method of sequential multicolored staining [25], clear differential fluorescence signals of CFW, FITC and Nile Red dyes were obtained with *R. ruber* IEGM 231 biofilms, which allowed visualizing and quantifying the EPM components: beta-polysaccharides, proteins and lipids (Fig. 4).

It is known [13, 26] that proteins and polysaccharides provide binding of EPM molecules and restrict the movement of newly dividing bacterial cells inside the matrix, keeping them in close contact with each other, which contributes to the maturation of the biofilm. In addition, polysaccharides and proteins are involved in the initial stages of colonization and temporary immobilization of bacterial cells on surfaces [27].

Analysis of the intensity dynamics of fluorescent signals revealed (Fig. 4) a gradual uniform increase in the content of all three components of EPM (polysaccharides, proteins and lipids) in control *R. ruber* IEGM 231 biofilms throughout the entire cultivation period. The introduction of low (0.001–0.01 g/l) concentrations of CuO NPs led only to a slight increase in the content of matrix components by 24 hours of cultivation, which is consistent with insignificant effects of these nanometal concentrations on cell viability in biofilms and even stimulating the biofilm formation on the first day of exposure to the minimum CuO NPs concentration (Fig. 2, Table 1).

In the next two days, a significant difference was revealed in the dynamics of EPM accumulation in biofilms at relatively low concentrations of nanometal. Thus, when exposed to a minimum (0.001 g/l) concentration of CuO NPs, the relative content of polysaccharides, proteins and lipids remained stably low, whereas the effect of a 10-fold higher (0.01 g/l) concentration of CuO NPs was a sharp increase in all EPM components after 72 h of cultivation. A similar increase in the quantitative composition of EPM was detected in the first 24 h of biofilm cultivation in the presence of the maximum (0.1 g/l) studied concentration of CuO NPs, and these dynamics was main-

tained throughout the experiment. The obtained data correlate with the revealed higher resistance of *R. ruber* biofilms to copper nanoxide when grown in a medium with hydrocarbon, and clearly indicate the increasing protective role of EPM with an increase in stress exposure.

Since the development of biofilms on the first day of exposure to heavy metals is crucial for the formation of a stress reaction by bacterial communities [28], a comparative analysis of the EPM composition was carried out after 24 hours of cultivation in the presence of CuO NPs. This analysis revealed (Fig. 5) a relatively high lipid content, which remains high when biofilms are exposed to increasing concentrations of nanometals. Importantly, CLSM scans showed (Fig. 6) that lipid components are localized in the extracellular matrix of mature biofilm, possibly they are represented by glycolipid biosurfactants [21]. The relative amount of polysaccharides remained the lowest at low (0.001–0.01 g/l) concentrations of CuO NPs and sharply increased at the maximum concentration of nanometals. Interestingly, an increased content of polysaccharides was observed on the periphery of the cell conglomerates in a growing biofilm (Fig. 6). A similar dynamic was characteristic of the protein component of EPM, while the protein content increased by 30 % under the influence of nanometal and had a maximum value after 72 h of exposure with a maximum (0.1 g/l) concentration of CuO NPs. Unlike lipids and polysaccharides, an increase in protein content was observed associated with bacterial cell surfaces, suggesting that proteins promote cell co-adhesion.

It should be noted that when exposed to toxic factors, cells localized in the upper layers of the formed biofilm die and their contents exit. This leads to an increase in EPM along with its supersynthesis by surviving cells, which also contributes to the protection of cells inside the matrix from the toxic effects of NPs. Persistent cells, which make

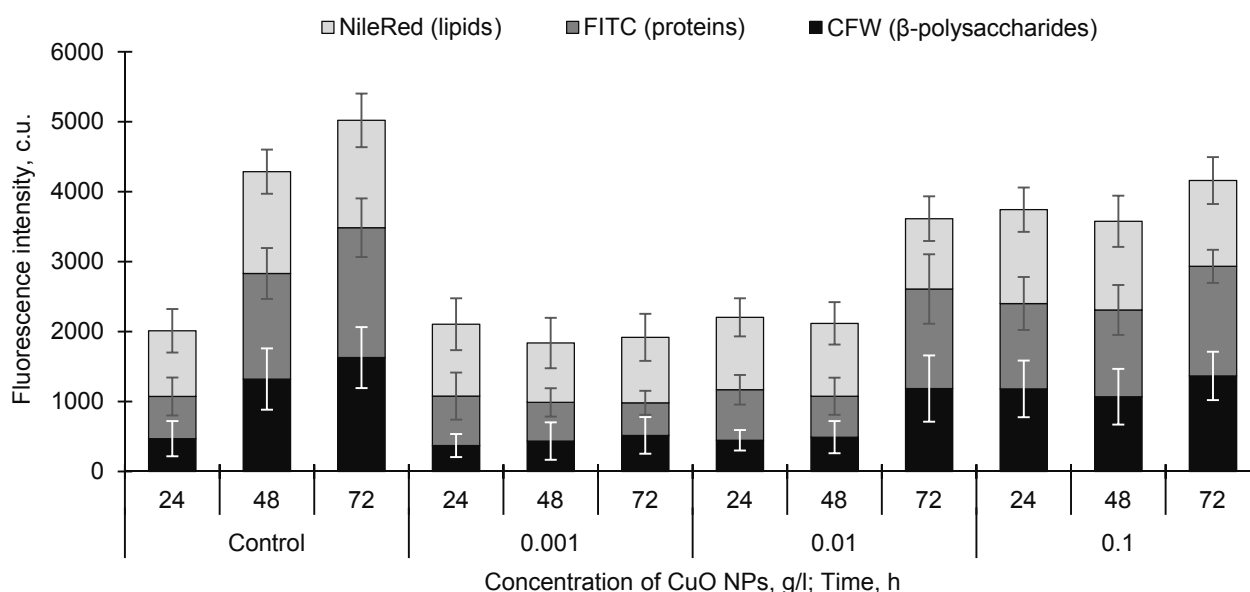


FIG. 4.

Dynamics of EPM components in *R. ruber* IEGM 231 biofilms grown in a mineral medium with 1 vol.% *n*-hexadecane, depending on the cultivation time (h) and the concentration of NPs CuO (g/l)

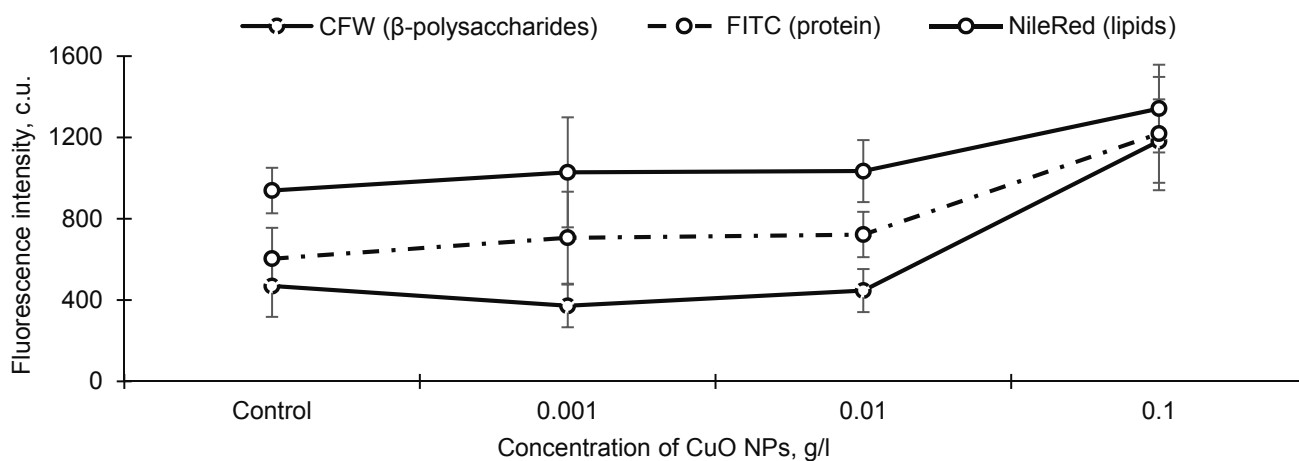
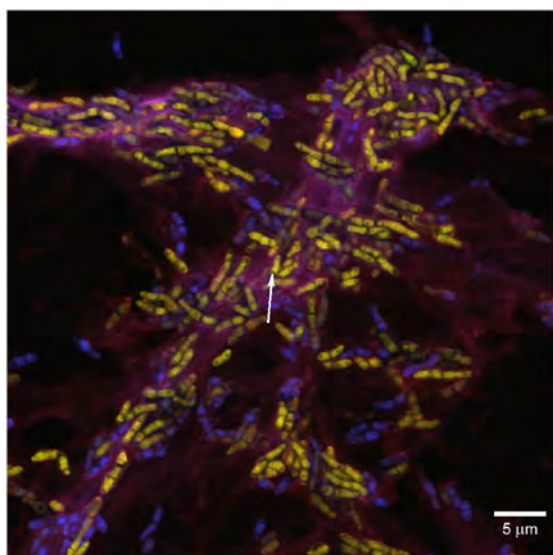
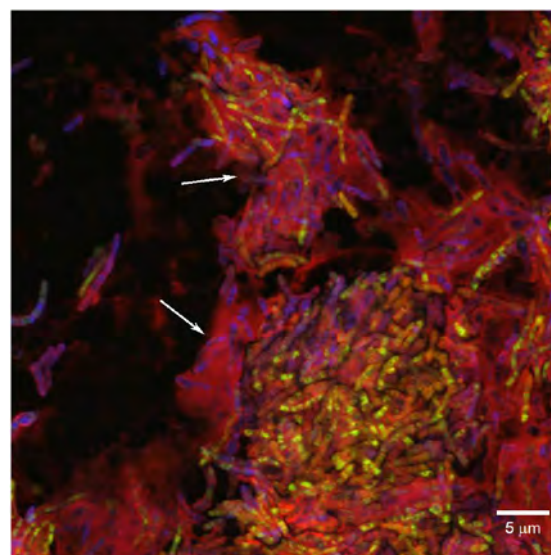


FIG. 5.

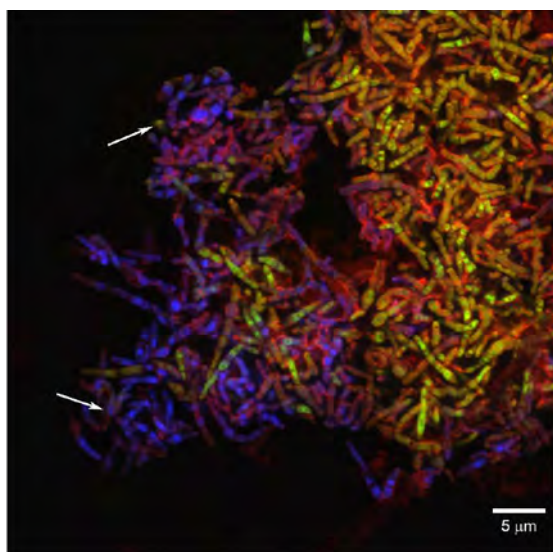
Comparative dynamics of EPM components of *R. ruber* IEGM 231 biofilms grown in a mineral medium with 1 vol.% *n*-hexadecane for 24 hours, depending on the concentration of CuO NPs



a



b



c

FIG. 6.

Combined CLSM images of *R. ruber* IEGM 231 biofilms grown in a mineral medium with 1 vol.% *n*-hexadecane in the presence of 0.01 g/l CuO NPs. Biofilms were stained with fluorescent dyes: FITC (proteins), NileRed (lipids) and CFW (beta-polysaccharides). Arrows show the localization of cell-associated proteins (a), extracellular lipids (b) and polysaccharides at the periphery of cell conglomerates (c)

up about 1 % in the stationary phase, are protected by both the polymer matrix and the surface cells themselves. Due to the ability of bacteria to horizontal gene transfer, persists develop resistance to toxic effects, which contributes to the subsequent restoration of biofilm [29]. Our study of the long-term (up to 72 h) dynamics of EPM components helps to clarify the mechanisms of *Rhodococcus* resistance to metal nanoparticles – from young to mature biofilm.

CONCLUSIONS

The present study showed that *R. ruber* IEGM 231 biofilms grown in a hydrocarbon-containing medium were more resistant to CuO NPs compared to biofilms growing in a rich culture medium (nutrient broth). This higher resistance of the biofilm correlated with a more intensive formation of EPM, which plays an important role in protecting cells from the bactericidal action of nanometals. In addition, a weak stimulating effect of a low (0.001 g/l) concentration of CuO NPs on the *R. ruber* biofilm formation was detected on the first day of cultivation. The dynamics of the structural EPM components using CLSM with differentiated fluorescent staining revealed a high lipid content, an increase in the polysaccharide and protein components when exposed to elevated (0.01–0.1 g/l) concentrations of CuO NPs. The revealed dynamics and localization of these components in the biofilm matrix indicated a complex adaptation mechanism of *Rhodococcus* to stress caused by nanometals and require further study. The results obtained can be used in the development of strategies to combat unwanted biofilms using metal nanoparticles, as well as for the possible functionalization of bacterial cells with low concentrations of nanometals in order to increase their biocatalytic potential.

Funding

This study was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (AAAA-A20-120081990069-3, AAAA-A19-119112290008-4) and Russian Science Foundation (18-14-00140).

Acknowledgments

The research work was carried out using the equipment of the Core Facilities Centers “Specialized cabinet of atomic force and confocal microscopy” (PSU) and “Regional Specialized Collection of Alkanotrophic Microorganisms” (IEGM-PFRC UB RAS).

Conflict of interests

The authors of this article report that there is no conflict of interest.

REFERENCES

1. Grigore ME, Biscu ER, Holban AM, Gestal MC, Grumezescu AM. Methods of synthesis, properties and biomedical applications of CuO nanoparticles. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2016; 9(4): 75. doi: 10.3390/ph9040075
2. Pugazhendhi A, Kumar SS, Manikandan M, Saravanan M. Photocatalytic properties and antimicrobial efficacy of Fe-doped CuO nanoparticles against the pathogenic bacteria and fungi. *Microb Pathogenesis*. 2018; 122: 84-89. doi: 10.1016/j.micpath.2018.06.016
3. Chethana DM, Thanujaa TC, Maheshb HM, Kirubac MS, Josec AS, Barshilia HC, et al. Synthesis, structural, magnetic and NO₂ gas sensing property of CuO nanoparticles. *Ceramics Int*. 2021; 47: 10381-10387. doi: 10.1016/j.ceramint.2020.06.129
4. Ruiz P, Katsumiti A, Nieto JA, Bori J, Jimeno-Romero A, Reip P, et al. Short-term effects on antioxidant enzymes and long-term genotoxic and carcinogenic potential of CuO nanoparticles compared to bulk CuO and ionic copper in mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Mar Env Res*. 2015; 11: 107-120. doi: 10.1016/j.marenvres.2015.07.018
5. Jahid IK, Han RN, Sang-DoHa SS. Competitive interactions inside mixed-culture biofilms of *Salmonella typhimurium* and cultivable indigenous microorganisms on lettuce enhance microbial resistance of their sessile cells to ultraviolet C (UV-C) irradiation. *Food Res Int*. 2014; 55: 445-454. doi: 10.1016/j.foodres.2013.11.042
6. Al-Shamiri MM, Zhang S, Mi P, Liu Y, Xun M, Yang E, et al. Phenotypic and genotypic characteristics of *Acinetobacter baumannii* enrolled in the relationship among antibiotic resistance, biofilm formation and motility. *Microb Pathog*. 2021; 155: 104922. doi: 10.1016/j.micpath.2021.104922
7. Recupido F, Petala M, Casertac S, Kostoglou S, Guidoc S, Karapantsios TD. Wetting properties of dehydrated biofilms under different growth conditions. *Coll Surf B Biointerfaces*. 2021; 210: 112245. doi: 10.1016/j.colsurfb.2021.112245
8. Brilhante RSN, de Aguiar FRM, da Silva MLQ, de Oliveira JS, de Camargo ZP, Rodrigues AM, et al. Antifungal susceptibility of *Sporothrix schenckii* complex biofilms. *Med Mycol*. 2018; 56: 297-306. doi: 10.1093/mmy/myx043
9. Martínková L, Uhnáková B, Pátek M, Nešvera J, Křen V. Biodegradation potential of the genus *Rhodococcus*. *Environ Int*. 2009; 5: 162-177. doi: 10.1016/j.envint.2008.07.018
10. Krivoruchko AV, Kuyukina MS, Ivshina IB. Advanced *Rhodococcus* biocatalysts for environmental biotechnologies. *Catalysts*. 2021; 9(3): 236. doi: 10.3390/catal9030236
11. Kuyukina MS, Ivshina IB, Krivoruchko AV, Peshkur TV, Cunningham CJ. Improvement of jet fuel contaminated water treatment in a fluidized-bed bioreactor by introducing nickel nanoparticles. *Int Biodeterior Biodegrad*. 2021; 164: 105308. doi: 10.1016/j.ibiod.2021.105308
12. Ivshina IB, Kuyukina MS, Kamenskikh TN, Krivoruchko AV, Tyumina EA, Elkin AA. *Hydrocarbon-oxidizing Rhodococci: Features of Biological organization under the influence of eco-pollutants. Atlas-monograph*. 2021. (In Russ.).
13. Karygianni L, Ren Z, Koo H, Thurnheer T. Biofilm matrixome: Extracellular components in structured microbial communities. *Trends Microbiol*. 2020; 28: 668-681. doi: 10.1016/j.tim.2020.03.016
14. Kuyukina MS, Ivshina IB, Rychkova MI, Chumakov OB. Effect of cell lipid composition on the formation of nonspecific antibiotic resistance in alkanotrophic rhodococci. *Microbiology*. 2000; 69: 51-57. doi: 10.1007/BF02757257
15. Miao M, Wang C, Hou J, Wang P, Ao Y, Li Y, et al. Aggregation and removal of copper oxide (CuO) nanoparticles in wastewater environment and their effects on the microbial activities of wastewater biofilms. *Biores Technol*. 2016; 216: 537-544. doi: 10.1016/j.biortech.2016.05.082

16. Selvaraj RSA, Rajendran M, Nagaiah HP. Re-potentialization of β -lactam antibiotic by synergistic combination with biogenic copper oxide nanocubes against biofilm forming multidrug-resistant bacteria. *Molecules*. 2019; 17: 3055. doi: 10.3390/molecules24173055
17. Naseer M, Ramadan R, Xing J, Samak NA. Facile green synthesis of copper oxide nanoparticles for the eradication of multidrug resistant *Klebsiella pneumonia* and *Helicobacter pylori* biofilms. *Int Biodeter Biodegrad*. 2019; 159: 105201. doi: 10.1016/j.ibiod.2021.105201
18. Fagerlind MG, Webb JS, Barraud N, McDougald D, Jansson A, Nilsson P, et al. Dynamic modelling of cell death during biofilm development. *J Theor Biol*. 2012; 295: 23-36. doi: 10.1016/j.jtbi.2011.10.007
19. D'Acuntoa B, Esposito G, Frunzo L, Pirozzi F. Dynamic modeling of sulfate reducing biofilms. *Comput Math Appl*. 2011; 62: 2601-2608. doi: 10.1016/j.camwa.2011.07.064
20. Buhmann M, Stiefel P, Maniura-Weber K, Ren Q. *In vitro* biofilm models for device-related infections. *Trends Biotechnol*. 2014; 1: 1-4. doi: 10.1016/j.tibtech.2016.05.016
21. Ivshina IB, Kuyukina MS, Krivoruchko AV, Plekhov OA, Naimark OB, Podorozhko EA, et al. Biosurfactant-enhanced immobilization of hydrocarbon-oxidizing *Rhodococcus ruber* on sawdust. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2013; 97: 5315-5327. doi: 10.1007/s00253-013-4869-y
22. Ikuma K, Decho AW, Lau BL. When nanoparticles meet biofilms – interactions guiding the environmental fate and accumulation of nanoparticles. *Front Microbiol*. 2015; 6: 591. doi: 10.3389/fmicb.2015.00591
23. Ke PC, Lin S, Parak WJ, Davis TP, Caruso F. A decade of the protein corona. *ACS Nano*. 2017; 11: 11773-11776. doi: 10.1021/acsnano.7b08008
24. Ivshina IB, Kuyukina MS, Kostina LV. Adaptive mechanisms of nonspecific resistance to heavy metal ions in alkanotrophic actinobacteria. *Rus J Ecology*. 2013; 44(2): 123-130.
25. Adav SS, Lin JC, Yang Z, Whiteley CG, Lee DJ, Peng XF, et al. Stereological assessment of extracellular polymeric substances, exo-enzymes, and specific bacterial strains in bioaggregates using fluorescence experiments. *Biotechnol Adv*. 2016; 28: 255-280. doi: 10.1016/j.biotechadv.2009.08.006
26. Kassing KS, Hoek ML. Biofilm architecture: an emerging synthetic biology target. *Synth Sys Biotechnol*. 2020; 5: 1-10. doi: 10.1016/j.synbio.2020.01.001
27. Flemming HC, Wuertz S. Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms. *Nat Rev Microbiol*. 2019; 17: 247-260. doi: 10.1038/s41579-019-0158-9
28. Hoostal MJ, Bidart-Bouzat MG, Bouzat JL. Local adaptation of microbial communities to heavy metal stress in polluted sediments of Lake Erie. *FEMS Microbiol Ecol*. 2008; 65: 156-168. doi: 10.1111/j.1574-6941.2008.00522.x
29. Wilmaerts D, Windels EM, Verstraeten N, Michiels J. General mechanisms leading to persister formation and awakening. *Trends Genet*. 2019; 35: 401-411. doi: 10.1016/j.tig.2019.03.007

Information about the authors

Elena A. Bayandina – Student at the Department of Microbiology and Immunology, Perm State University, e-mail: elenabaiandinapsu@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9266-3877>
Grigori G. Glebov – Engineer at the Department of Microbiology and Immunology, Perm State University; Postgraduate, Junior Research Officer, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: grisha899@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7220-4553>
Maria S. Kuyukina – Dr. Sc. (Biol.), Professor at the Department of Microbiology and Immunology, Perm State University; Leading Research Officer, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: kuyukina@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9165-8363>
Irina B. Ivshina – Dr. Sc. (Biol.), Professor, Academician of RAS, Professor at the Department of Microbiology and Immunology, Perm State University; Head of the Laboratory, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: ivshina@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2558-4789>

Сведения об авторах

Баяндина Елена Александровна – студентка, ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», e-mail: elenabaiandinapsu@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9266-3877>
Глебов Григорий Геннадьевич – инженер кафедры микробиологии и иммунологии, ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»; аспирант, младший научный сотрудник, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН, e-mail: grisha899@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7220-4553>
Куюкина Мария Станиславовна – доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии и иммунологии, ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»; ведущий научный сотрудник, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН, e-mail: kuyukina@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9165-8363>
Ившина Ирина Борисовна – доктор биологических наук, профессор, академик РАН, профессор кафедры микробиологии и иммунологии, ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»; заведующая лабораторией, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН, e-mail: ivshina@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2558-4789>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

STUDY OF THE EFFECT OF PROTEIN SYNTHESIS INHIBITORS ON GROWING *ESCHERICHIA COLI* BACTERIA USING ELECTROCHEMICAL SENSORS

Tyulenev A.V.,
Smirnova G.V.,
Muzyka N.G.,
Oktyabrsky O.N.

Institute of Ecology and Genetics
of Microorganisms, Perm Federal
Research Center of the Ural Branch
of the Russian Academy of Sciences
(Goleva str. 13, Perm 614081,
Russian Federation)

Corresponding author:
Aleksey V. Tyulenev,
e-mail: leksey333@yandex.ru

ABSTRACT

Background. The study of the mechanisms of action of antibiotics requires the integrated use of traditional microbiological and physicochemical methods.

The aim. To study the response of *Escherichia coli* bacteria to the action of four antibiotics, inhibitors of protein synthesis, using combined approach.

Methods. Bacteria were grown under aerobic conditions on minimal M9 medium with glucose. Tetracycline, kanamycin, streptomycin and chloramphenicol have been tested. The effect of antibiotics on survival (CFU) and growth rate was determined. Respiratory activity, sulfide production, extracellular potassium, as well as pH and Eh of the medium were measured using electrochemical sensors directly in a growing culture in the "real time", membrane potential was measured using a DiBAC dye and a Leica DM2000 fluorescent microscope.

Results. The tested antibiotics were divided into two groups according to their properties. Tetracycline and chloramphenicol showed a pronounced bacteriostatic effect, growth inhibition began immediately after the addition of antibiotics and occurred at a high rate. Both antibiotics inhibited respiration, stimulated sulfide production and an Eh jump. Bacteria treated with tetracycline and chloramphenicol retained the ability to maintain membrane potential and intracellular potassium better. Inhibition of respiration led to a decrease in glucose catabolism, as evidenced by a lower rate of acidification of the medium compared to the control. Growth inhibition with streptomycin and kanamycin was initiated with a 30-minute delay. Both antibiotics showed a bactericidal effect, did not stimulate sulfide production and Eh jump, did not inhibit respiration, but caused a drop in membrane potential and intracellular potassium. High respiratory activity promoted glucose catabolism, as evidenced by the rapid acidification of the medium. Of interest is the detection of kanamycin-induced sulfide production during *E. coli* growth on MOPS medium.

Conclusion. An analysis of the data obtained indicates that the use of electrochemical sensors in combination with traditional methods is a promising approach to studying the mechanisms of action of antibiotics.

Key words: *Escherichia coli*, antibiotics, electrochemical sensors, sulfide, dO_2 , pH, growth rate

Received: 02.06.2022
Accepted: 02.09.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Tyulenev A.V., Smirnova G.V., Muzyka N.G., Oktyabrsky O.N. Study of the effect of protein synthesis inhibitors on growing *Escherichia coli* bacteria using electrochemical sensors. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 110-118. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.12

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ ИНГИБИТОРОВ СИНТЕЗА БЕЛКА НА РАСТУЩИЕ БАКТЕРИИ *ESCHERICHIA COLI* С ПОМОЩЬЮ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИХ СЕНСОРОВ

Тюленев А.В.,
Смирнова Г.В.,
Музыка Н.Г.,
Октябрьский О.Н.

Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН –
филиал ФГБУН «Пермский федеральный
исследовательский центр» УрО РАН
(614081, г. Пермь, ул. Голева, 13, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Тюленев Алексей Валерьевич,
e-mail: leksey333@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Изучение механизмов действия антибиотиков требует комплексного использования традиционных микробиологических и физико-химических методов.

Цель исследования. Изучить ответ бактерий *Escherichia coli* на действие четырёх антибиотиков, ингибиторов синтеза белка, используя комплексный подход.

Методы. Бактерии выращивались в аэробных условиях на минимальной среде M9 с глюкозой. Испытывалось действие тетрациклина, канамицина, стрептомицина и хлорамфеникола. Определяли влияние антибиотиков на выживаемость (CFU) и скорость роста. Дыхательную активность, продукцию сульфидов, экстраклеточный калий, а также pH и Eh среды измеряли, используя электрохимические сенсоры, непосредственно в растущей культуре в режиме «real time», мембранный потенциал – с помощью красителя DiBAC и флуоресцентного микроскопа Leica DM2000.

Результаты. Испытуемые антибиотики по своим свойствам разделяются на две группы. Тетрациклин и хлорамфеникол обладали выраженным бактериостатическим действием, ингибирование роста начиналось сразу после добавления антибиотиков и происходило с высокой скоростью. Оба антибиотика ингибировали дыхание, стимулировали продукцию сульфидов и скачок Eh. Бактерии, обработанные тетрациклином и хлорамфениколом, лучше сохраняли способность к поддержанию мембранного потенциала и удержанию внутриклеточного калия. Ингибирование дыхания приводило к снижению катаболизма глюкозы, о чём свидетельствовала более низкая скорость закисления среды по сравнению с контролем. Ингибирование роста стрептомицином и канамицином начиналось с 30-минутной задержкой. Оба антибиотика оказывали бактерицидное действие, не стимулировали продукцию сульфидов и скачок Eh, не ингибировали дыхание, но стимулировали падение мембранного потенциала и внутриклеточного калия. Высокая дыхательная активность способствовала катаболизму глюкозы, о чём свидетельствовало быстрое закисление среды. Интерес представляет обнаружение индуцируемой канамицином продукции сульфидов при росте *E. coli* на среде MOPS.

Заключение. Анализ полученных данных свидетельствует о том, что применение электрохимических сенсоров в сочетании с традиционными методами является перспективным подходом к изучению механизмов действия антибиотиков.

Ключевые слова: *Escherichia coli*, антибиотики, электрохимические сенсоры сульфид, dO_2 , pH, скорость роста

Статья поступила: 02.06.2022

Статья принята: 02.09.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Тюленев А.В., Смирнова Г.В., Музыка Н.Г., Октябрьский О.Н. Исследование действия ингибиторов синтеза белка на растущие бактерии *Escherichia coli* с помощью электрохимических сенсоров. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 110-118. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.12

The abrupt changes in the oxidation-reduction potential to negative values (Eh jumps) measured by the platinum electrode in aerobic cultures of *Escherichia coli* and other bacteria, growing in a minimal medium were previously detected when growth ceased due various stresses [1]. Later it was shown that these jumps are associated with a reversible increase in the level of sulfide or cysteine in the medium [2]. We also observed the accumulation of sulfide and sulfide-mediated Eh jumps during exposure of *E. coli* to certain antibiotics, including chloramphenicol, tetracycline and high doses of ciprofloxacin, while the other antibiotics, such as ampicillin, cefotaxime, kanamycin and streptomycin did not stimulate the formation of sulfide [1–3]. It was of interest to investigate the reason for the different response of bacteria to the action of various antibiotics. It was suggested that differences in the response of bacteria to treatment with different antibiotics may be related to the traits of their effect on growth and metabolic activity. To test this hypothesis, we examined the response of growing *E. coli* to three antibiotics, including tetracycline, kanamycin and streptomycin, known to inhibit protein synthesis in bacteria. For comparison, the list of antibiotics under study included the well-studied chloramphenicol, which has the ability to induce sulfide release [3].

To solve the problems, a combined approach was applied, including the measurement of growth parameters (growth rate and the ability to form colonies, CFU), and continuous in vivo real-time registration of a number of important physiological parameters using electrochemical sensors.

MATERIALS AND METHODS OF RESEARCH

The object of study was the gram-negative bacteria *Escherichia coli* BW25113 (wt) and the knockout mutant JW2663 ($\Delta gshA$), deficient in synthesis of glutathione (GSH), both from the Keio international collection. Bacteria were cultured on M9 minimal medium [4] with glucose as a source of carbon and energy under aerobic conditions at 37 °C in a thermostatically controlled orbital shaker at 150 rpm. To determine the levels of extracellular potassium, bacteria were grown on M9 medium with a low content of potassium. Where indicated, MOPS (3-[N-morpholine]propanesulfonic acid) medium was used. Colony formation capacity (CFU) and the specific growth rate (μ) were determined in a conventional manner.

Measurements using electrochemical ion-selective sensors were carried out in flasks with aerobically growing *E. coli* cultures. All parameters were continuously and synchronously processed in real time using a hardware-software complex, including various registration blocks. The partial pressure of oxygen (dO_2) was measured using an InPro 6800 Clark electrode (Mettler Toledo, USA) on a modified BioFlo 110 controller (New Brunswick Scientific Co., USA). The concentration of extracellular sulfide ion was determined using a sulfide-specific ion-selective XC-S2-001 electrode (Sensor Systems Company, Russian

Federation), the redox potential (Eh, ORP) was recorded with an ERP-105 platinum electrode (Measuring Technologies, Russian Federation), the level of extracellular potassium ions (K^+) was recorded with a K^+ -selective electrode ELIS-121K (Measuring Technologies, RF). Results were expressed in mV (1 mV = 15 $\mu M K^+$). Potentiometric data from these electrodes were processed with cpX-2 digital pX meters (IBP, Pushchino, Russian Federation). Synchronization of the primary data received from these sensors was carried out using the RS-232 and Modbus protocols. Graphical visualization of real time monitoring of dO_2 , Eh, S^{2-} and K^+ ions is presented in the form of typical curves from a series of experiments.

Changes in the membrane potential (MP) were detected using the penetrating fluorescent dye DiBAC ([DiBAC4(3)], bis-(1,3-dibutylbarbituric acid)-trimethinonol) and Leica DM2000 fluorescent microscope [5]. An increase in the proportion of fluorescent cells corresponds to a decrease in MP.

Each result is indicated as the mean value of at least three independent experiments $\pm$ the standard error of the mean (SEM). Significant difference was analyzed by Student's t-test. A *p*-value of 0.05 was used as the cut-off for statistical significance. The results were analyzed by means of Statistica 6 (StatSoft Inc., USA).

RESULTS

Determination of growth parameters under the action of antibiotics

All studies were performed using cultures in the middle of the logarithmic phase of growth, in the range of optical density of the culture (OD_{600}) 0.4–0.8. During the growth of bacteria cultured in the absence of any treatments (control), the specific growth rate (μ) gradually decreased from the maximum value (0.71 ± 0.01) to $0.43 \pm 0.02 \text{ h}^{-1}$ (Fig. 1). In preliminary experiments, the concentration of the antibiotic was selected so that its effect was manifested in the region of the optimal bactericidal concentration, with the exception of tetracycline. The effect of this antibiotic was studied at different concentrations.

In the response of bacteria to the action of aminoglycosides kanamycin (30 $\mu g/ml$) and streptomycin (30 $\mu g/ml$), three phases were distinguished. The first phase, during which there was no statistically significant growth inhibition, lasted for the first 30 minutes after the addition of the antibiotic. In the second phase, which lasted for 15 min, a rapid drop in μ to about 0.2 h^{-1} was observed. Then the growth rate slowly dropped to zero. Under the action of tetracycline (30 $\mu g/ml$) and chloramphenicol (25 $\mu g/ml$), the phase of a rapid decrease in the growth rate was observed, during which, 15 min after the addition of antibiotics, μ decreased to 0.3 h^{-1} , and the phase of a slow decrease in the growth rate continued until to a complete stop (Fig. 1).

In experiments with tetracycline, the dependence of the effect on the concentration of the antibiotic was studied. During the first 45 min after the addi-

tion of 2 and 30 $\mu\text{g/ml}$ of tetracycline, growth was inhibited in the same way, but upon treatment with 30 $\mu\text{g/ml}$, the growth stopped by the end of cultivation, while at 2 $\mu\text{g/ml}$, growth continued at a rate of 0.2 h^{-1} . Interestingly, under the action of a low dose of tetracycline (0.1 $\mu\text{g/ml}$) for 105 min of cultivation, the growth rate did not differ from that observed in the control; however, at the end of cultivation, the μ value was the same as after treatment with 2 mg/ml.

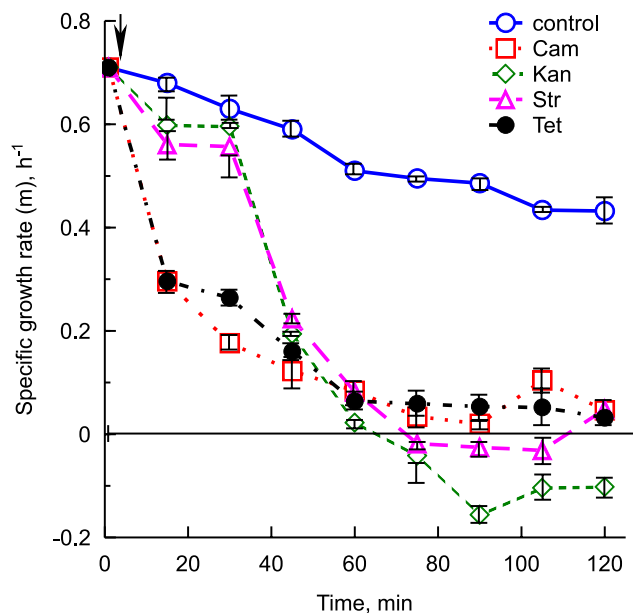


FIG. 1.

Effect of kanamycin (Kan) (30 $\mu\text{g/ml}$), streptomycin (Str) (30 $\mu\text{g/ml}$), tetracycline (Tet) (30 $\mu\text{g/ml}$) and chloramphenicol (Cam) (25 $\mu\text{g/ml}$) on the specific growth rate (μ) of *E. coli* (wt) growing on M9 medium with glucose. The arrow indicates the time when antibiotic was added

Data characterizing the colony-forming capacity under the action of antibiotics are presented as the difference between the logarithms of CFU in samples taken during cultivation and the values at the beginning of cultivation ($\Delta\log\text{CFU}$) (Fig. 2). In the absence of any treatments, an increase in the number of CFU was observed as biomass accumulated. Chloramphenicol, exhibiting bacteriostatic properties, did not cause significant cell death. Tetracycline (30 $\mu\text{g/ml}$) had a significant bacteriostatic effect and a weak bactericidal effect. The value of CFU by the end of incubation in the presence of tetracycline decreased by about two times. Kanamycin and streptomycin at a concentration of 30 $\mu\text{g/ml}$ had a pronounced bactericidal effect, reducing the number of CFU by 5.9×10^3 and 0.9×10^3 times, respectively. An inverse relationship was found between the rate of growth inhibition (the rate of decrease in μ) and the bactericidal action of antibiotics. Thus, kanamycin and streptomycin had the most pronounced bactericidal effect, stopping growth 45 minutes after the addition of the antibiotic. On the contrary, tetracycline and, in particular, chloram-

phenicol, which sharply inhibited the growth of bacteria as early as 15 min after their introduction, had rather a bacteriostatic effect.

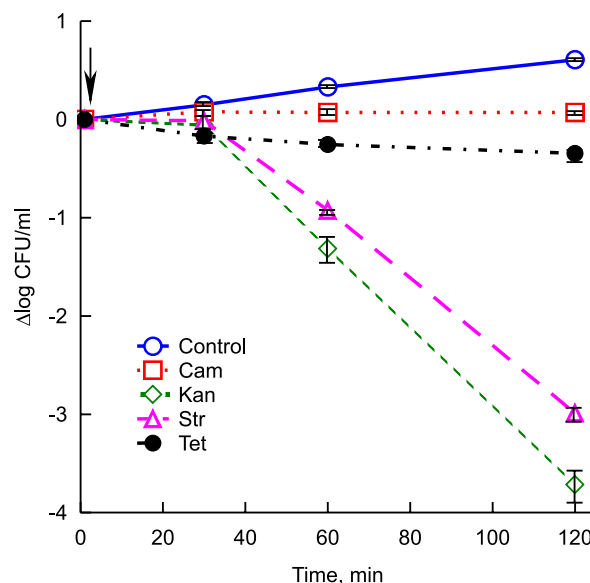


FIG. 2.

Effect of antibiotics on the ability of *E. coli* (wt) to form colonies (CFU). Growth medium, symbols and concentrations of antibiotics are shown in Fig. 1. The arrow indicates the time when antibiotic was added

Respiratory activity of bacteria and pH changes

Under our conditions, despite intensive agitation of the culture medium, as the biomass accumulated, the respiratory activity of growing cells led to a gradual decrease in the oxygen concentration in the medium to complete and irreversible exhaustion (Fig. 3). The addition of tetracycline or chloramphenicol to a growing culture of *E. coli* caused a rapid inhibition of respiration, most pronounced in the culture treated with 30 $\mu\text{g/ml}$ tetracycline. After 120 min of incubation with the antibiotic, an increase in dO_2 in the medium was observed almost to the baseline level. Treatment with 0.1 $\mu\text{g/ml}$ tetracycline caused a gradual decrease in O_2 consumption, the effect of 2 $\mu\text{g/ml}$ was similar to 30 $\mu\text{g/ml}$, but less pronounced (Fig. 3).

Unlike chloramphenicol and tetracycline, cells treated with aminoglycosides continued to show high respiratory activity during the first 60–80 minutes. Notably, the rate of oxygen uptake by kanamycin was even higher than in culture untreated with the antibiotic, and in the case of streptomycin, the same as in untreated cells. In the second phase of the response to the action of aminoglycosides, respiration inhibition was observed, which was absent in cells not treated with antibiotics (Fig. 3).

During experiments, we found that the effect of kanamycin on the respiratory activity of growing *E. coli* is highly dependent on the composition of culture medium. In this series of experiments, *E. coli* BW25113 was cultured on minimal synthetic MOPS medium with glucose as a car-

bon source. Under these conditions, treatment with kanamycin caused irreversible inhibition of respiration as early as 10 min after its addition; the bacteria in this case behaved in the same way as when treated with a high concentration of tetracycline.

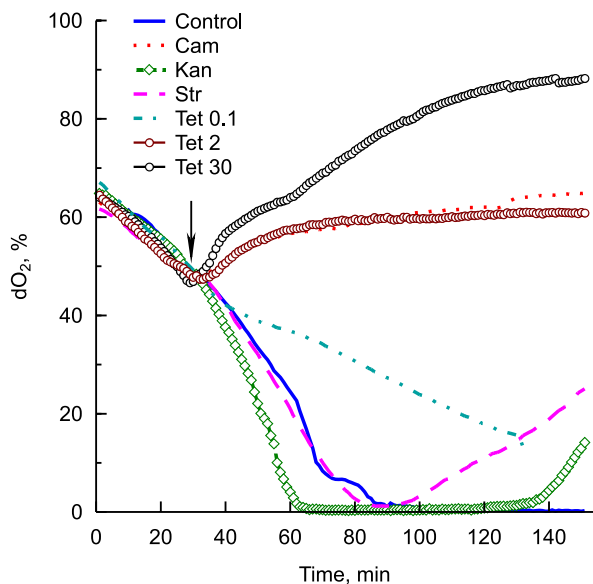


FIG. 3. Changes in the level of dissolved oxygen in the culture of *E. coli* (wt) treated with antibiotics. Growth medium, symbols and concentrations of antibiotics are shown in Fig. 1. The arrow indicates the time when antibiotic was added

During aerobic growth of *E. coli* on the M9 minimal medium containing glucose as the only source of carbon and energy, a gradual decrease in pH is observed due to the accumulation of products of incomplete glucose oxidation [6]. The degree of change in the pH of the culture medium during continuous monitoring can indirectly indicate the rate of carbohydrate metabolism in bacteria and serve as an additional integral indicator of the state of the culture. The choice of the pH sensor and the operating mode of the controller made it possible to achieve high sensitivity and stability of indications. The measurement results were expressed as the difference between the values at the time of antibiotic addition and in the final (ΔpH). Under our conditions, during normal growth, a gradual decrease in the pH of the medium from 6.86 to 6.66 ($\Delta\text{pH} = 0.2$) was recorded with a noticeable acceleration after the 90th minute of incubation. This coincides with the time of complete depletion of dissolved oxygen in the medium and the transition from aerobic to anaerobic catabolism.

Under the action of tetracycline and chloramphenicol, only a slight decrease in pH was noted ($\Delta\text{pH} = 0.04$ and $\Delta\text{pH} = 0.07$, respectively). On the contrary, treatment with aminoglycosides was accompanied by a decrease in pH, comparable to that observed in culture without treatment, and even greater in the case of kanamycin. In gen-

eral, in aerobic cultures, observed changes in pH correlate well with changes in respiratory activity. Higher respiratory activity promoted a higher rate of glucose utilization and the accumulation of acidifying metabolites, which is recorded as a greater decrease in pH.

Redox status of the medium (Eh) and sulfide production

In the absence of treatments, Eh gradually changed from +190 mV (at the point corresponding to the time of addition of antibiotics) to -150 mV at the end of the experiment. The transition of Eh to negative values is associated with the gradual depletion of oxygen in the medium, which confirms the role of O_2 as one of the main redox-active components in aerobic bacterial cultures. In the antibiotic-free medium, sulfide production was maintained at a constant low level (Fig. 4a).

Tetracycline and chloramphenicol, when added to *E. coli* culture, induced a jump in Eh to negative values with amplitudes of 101.5 ± 6 and 133.8 ± 7.5 mV, respectively. The addition of tetracycline in an amount of $0.1 \mu\text{g/ml}$ did not significantly affect the redox potential of the medium, while the addition of $2 \mu\text{g/ml}$ caused the Eh jump with amplitude of 82 ± 4 mV. Simultaneously, tetracycline and chloramphenicol caused a sharp, short-term increase in endogenous sulfide production with amplitudes of 15 ± 2.5 mV and 36.6 ± 2.7 mV, respectively (Fig. 4a). Chloramphenicol stimulated the largest drop in the potential of the sulfide electrode in terms of amplitude and duration among all tested antibiotics. A dose-dependent pattern of action of tetracycline was revealed (Fig. 4a). A close relationship was noted between the degree of inhibition of the specific growth rate and respiratory activity, and the production of sulfide under the action of the tested antibiotics.

Treatment of growing bacteria with aminoglycosides (kanamycin and streptomycin) did not cause an abrupt change in the potential of the Eh electrode, however, it significantly accelerated its decrease (compared to the control), during the first 60 minutes for kanamycin and 80 minutes for streptomycin, after which gradual return of the potential to the base value was recorded. The observed changes in Eh under these conditions can be associated with changes in dO_2 . There were also no jumps in the potential of the sulfide electrode under the action of both antibiotics on the cells of the parental strain *E. coli* BW25113.

We have previously shown that stress-induced production of extracellular sulfide in some cases can be significantly increased in *E. coli* mutants deficient in the synthesis of glutathione (GSH) [2]. To test this effect, in the case of kanamycin, we used the knockout mutant *E. coli* JW2663 ΔgshA , deficient in glutathione synthesis. When grown on M9 medium, this mutant, like the parental strain, did not produce sulfide under the action of $30 \mu\text{g/ml}$ kanamycin. In the mutant (but not in the parent) growing on MOPS medium with glucose, kanamycin-induced jumps in the potential of the sulfide electrode were recorded (Fig. 4b). Their amplitude was about 100 mV, which was significantly higher than in the other examined above cases.

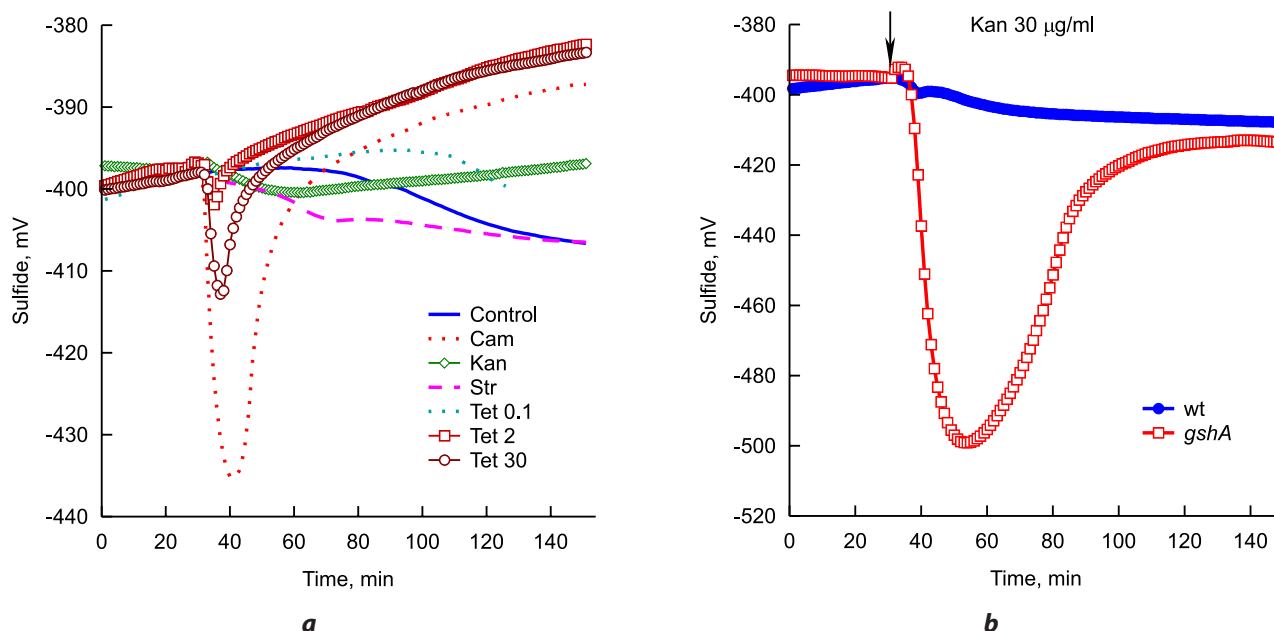


FIG. 4.

a – sulfide production by *E. coli* (wt) treated with antibiotics. Bacteria were grown on M9 medium with glucose. Symbols and concentrations of antibiotics are shown in Fig. 1. **b** – sulfide production in *E. coli gshA* knockout mutant deficient in glutathione synthesis and in the parent strain (wt). Bacteria growing on the MOPS medium with glucose were treated with kanamycin (30 µg/ml). The arrow indicates the time when antibiotic was added

Changes in membrane potential and extracellular K^+ levels

In the absence of antibiotics, the growth of *E. coli* was accompanied by an uptake of potassium from the medium in an amount proportional to the number of cells, which was recorded as a gradual decrease in the potential of the potassium-specific electrode. Under these conditions, bacteria maintained the membrane potential at a constant level, and the number of stained cells did not exceed 1 %. Treatment with chloramphenicol or tetracycline caused a decrease in membrane potential in no more than 6 % of cells.

After treatment with chloramphenicol, the bacteria continued to uptake potassium at a rate close to that observed in the absence of the antibiotic. 30 min after the addition of chloramphenicol, a slowdown in potassium uptake was observed which corresponded in time to the end of the phase of rapid growth inhibition and a decrease in respiratory activity. Tetracycline affected potassium uptake in a dose-dependent manner. At a concentration of 0.1 µg/ml, there was no change in the rate of potassium uptake within 60 minutes after treatment (compared to the control), while at 2 µg/ml of antibiotic a significant slowdown in potassium absorption was noted already after 30 minutes. The addition of 30 µg/ml tetracycline completely stopped the entry of K^+ into the cells.

When aminoglycosides were added, a two-phase pattern of changes in the concentration of extracellular potassium was observed. In the first phase, the cells continued to uptake potassium at a rate similar to that observed in the absence of treatment. 45 min after the addition

of streptomycin and 60 min after the addition of kanamycin, the second phase began, in which the concentration of potassium in the medium began to increase, indicating the loss of the ability of bacterial cells to retain K^+ . An increase in the level of extracellular potassium may be associated with cell lysis or a drop in membrane potential. Indeed, after the treatment of bacteria with streptomycin, already after 30 minutes, there was a significant loss of MP in 6.3 ± 0.6 % of cells. By the end of the experiment, MP lost 19.2 ± 0.04 % of cells. The action of kanamycin caused a less pronounced effect: after 60 minutes of incubation with the antibiotic, the number of stained cells began to increase (4.65 ± 1.05 %), by the 120th minute 19.6 ± 1.6 % of the cells lost MP. In general, under the action of all tested antibiotics, the observed changes in the membrane potential were closely associated with the ability of bacterial cells to retain potassium. In addition, a correlation was found between growth inhibition and the ability of cells to maintain the membrane potential.

DISCUSSION

In most cases, the monitoring of changes in the parameters of growing bacterial cultures is carried out by microbiological and physicochemical methods in samples taken by centrifugation or filtration. In the process of sampling, cells are exposed to various influences that are stressful for them. When a sample taken from a growing aerobic culture, bacteria, being in a centrifuge tube, consume oxygen for several seconds and go into

a state characteristic of anaerobic or microaerobic growth. Conversely, under membrane filtration, cells are exposed to increased oxygen content. A similar situation is observed when cells are placed on agar surface in Petri plates. As a consequence, the obtained values of the measured parameters may not correspond to those observed in situ. This is especially true for parameters reflecting the respiratory activity and transmembrane ion fluxes, which are characterized by a rapid response to changes in environmental conditions.

A feature of the above research was the use of electrochemical ion-selective sensors installed directly in flasks with aerobically growing cultures, which allowed to simultaneously and continuously measuring several important parameters in real time. Using this approach, a comprehensive real-time monitoring of such important parameters of a growing *E. coli* culture as respiratory activity, redox potential, sulfide production, and changes in the levels of extracellular K⁺ ions under the action of antibiotics that block protein synthesis was carried out, in conjunction with classical microbiological methods (determination specific growth rate and colony-forming ability, as well as membrane potential). The results obtained indicate that these parameters, although to varying degrees, are closely related (Table 1). Growth inhibition of *E. coli* by tetracycline and chloramphenicol began immediately after the addition of the antibiotic and occurred very quickly. Both antibiotics had a weaker bactericidal effect and a pronounced bacteriostatic effect. It is important that it was tetracycline and chloramphenicol that stimulated the production of sulfide and the jump in Eh. As shown earlier, the extracellular reductant sulfide, interacting with a platinum electrode, shifts its potential to negative values, which is recorded as a jump in Eh [2]. Inhibition of respiration led to a significant decrease in glucose catabolism, as evidenced by a lower rate of acidification of the medium compared to the control. At the same time, cells treated with tetracycline and chloramphenicol retained better the ability to maintain the membrane potential and intracellular potassium.

An essential characteristic of the action of streptomycin and kanamycin is the 30-minute delay in growth inhibition after they have been added to a growing culture. Both antibiotics had a bactericidal effect, did not stimulate the production of sulfide (and, accordingly, a jump in Eh), did not inhibit respiration, but stimulated a drop in the membrane

potential and, accordingly, in intracellular potassium. Continued respiration in the presence of both antibiotics promoted glucose catabolism, as evidenced by acidification of the medium.

Collins et al. showed that treatment of *E. coli* with a range of bacteriostatic antibiotics that inhibit protein synthesis (including chloramphenicol and tetracycline) resulted in rapid suppression of cellular respiration. In contrast, three bactericidal antibiotics (ampicillin, gentamicin, and norfloxacin) accelerated respiration. Growth inhibition is associated with suppression of central metabolism, while killing is linked to activation of metabolism [7].

Our data largely confirm the data discussed above. However, there are differences. Of the two bactericidal antibiotics, kanamycin stimulated respiratory activity and, judging by the pH change, showed a higher metabolic activity, while streptomycin did not have these effects. Notably, when *E. coli* was cultured on the MOPS medium kanamycin caused irreversible inhibition of respiration.

We assume that, in our case, the key event determining the differences in the action of bacteriostatic and bactericidal antibiotics may be the presence of the delay between the addition of the antibiotic and the onset of growth inhibition in the first case and its absence in the second case. It is possible that, in turn, this is a consequence of the different rates of penetration of antibiotics into cells. ppGpp, the signaling molecule of the stringent response, which is the master regulators of the bacterial response to various stresses, may play an important role. It is known that the activities associated with the action of ppGpp are largely determined by the growth rate of bacteria at the time of stress exposure [8], including the action of antibiotics [9]. However, it should be noted that chloramphenicol, which does not have a bactericidal effect, inhibits the synthesis of ppGpp [10].

The scientific literature concerning studies of the action of antibiotics contains a number of conflicting data. One of the reasons for this is the use of different culture conditions by different authors. In this regard, it is of interest to detect the production of sulfide under the action of kanamycin on the *E. coli* knockout mutant, when the growth medium is changed from M9 to MOPS medium. These results indicate that the observed effects can largely depend not only on the concentration of the active substance, but also on the composition of the me-

TABLE 1
ACTION OF PROTEIN SYNTHESIS INHIBITORS ON GROWING *ESCHERICHIA COLI*

Antibiotics	Growth inhibition	BS/BC	RA	H ₂ S	MP	pH
Chloramphenicol	+	BS	↓	↑	–	0.07
Tetracycline	+	BS	↓	↑	–	0.04
Kanamycin	delay	BC	↑	–	↓	0.23
Streptomycin	delay	BC	–	–	↓	0.17

Note. Growth inhibition – growth inhibition starts immediately after antibiotic addition (+); BS – bacteriostatic action; BC – bactericidal action; RA – respiratory activity in the first phase of response to antibiotic action, inhibition (↓), stimulation (↑), no effect (–); H₂S – presence (↑) or absence (–) of production; MP – decreased membrane potential (↓), no effect (–); pH – decrease of by the end of cultivation.

dium, which is important to consider when interpreting the results.

In *E. coli*, the release of sulfide into the medium is part of the process aimed at maintaining cysteine homeostasis during stress-induced arrest of protein synthesis. An excess of cysteine in this situation can lead to stimulation of the Fenton reaction, during which hydrogen peroxide oxidizes the free divalent iron ion with the formation of a highly toxic hydroxyl radical that can damage DNA, proteins and lipids. Cysteine in this situation can act as a reductant that reduces oxidized iron [11]. To keep cysteine at a safe level, bacteria incorporate some of the cysteine into glutathione and some of it is excreted into the environment. In addition, part of cysteine is cleaved to form sulfide, which is released into the environment and under our conditions can be detected by a sulfide-specific electrode [2]. Based on the presented scheme, the production of sulfide by kanamycin, observed by us in the MOPS medium, can be associated with the stimulation of the Fenton reaction due to the presence in this medium (in contrast to the M9 medium) of an increased amount of iron. At the same time, these data confirm the important role of glutathione in maintaining cysteine homeostasis in *E. coli* under stress. It should be noted that endogenously produced H₂S renders multiple bacterial species highly resistant to oxidative stress and various classes of antibiotics [12, 13].

CONCLUSION

The results obtained in this work not only confirm our previous data, but also provide a deeper understanding of the mechanisms of bacterial response to the action of antibiotics, inhibitors of protein synthesis. Although the studied antibiotics inhibit the same function in *E. coli*, two of them are bacteriostatic and two are bactericidal. This is accompanied by significant differences not only in such general physiological parameters as growth rate and survival, but also in respiratory activity, the rate of utilization of the carbon and energy source, stress-induced sulfide production, and the ability to maintain membrane potential and intracellular potassium. The increase in the number of pathogenic microorganisms resistant to antibiotics, observed in recent years, requires the improvement of approaches and methods for the development of new antimicrobial drugs and increasing the effectiveness of widely used ones. The data obtained in this work indicate the promise of using electrochemical sensors for screening chemical compounds for antimicrobial activity.

Funding

This work has been supported by a grant of the Russian Science Foundation (RSF № 22-14-00093).

Conflict of interest

The authors of the article have no conflict of interest to disclose.

REFERENCES

1. Oktyabrskii ON, Smirnova GV. Redox potential changes in bacterial cultures under stress conditions. *Microbiology*. 2012; 81(2): 131-142.
2. Tyulenev A, Smirnova G, Muzyka N, Ushakov V, Oktyabrsky O. The role of sulfides in stress-induced changes of Eh in *Escherichia coli* cultures. *Bioelectrochem*. 2018; 121: 11-17. doi: 10.1016/j.bioelechem.2017.12.012
3. Smirnova GV, Tyulenev AV, Bezmaternykh KV, Muzyka NG, Ushakov VV, Oktyabrsky ON. Cysteine homeostasis under inhibition of protein synthesis in *Escherichia coli* cells. *Amino Acids*. 2019; 51: 1577-1592. doi: 10.1007/s00726-019-02795-2
4. Miller JH. *Experiments in molecular genetics*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1972.
5. Wickens HJ, Pinney RJ, Mason DJ, Gant VA. Flow cytometric investigation of filamentation, membrane patency and membrane potential in *Escherichia coli* following ciprofloxacin exposure. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000; 44: 682-687. doi: 10.1128/aac.44.3.682-687.2000
6. Landwall P, Holm T. Removal of inhibitors of bacterial growth by dialysis culture. *J Gen Microbiol*. 1977; 103: 345-352. doi: 10.1099/00221287-103-2-345
7. Lobritz MA, Belenky P, Porter CBM, Gutierrez A, Yang JH, Schwarz EG, et al. Antibiotic efficacy is linked to bacterial cellular respiration. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015; 112: 8173-8180. doi: 10.1073/pnas.1509743112
8. Potrykus K, Murphy H, Philippe N, Cashel M. ppGpp is the major source of growth rate control in *E. coli*. *Environ Microbiol*. 2011; 13: 563-575. doi: 10.1111/j.1462-2920.2010.02357.x
9. Spira B, Ospino K. Diversity in *E. coli* (p)ppGpp levels and its consequences. *Front Microbiol*. 2020; 11: 1759. doi: 10.3389/fmicb.01759
10. Boehm A, Steiner S, Zaehring F, Casanova A, Hamburger F, Ritz D, et al. Second messenger signaling governs *Escherichia coli* biofilm induction upon ribosomal stress. *Mol Microbiol*. 2009; 72: 1500-1516. doi: 10.1111/j.1365-2958.2009.06739.x
11. Park S, Imlay JA. High levels of intracellular cysteine promote oxidative DNA damage by driving the Fenton reaction. *J Bacteriol*. 2003; 185: 1942-1950. doi: 10.1128/JB.185.6.1942-1950.2003
12. Shatalin K, Shatalina E, Mironov E, Nudler E. A universal defense against antibiotics in bacteria. *Science*. 2011; 334: 986-990. doi: 10.1126/science.1209855
13. Mironov E, Seregina T, Nagornyykh M, Luhachack LG, Korolkova N, Lopes LE, et al. Mechanism of H₂S-mediated protection against oxidative stress in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017; 114(23): 6022-6027. doi: 10.1073/pnas.1703576114

Information about the authors

Aleksey V. Tyulenev – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Physiology and Genetics of Microorganisms, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: leksey333@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0312-0409>

Galina V. Smirnova – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Physiology and Genetics of Microorganisms, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: smirnova@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6116-8147>

Nadezda G. Muzyka – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Physiology and Genetics of Microorganisms, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: muzykana@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4888-1471>

Oleg N. Oktyabrsky – Dr. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory of Physiology and Genetics of Microorganisms, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: oktyabr@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9864-2094>

Сведения об авторах

Тюленев Алексей Валерьевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии и генетики микроорганизмов, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН, e-mail: leksey333@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0312-0409>

Смирнова Галина Васильевна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии и генетики микроорганизмов, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН, e-mail: smirnova@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6116-8147>

Музыка Надежда Геннадьевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии и генетики микроорганизмов, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН, e-mail: muzykana@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4888-1471>

Октябрьский Олег Николаевич – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией физиологии и генетики микроорганизмов, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН, e-mail: oktyabr@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9864-2094>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

ДИНАМИКА ОБРАЗОВАНИЯ БИОПЛЁНОК КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫМИ ШТАММАМИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Ситникова К.О.¹,
Немченко У.М.¹,
Воропаева Н.М.¹,
Григорова Е.В.¹,
Савилов Е.Д.^{1,2},
Маркова Ю.А.³,
Белькова Н.Л.¹

¹ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

² Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664079, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

³ ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Ситникова Ксения Олеговна,
e-mail: butakovaksenia505@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Образование биоплёночных структур микроорганизмами, обитающими во внутрибольничной среде, является серьёзной проблемой медицины. Для проведения корректных экспериментальных исследований необходимо знать скорость и эффективность формирования биоплёнок клинически значимыми видами условно-патогенных бактерий.

Цель. Изучить кинетику роста планктонных культур и скорость формирования биоплёнок клинически значимыми возбудителями инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, для обоснования методологии дальнейших исследований.

Материалы и методы. Использованы штаммы из рабочей коллекции лаборатории микробиома и микроэкологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека». Эксперименты проведены с условно-патогенными микроорганизмами сем. *Enterobacteriaceae* и неферментирующими грамотрицательными бактериями. Проводилось измерение оптической плотности, определение общего микробного числа клеточной суспензии и оценка морфологической структуры биоплёнки с помощью светового микроскопа на стерильных покровных стёклах для видов *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* и *Serratia marcescens*.

Результаты. Продолжительность лаг-фазы кинетической кривой роста клеток варьировала у изолятов *S. marcescens*, *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae* от 1 до 4 и 6 часов культивирования соответственно. Несмотря на это, фаза экспоненциального роста была у всех тестируемых изолятов одинаковой и составила 4 часа. Таким образом, изоляты клинически значимых видов выходили на стационарную фазу роста через 5–10 часов культивирования и были охарактеризованы как быстрорастущие. На абиотических поверхностях через 8 часов инкубирования тестируемых культур наблюдали начальные стадии образования биоплёночных структур, через 20 часов визуализировали сформированную многослойную биоплёнку, через 24 часа происходила сукцессия, на место отслоившихся структур прикреплялись новые единичные клетки.

Заключение. Полученные данные по временной продолжительности основных стадий кинетики роста в сопоставлении с визуализацией процесса формирования биоплёночных структур на абиотических поверхностях должны быть учтены при изучении воздействия дезинфицирующих, антисептических средств и антибактериальных лекарственных препаратов на планктонные клетки и биоплёночные ассоциации клинически значимых условно-патогенных микроорганизмов.

Ключевые слова: кинетика роста бактерий, формирование биоплёнки, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, микроскопия

Статья получена: 28.06.2022

Статья принята: 03.10.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Ситникова К.О., Немченко У.М., Воропаева Н.М., Григорова Е.В., Савилов Е.Д., Маркова Ю.А., Белькова Н.Л. Динамика образования биоплёнок клинически значимыми штаммами условно-патогенных бактерий. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 119-128. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.13

THE EFFECTIVENESS OF BIOFILM FORMATION OF DAILY CULTURES OF CLINICALLY SIGNIFICANT STRAINS OF OPPORTUNISTIC BACTERIA

Sitnikova K.O.¹,
Nemchenko U.M.¹,
Voropaeva N.M.¹,
Grigorova E.V.¹,
Savilov E.D.^{1,2},
Markova Yu.A.³,
Belkova N.L.¹

¹ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)

² Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

³ Siberian Institute of Physiology and Biochemistry of Plants (Lermontova str. 132, Irkutsk 664033, Russian Federation)

Corresponding author:

Kseniya O. Sitnikova,
e-mail: butakovaksenia505@gmail.com

ABSTRACT

Background. The formation of biofilm structures by microorganisms living in the hospital environment is a serious medical problem. To conduct correct experimental studies, it is necessary to know the speed and efficiency of biofilm formation by clinically significant species of opportunistic bacteria.

Aim: to study the kinetics of plankton culture growth and the rate of biofilm formation by clinically significant pathogens of infections associated with medical care to substantiate the methodology of further research.

Materials and methods. The strains from the working collection of the Laboratory for Microbiome and Microecology of the Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems were used. Experiments were carried out with conditionally pathogenic microorganisms of the Enterobacteriaceae family and non-fermenting gram-negative bacteria. The optical density was measured, the total microbial number of the cell suspension was determined, and the morphological structure of the biofilm was evaluated using a light microscope on sterile cover glasses for the species *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*.

Results. The duration of the lag phase of the kinetic curve of cell growth varied in isolates of *S. marcescens*, *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae* from 1 to 4 and 6 hours of cultivation, respectively. Despite this, the exponential growth phase was the same for all tested isolates and amounted to 4 hours. Thus, isolates of clinically significant species entered the stationary growth phase after 5–10 hours of cultivation and were characterized as fast-growing. On abiotic surfaces, after 8 hours of incubation of the tested cultures, the initial stages of the formation of biofilm structures were observed, after 20 hours the formed multilayer biofilm was visualized, after 24 hours succession occurred, new single cells were attached to the place of the detached structures.

Conclusion. The data obtained on the duration of the main stages of growth kinetics compared with the visualization of the formation of biofilm structures on abiotic surfaces should be taken into account when studying the effects of disinfectants, antiseptics and antibacterial drugs on planktonic cells and biofilm associations of clinically significant opportunistic microorganisms.

Key words: kinetics of bacterial growth, biofilm formation, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, microscopy

For citation: Sitnikova K.O., Nemchenko U.M., Voropaeva N.M., Grigorova E.V., Savilov E.D., Markova Yu.A., Belkova N.L. The effectiveness of biofilm formation of daily cultures of clinically significant strains of opportunistic bacteria. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 119-128. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.13

Received: 28.06.2022

Accepted: 03.10.2022

Published: 08.12.2022

ВВЕДЕНИЕ

По данным Национального института здравоохранения, более 80 % микробных инфекций связаны с формированием биоплёночных структур [1, 2]. В настоящее время особое внимание уделяется микроорганизмам, выделенным в группу ESKAPE (от англ. *escape* – ускользать, избегать, спасаться), к которым отнесены шесть клинически значимых бактерий, обладающих множественной лекарственной устойчивостью и вызывающих высокую смертность (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter* spp.), метициллин-резистентный *S. aureus* (MRSA), а также группа устойчивых к ванкомицину штаммов энтерококков (VRE). Эти патогены часто формируют поливидовые биоплёнки, в результате чего они являются причиной опасных внутрибольничных инфекций, особенно для тяжелобольных людей с ослабленным иммунитетом [3–6].

В клинической практике важно владеть информацией о способности штаммов условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) формировать устойчивые биоплёночные консорциумы [7]. Актуальным является понимание всех этапов этого процесса: от стадии прикрепления к поверхности единичных клеток, через образование микроколоний и формирование многослойной зрелой биоплёнки до её сукцессии, при которой происходит частичное отслаивание разного размера агрегатов и дальнейшее освобождение поверхности для будущей адгезии свободноживущих клеток с последующим созданием микроколоний. Использование новых экспериментальных подходов к изучению биоплёночных консорциумов позволяет понять сложность организации таких структур [8].

Формирование биоплёнки на биотической или абиотической поверхности зависит от конкретного штамма, питательной среды, свойств и особенностей поверхности [9, 10]. Биоплёнокообразование сопровождается выделением внеклеточных полимеров, обеспечивающих прочную адгезию [11, 12], что приводит к фундаментальным изменениям в бактериальном росте и экспрессии генов [13].

Нашими предыдущими исследованиями показано, что УПМ, выделенные из внутрибольничной среды, различаются по скорости формирования биоплёнки [14–16]. Очевидно, что для дальнейшего развития экспериментальных исследований по изучению свойств клинически значимых условных патогенов в биоплёночных ассоциациях надо знать, как происходит процесс биоплёнокообразования, а именно, как долго биоплёнка находится на стадии созревания и многослойности, то есть когда биоплёночный консорциум может быть наиболее устойчив к антибактериальным, дезинфицирующим и антисептическим средствам.

В ходе совместных исследований, проведённых с детским многопрофильным стационаром регионального уровня (г. Иркутск), была сформирована коллекция штаммов условно-патогенных микроорганизмов. Выделенные культуры относились к неферментирующим грамотрица-

тельным бактериям (39 штаммов), сем. *Enterobacteriaceae* (44 штамма), к другим видам (9 штаммов). Подробная характеристика указанных культур представлена в статьях, опубликованных нами ранее [14, 16].

Таким образом, **целью настоящего исследования** стало изучить кинетику роста планктонных культур и скорость формирования биоплёнок клинически значимыми возбудителями инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, для обоснования методологии дальнейших исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Подготовка культур и определение оптической плотности

Всего было выбрано 10 штаммов трёх клинически значимых видов: *Pseudomonas aeruginosa* (изоляты № 6, 12 и 13), *Klebsiella pneumoniae* (№ 16, 23 и 40) и *Serratia marcescens* (№ 22 и 37). Перед экспериментом культуры были синхронизированы. Суточные культуры выращивали в мясопептонном бульоне (МПБ), концентрацию клеток в суспензии готовили по стандарту мутности Мак-Фарланда равному 1, что соответствует 3×10^8 КОЕ/мл. Аликвоты суточных культур по 2 мл вносили в 200 мл свежего МПБ и инкубировали на шейкере (200 об./мин) при 37 °C. Измерение оптической плотности (ОП) и определение общего микробного числа (ОМЧ) проводили через 2, 4, 9, 12 и 24 часа культивирования. Для определения ОП клеточной суспензии тестируемых культур использовали 96-луночный стерильный плоскостонный пластиковый иммунологический планшет, с внесением в него 150 мкл клеточной суспензии в трёх повторностях. Контролем фона служил стерильный МПБ, так же вносимый в трёх повторностях по 150 мкл. ОП измеряли на микропланшетном фотометре STAT FAX®4300 (Awareness Technology Inc., USA) при длине волны 492 нм. Рассчитывали среднее значение ОП для всех измерений [14].

Определение общего микробного числа

Начальную концентрацию клеток принимали равной для всех тестируемых культур. Плотность бактериальных суспензий доводили до 1 по стандарту мутности МакФарланда, в экспериментах использовали их $\times 100$ разведение (3×10^6 КОЕ/мл). Для определения ОМЧ готовили серийные разведения до 10^{-8} кл./мл. Через 2 и 4 часа культивирования посев культуры производили из второго, третьего и четвёртого разведений. Через 9 и 12 часов культивирования высев производили из шестого, седьмого и восьмого разведений. Высев проводили на мясопептонный агар (МПА), чашки инкубировали в термостате при 37 °C. Учёт ОМЧ проводили через 24 часа путём подсчёта выросших колоний. Рассчитывали логарифм lgКОЕ/мл, а также его среднее значение и стандартное отклонение.

Оценка морфологической структуры биоплёнки

Оценку морфологической структуры биоплёнки проводили для 10 изолятов *P. aeruginosa*, 9 изолятов

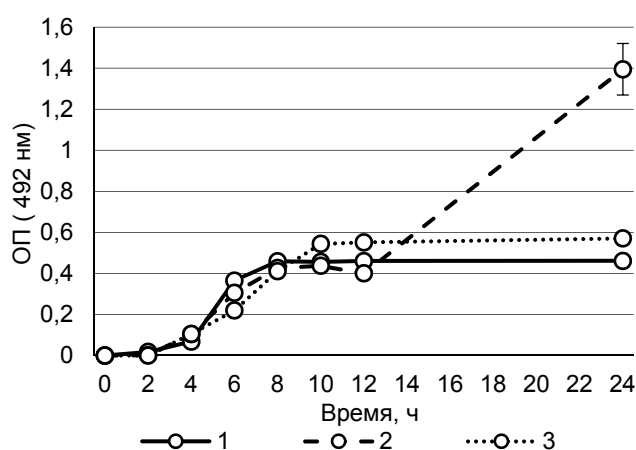
K. pneumoniae и 1 изолята *S. marcescens*. Готовили суточную культуру в МПБ, концентрацию клеток в суспензии доводили до 10^6 КОЕ/мл. ОП приготовленной суспензии оценивали, как было описано выше. Для эксперимента по формированию биоплёнки на абиотических поверхностях в стерильные чашки Петри вносили 20 мл клеточной суспензии и помещали пять покровных стёкол. Чашки культивировали в термостате при 37 °C. Рост культуры и процессы образования биоплёнок оценивали через 2, 4, 8, 20 и 24 часа инкубации. Проводили измерение ОП клеточной суспензии на микропланшетном фотометре STAT FAX®4300 (Awareness Technology Inc., USA) при длине волны 492 нм и последовательно извлекали стёкла из бульона для изготовления микроскопических препаратов. Стёкла аккуратно промывали физиологическим раствором, после непродолжительного подсушивания быстро фиксировали в пламени спиртовки с последующей окраской в течение часа 1%-м раствором генцианвиолета [17]. Окрашенные стёкла промывали дистиллированной водой. Стадии биоплёнокообразования исследовали под микроскопом и фотографировали (не менее 10 полей зрения на каждое стекло) при помощи программы обработки и анализа изображения Zeiss Efficient Navigation (ZEN core v. 3.0; Karl Zeiss, Германия).

Данная работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» и УНУ «Коллекция микробиоты человека Иркутской области» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Иркутск).

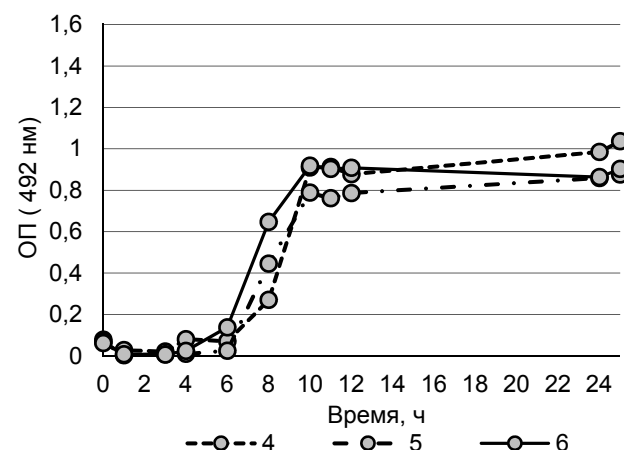
РЕЗУЛЬТАТЫ

Все тестируемые изоляты трёх клинически значимых видов бактерий показали высокую скорость роста в условиях интенсивной аэрации. Основные отличия в характере роста культур заключались в разной продолжительности лаг-фазы (рис. 1). Так, наименьшая продолжительность этой фазы была отмечена для изолятов *Serratia marcescens* и составила 1 час инкубирования. Для штаммов *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae* продолжительность лаг-фазы составила 4 и 6 часов соответственно, при этом для штаммов *P. aeruginosa* наблюдали более слабый прирост клеток по сравнению с *K. pneumoniae*.

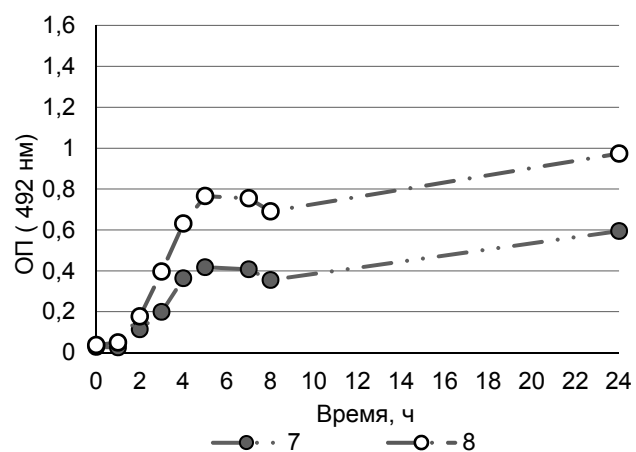
У всех культур отмечена одинаковая продолжительность фазы экспоненциального роста, при этом культуры достигали разной оптической плотности. Наимень-



а



б



в

РИС. 1.

Кинетика роста клинически значимых видов условно-патогенных микроорганизмов в условиях интенсивной аэрации, регистрируемая по оптической плотности (492 нм): а – *P. aeruginosa* (1 – изолят № 6; 2 – № 12; 3 – № 13); б – *K. pneumoniae* (4 – изолят № 16; 5 – № 23; 6 – № 40); в – *S. marcescens* (7 – изолят № 22; 8 – № 37)

FIG. 1.

Kinetics of growth of clinically significant species of opportunistic microorganisms under conditions of intensive aeration, recorded by optical density (492 nm): а – *P. aeruginosa* (1 – isolate No. 6; 2 – No. 12; 3 – No. 13); б – *K. pneumoniae* (4 – isolate No. 16; 5 – No. 23, 6 – No. 40); в – *S. marcescens* (7 – isolate No. 22; 8 – No. 37)

шая ОП среди всех исследуемых изолятов в конце экспоненциальной фазы отмечена у штаммов *P. aeruginosa* и изолята *S. marcescens* № 22, она составила $0,432 \pm 0,020$ и $0,418 \pm 0,002$ соответственно, чуть выше – у второго изолята *S. marcescens* № 37 ($0,766 \pm 0,010$), и максимальная – у штаммов *K. pneumoniae* ($0,873 \pm 0,059$).

В фазе стационарного роста максимальная ОП также отмечена у изолятов *K. pneumoniae* ($0,858 \pm 0,052$), минимальная – у штаммов *P. aeruginosa* ($0,471 \pm 0,062$). Следует отметить, что у изолятов *K. pneumoniae* стационарная фаза роста наступила через 10 часов от начала эксперимента, через 8 часов – у *P. aeruginosa* и через 5 часов – у *S. marcescens*.

При учёте индекса общего микробного числа были получены сопоставимые значения общего титра микробных клеток вне зависимости от значений ОП исследуемых культур. Так, несмотря на то что через час после начала эксперимента титр клеток *K. pneumoniae* незначительно снижается ($4,25 \pm 0,43$ IgKOE/мл) по сравнению с изолятами *P. aeruginosa* ($7,27 \pm 0,07$ IgKOE/мл) и *S. marcescens* ($7,20 \pm 0,10$ IgKOE/мл), в стационарной фазе роста для всех культур отмечали сопоставимые значения общего титра микробных клеток (рис. 2). Для штаммов *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* и *S. marcescens*

значения ОМЧ составили $9,54 \pm 0,06$, $8,99 \pm 0,13$ и $9,43 \pm 0,37$ IgKOE/мл соответственно.

В эксперименте, кроме измерения ОП, были сделаны микрофотографии разных стадий биоплёнкообразования клинически значимыми видами на абиотической поверхности. Все исследуемые изоляты показали уверенный рост клеточных консорциумов. Одинаковая продолжительность инкубации позволила проследить этапы формирования клеточных консорциумов и определить степень и интенсивность биоплёнкообразования. Так, изоляты *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* и *S. marcescens*, в основном, образовывали многослойные и плотные структуры. Ввиду того, что изоляты одного вида демонстрировали сходную тенденцию при формировании биоплёнок, микрофотографии приведены для одного изолята каждого вида микроорганизма: изолят № 48 – *P. aeruginosa* (рис. 3), № 49 – *K. pneumoniae* (рис. 4), № 83 – *S. marcescens* (рис. 5). В начале лаг-фазы, через 2 часа от начала эксперимента, для всех тестируемых культур на стёклах отмечены только единичные клетки, поэтому микрофотографии этой стадии не приводятся.

Измерения ОП культур подтвердили, что клинические виды *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* и *S. marcescens*

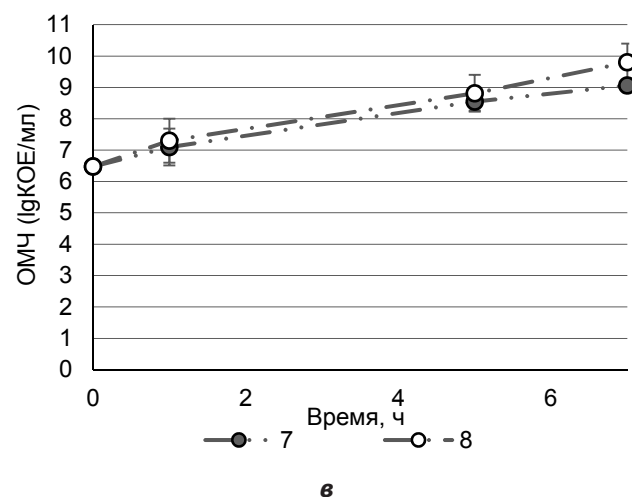
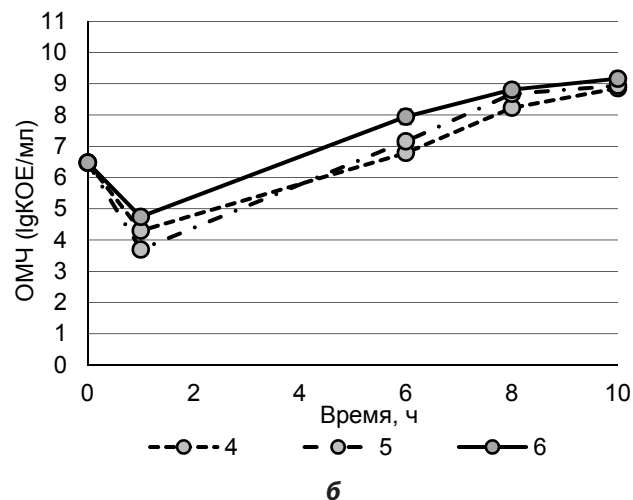
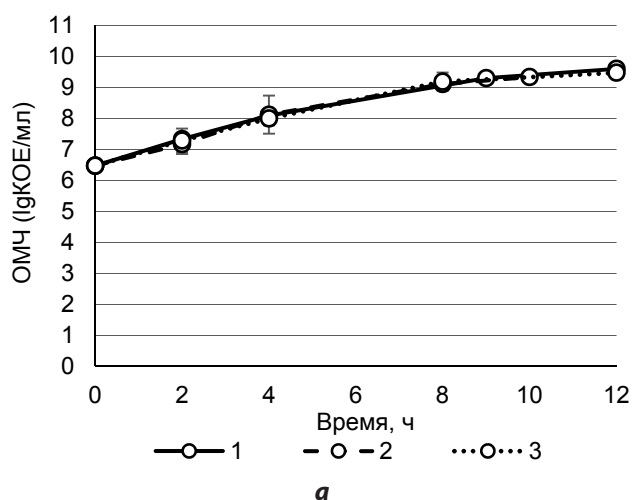
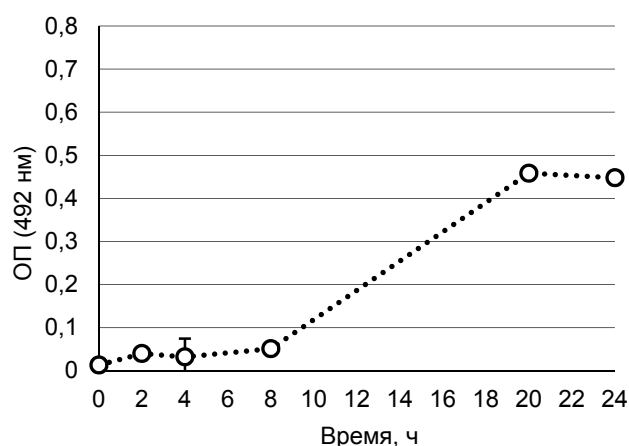


РИС. 2.

Кинетика роста клинически значимых видов условно-патогенных микроорганизмов в условиях интенсивной аэрации, регистрируемая по учёту общего микробного числа (IgKOE/мл): **а** – *P. aeruginosa* (1 – изолят № 6; 2 – № 12; 3 – № 13); **б** – *K. pneumoniae* (4 – изолят № 16; 5 – № 23; 6 – № 40); **в** – *S. marcescens* (7 – изолят № 22; 8 – № 37)

FIG. 2.

Kinetics of growth of clinically significant species of opportunistic microorganisms under conditions of intensive aeration, recorded by taking into account the total microbial number (IgC-FU/ml): **a** – *P. aeruginosa* (1 – isolate No. 6; 2 – No. 12; 3 – No. 13); **b** – *K. pneumoniae* (4 – isolate No. 16; 5 – No. 23; 6 – No. 40); **v** – *S. marcescens* (7 – isolate No. 22; 8 – No. 37)



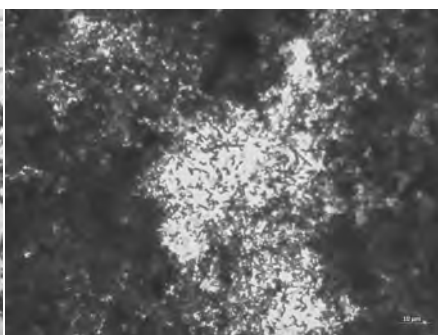
а



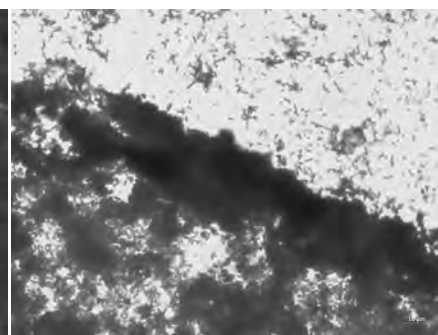
б



в



г



д

РИС. 3.

Динамика роста клеточной суспензии (**а**) и стадии биоплёнкообразования *P. aeruginosa* на абиотической поверхности: **б** – через 4 часа от начала эксперимента; **в** – через 8 часов; **г** – через 20 часов; **д** – через 24 часа

FIG. 3.

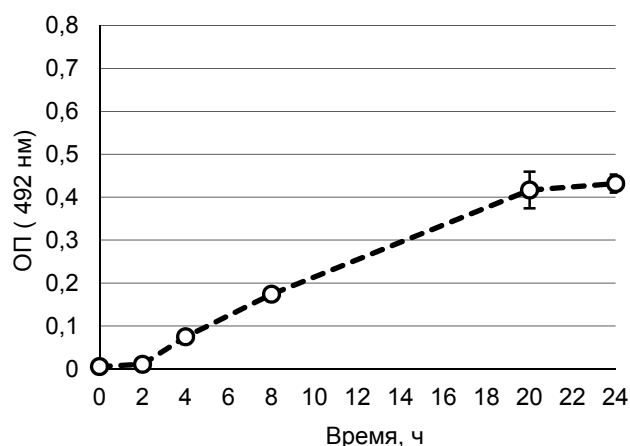
Dynamics of growth of cell suspension (**a**) and the stage of biofilm formation of *P. aeruginosa* on the abiotic surface: **б** – 4 hours after the start of the experiment; **в** – after 8 hours; **г** – after 20 hours; **д** – after 24 hours

обладали значительной скоростью роста и выходили на экспоненциальную фазу через 8, 4 и 1 час инкубирования соответственно (рис. 3а, 4а, 5а). На микрофотографиях видно, что в это время наблюдался активный процесс прикрепления клеток к поверхности покровных стёкол. Так, через 4 часа культивирования на покровных стёклах наблюдали крупные, одиночные клетки *P. aeruginosa*, длинные неветвящиеся цепочки, через 8 часов появились одиночные скопления, указывающие на начальные стадии формирования биоплёночных структур (рис. 3б, в). При культивировании штаммов № 49 *K. pneumoniae* и № 83 *S. marcescens* на абиотической поверхности через 4 часа наблюдали большое количество крупных клеток, расположенных как поодиночке, так и в небольших скоплениях (рис. 4б, 5б). Через 8 часов культуры *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae* формировали крупные скопления из мелких клеток, создавая как монослой, так и более или менее выраженные многослойные участки (рис. 3в, 4в). Для изолятов *S. marcescens* слоистость биоплёнки была более выражена (рис. 5в). Таким образом, к началу экспоненциальной фазы роста все культуры показали наличие фрагментарного монослоя биоплёнки. Сформированная многослойная

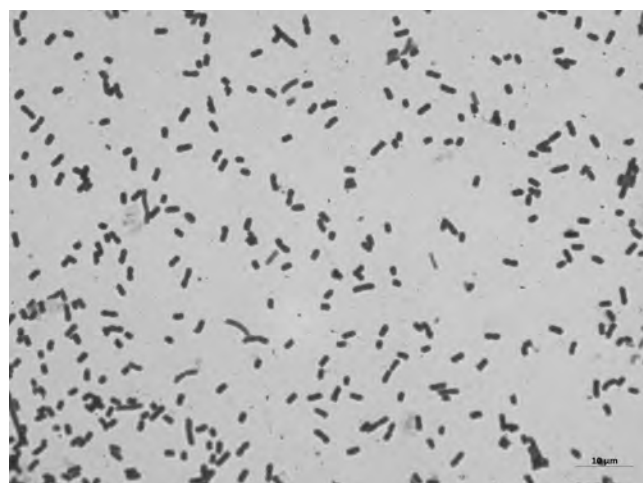
биоплёнка с мелкими клетками была зафиксирована у всех изученных изолятов *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* и *S. marcescens* через 20 часов культивирования (рис. 3г, 4г, 5г). Спустя 24 часа от начала эксперимента на стационарной фазе роста биоплёночные структуры УПМ *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* и *S. marcescens* были частично разрушены, наблюдали остаточные скопления; наличие большого количества мелких одиночных клеток говорит о том, что начинается новый процесс образования микроколоний и многослойной структуры (рис. 3д, 4д, 5д). То есть в стадии стационарного роста отмечается сукцессия биоплёнки, когда некоторые сформированные клетки переходят во взвешенное состояние и вновь начинают образовывать на освободившемся месте микроколонии.

ОБСУЖДЕНИЕ

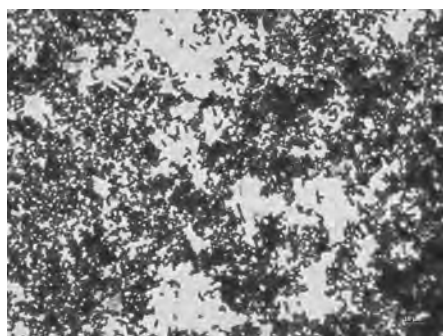
В клинической практике важно оценивать влияние дезинфицирующих средств и антисептиков не только на планктонные клетки, но и на разные стадии процесса формирования биоплёнки. При проведении экспе-



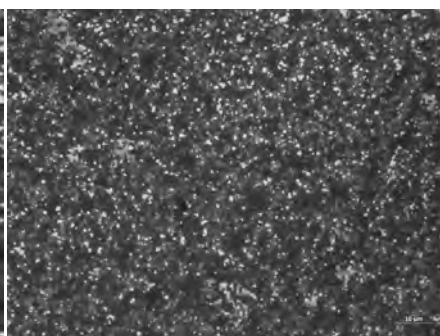
а



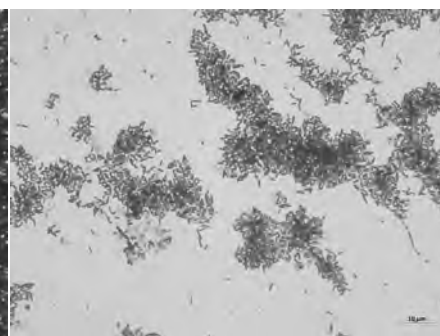
б



в



г



д

РИС. 4.

Динамика роста клеточной суспензии (**а**) и стадии биоплёнокообразования *K. pneumoniae* на абиотической поверхности: **б** – через 4 часа от начала эксперимента; **в** – через 8 часов; **г** – через 20 часов; **д** – через 24 часа

FIG. 4.

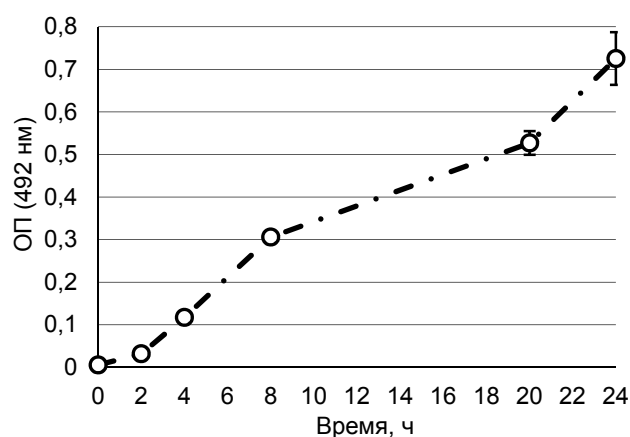
Dynamics of growth of cell suspension (**a**) and the stage of *K. pneumoniae* biofilm formation on the abiotic surface: **б** – 4 hours after the start of the experiment; **в** – after 8 hours; **г** – after 20 hours; **д** – after 24 hours

риментальных работ важно знать начальную концентрацию клеток, которая должна быть внесена на тестируемые поверхности для того, чтобы получить интенсивный рост биоплёночной структуры. При дальнейшем культивировании микробных клеток необходимо понимать, в какой промежуток времени поверхность будет освобождаться от той или иной части сформированной биоплёнки, для корректной оценки влияния дезинфицирующих средств непосредственно на сформированную биоплёнку, а не на биоплёночный консорциум в стадии сукцессии.

Данные литературы о временных стадиях формирования биоплёнки разноречивы, с указанием границ этого процесса от 24 часов до трёх суток. Так, Е.В. Осипова и соавт. (2014) полагают, что процессы формирования клеточных консорциумов происходят в основном в течение 48 часов [18]. В работе В.В. Леонова (2012) описывается, что стадии обратимой и необратимой микробной адгезии имеют продолжительность от 12 до 20 часов, а сформированную биоплёнку можно наблюдать уже через 24 часа культивирования изолятов [19]. А.В. Игнатенко (2008), оценивая влияние биоцидных препаратов на биоплёночные консорциу-

мы, показал, что необходимо использовать трёхсуточные культуры [20].

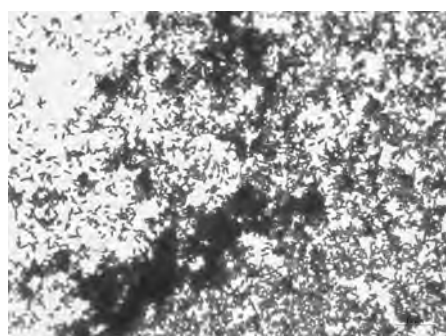
Наши исследования подтверждают, что клинически значимые штаммы микроорганизмов являются быстрорастущими, имеют высокую степень адгезии клеток и уже через 8 часов культивирования на абиотических поверхностях наблюдаются начальные стадии образования биоплёночных структур. Через 20 часов клетки формируют сплошную многослойную биоплёнку. По экспериментальным данным можно сделать вывод, что для того, чтобы адекватно оценивать влияние различных дезинфицирующих, антисептических и антимикробных средств на сформированную биоплёнку необходимо воздействовать на биоплёночный консорциум в течение первых суток. Выход бактерий из биоплёночного консорциума на микрофотографиях зафиксирован после 24 часов культивирования и подтверждается увеличением ОП планктонных культур. Это свидетельствует о том, что биоплёнка выходит на стадию сукцессии, в результате чего тестируемая поверхность частично освобождается от многослойной биоплёнки и дальнейшее воздействие различными антимикробными средствами может дать некорректный результат.



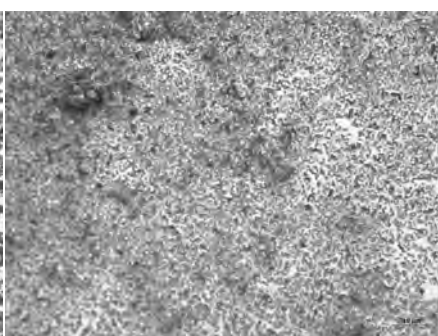
а



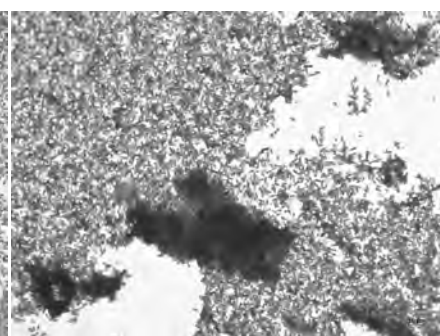
б



в



г



д

РИС. 5.

Динамика роста клеточной суспензии (**а**) и стадии биоплёнокообразования *S. marcescens* на абиотической поверхности: **б** – через 4 часа от начала эксперимента; **в** – через 8 часов; **г** – через 20 часов; **д** – через 24 часа

FIG. 5.

Dynamics of growth of cell suspension (**a**) and the stage of biofilm formation of *S. marcescens* on the abiotic surface: **б** – 4 hours after the start of the experiment; **в** – after 8 hours; **г** – after 20 hours; **д** – after 24 hours

Таким образом, продуктивный рост клеточной массы в первые часы культивирования способствует клинически значимым патогенам интенсивно заселять поверхности и образовывать биоплёночные структуры, что в свою очередь содействует приобретению клеточным консорциумом дополнительных свойств защиты от неблагоприятных для них факторов внешней среды.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Клинически значимые штаммы УПМ обладают продуктивным и быстрым ростом клеточных популяций, способны формировать многослойные биоплёночные консорциумы в течение 20 часов культивирования.

Полученные данные по временной продолжительности основных стадий кинетики роста в сопоставлении с визуализацией процесса формирования биоплёночных структур на абиотических поверхностях должны быть учтены при изучении воздействия дезинфицирующих, антисептических средств и антибактериальных лекарственных препаратов на планктонные клетки и био-

плёночные ассоциации клинически значимых условно-патогенных микроорганизмов.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Verderosa AD, Totsika M, Fairfull-Smith KE. Bacterial biofilm eradication agents: A current review. *Front Chem.* 2019; 7: 824. doi: 10.3389/fchem.2019.00824
2. Jamal M, Tasneem U, Hussain T, Andleeb S. Bacterial biofilm: Its composition, formation and role in human infections. *J Microbiol Biotechnol.* 2015; 4: 1-14.
3. Pelling H, Nzakizwanayo J, Milo S, Denham EL, MacFarlane WM, Bock LJ, et al. Bacterial biofilm formation on indwelling urethral catheters. *Lett Appl Microbiol.* 2019; 68(4): 277-293. doi: 10.1111/lam.13144
4. Patini R, Staderini E, Lajolo C, Lopetuso L, Mohammed H, Rimondini L, et al. Relationship between oral microbiota and periodontal disease: A systematic review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018; 22: 5775-5788. doi: 10.26355/eurev_201809_15903

5. Talapko J, Škrlec I. The principles, mechanisms, and benefits of unconventional agents in the treatment of biofilm infection. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2020; 13(10): 299. doi: 10.3390/ph13100299

6. Li Z, Knetsch M. Antibacterial strategies for wound dressing: Preventing infection and stimulating healing. *Curr Pharm Des*. 2018; 24(8): 936-951. doi: 10.2174/1381612824666180213141109

7. Xie T, Wu Q, Zhang J, Xu X, Cheng J. Comparison of *Vibrio parahaemolyticus* isolates from aquatic products and clinical by antibiotic susceptibility, virulence, and molecular characterisation. *Food Control*. 2017; 71: 315-321. doi: 10.1016/j.foodcont.2016.06.046

8. Bjarnsholt T, Buhlin K, Dufrène YF, Gomelsky M, Moroni A, Ramstedt M, et al. Biofilm formation – what we can learn from recent developments. *J Intern Med*. 2018; 284(4): 332-345. doi: 10.1111/joim.12782

9. Pannanusorn S, Ramirez-Zavala B, Lünsdorf H, Agerberth B, Morschhäuser J, Römling U. Characterization of biofilm formation and the role of BCR1 in clinical isolates of *Candida parapsilosis*. *Eukaryot Cell*. 2014; 13(4): 438-451. doi: 10.1128/EC.00181-13

10. Xu W, Dong S, Han Y, Li S, Liu Y. Hydrogels as antibacterial biomaterials. *Curr Pharm Des*. 2018; 24(8): 843-854. doi: 10.2174/1381612824666180213122953

11. Linnes JC, Ma H, Bryers JD. Giant extracellular matrix binding protein expression in staphylococcus epidermidis is regulated by biofilm formation and osmotic pressure. *Curr Microbiol*. 2013; 66(6): 627-633. doi: 10.1007/s00284-013-0316-7

12. Romani AM, Fund K, Artigas J, Schwartz T, Sabater S, Obst U. Relevance of polymeric matrix enzymes during biofilm formation. *Microbial Ecology*. 2008; 56(3): 427-436. doi: 10.1007/s00248-007-9361-8

13. Kanwar I, Sah AK, Suresh PK. Biofilm-mediated antibiotic-resistant oral bacterial infections: Mechanism and combat strategies. *Curr Pharm Des*. 2017; 23(14): 2084-2095. doi: 10.2174/1381612822666161124154549

14. Немченко У.М., Кунгурцева Е.А., Григорова Е.В., Белькова Н.Л., Маркова Ю.А., Носкова О.А., и др. Моделирование бактериальных биоплёнок и оценка чувствительности возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, к дезинфицирующему средству Секусепт актив. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(10): 652-658. doi: 10.18821/0869-2084-2020-65-10-652-658

15. Григорова Е.В., Немченко У.М., Воропаева Н.М., Белькова Н.Л., Носкова О.А., Савилов Е.Д. Биоплёнообразование под воздействием дезинфицирующих средств с разным активным компонентом у *Pseudomonas aeruginosa*. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2021; 171(6): 733-738. doi: 10.47056/0365-9615-2021-171-6-733-738

16. Савилов Е.Д., Маркова Ю.А., Немченко У.М., Носкова О.А., Чemezova Н.Н., Кунгурцева Е.А., и др. Способность к биоплёнокообразованию у возбудителей инфекций, выделенных от пациентов крупного многопрофильного детского стационара. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2020; 1(79): 32-35. doi: 10.34215/1609-1175-2020-1-32-35

17. Годовалов А.П., Степанов М.С., Кобзаренко Е.Е. *Способ оценки морфологической структуры биопленок микроорганизмов*: Патент № 2719402 Рос. Федерация; МПК G01N 33/483 (2006.01), C12Q 1/02 (2006.01); заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский уни-

верситет имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава России. № 2019145542; заявл. 30.12.2019; опубл. 17.04.2020; Бюл. № 11.

18. Осипова Е.В., Шипицына И.В., Науменко З.С. Сравнительная количественная оценка способности образования биоплёнки различными клиническими штаммами бактерий на поверхности полистирола стекла. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2014; 8-1: 55-58.

19. Леонов В.В. Количественная оценка способности условно-патогенных микроорганизмов к образованию биоплёнки в эксперименте. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2012; 10: 57-59.

20. Игнатенко А.В. Изучение образования биопленок бактерий и оценка их устойчивости к биоцидам. *Труды Белорусского Государственного Технологического университета. Химия и технология органических веществ*. 2008; 1(4): 173-176.

REFERENCES

1. Verderosa AD, Totsika M, Fairfull-Smith KE. Bacterial biofilm eradication agents: A current review. *Front Chem*. 2019; 7: 824. doi: 10.3389/fchem.2019.00824

2. Jamal M, Tasneem U, Hussain T, Andleeb S. Bacterial biofilm: Its composition, formation and role in human infections. *J Microbiol Biotechnol*. 2015; 4: 1-14.

3. Pelling H, Nzakizwanayo J, Milo S, Denham EL, MacFarlane WM, Bock LJ, et al. Bacterial biofilm formation on indwelling urethral catheters. *Lett Appl Microbiol*. 2019; 68(4): 277-293. doi: 10.1111/lam.13144

4. Patini R, Staderini E, Lajolo C, Lopetuso L, Mohammed H, Rimondini L, et al. Relationship between oral microbiota and periodontal disease: A systematic review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018; 22: 5775-5788. doi: 10.26355/eurrev_201809_15903

5. Talapko J, Škrlec I. The principles, mechanisms, and benefits of unconventional agents in the treatment of biofilm infection. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2020; 13(10): 299. doi: 10.3390/ph13100299

6. Li Z, Knetsch M. Antibacterial strategies for wound dressing: Preventing infection and stimulating healing. *Curr Pharm Des*. 2018; 24(8): 936-951. doi: 10.2174/1381612824666180213141109

7. Xie T, Wu Q, Zhang J, Xu X, Cheng J. Comparison of *Vibrio parahaemolyticus* isolates from aquatic products and clinical by antibiotic susceptibility, virulence, and molecular characterisation. *Food Control*. 2017; 71: 315-321. doi: 10.1016/j.foodcont.2016.06.046

8. Bjarnsholt T, Buhlin K, Dufrène YF, Gomelsky M, Moroni A, Ramstedt M, et al. Biofilm formation – what we can learn from recent developments. *J Intern Med*. 2018; 284(4): 332-345. doi: 10.1111/joim.12782

9. Pannanusorn S, Ramirez-Zavala B, Lünsdorf H, Agerberth B, Morschhäuser J, Römling U. Characterization of biofilm formation and the role of BCR1 in clinical isolates of *Candida parapsilosis*. *Eukaryot Cell*. 2014; 13(4): 438-451. doi: 10.1128/EC.00181-13

10. Xu W, Dong S, Han Y, Li S, Liu Y. Hydrogels as antibacterial biomaterials. *Curr Pharm Des*. 2018; 24(8): 843-854. doi: 10.2174/1381612824666180213122953

11. Linnes JC, Ma H, Bryers JD. Giant extracellular matrix binding protein expression in staphylococcus epidermidis is regulated by biofilm formation and osmotic pressure. *Curr Microbiol*. 2013; 66(6): 627-633. doi: 10.1007/s00284-013-0316-7

12. Romani AM, Fund K, Artigas J, Schwartz T, Sabater S, Obst U. Relevance of polymeric matrix enzymes during biofilm formation. *Microbial Ecology*. 2008; 56(3): 427-436. doi: 10.1007/s00248-007-9361-8

13. Kanwar I, Sah AK, Suresh PK. Biofilm-mediated antibiotic-resistant oral bacterial infections: Mechanism and combat strategies. *Curr Pharm Des*. 2017; 23(14): 2084-2095. doi: 10.2174/1381612822666161124154549

14. Nemchenko UM, Kungurceva EA, Grigorova EV, Bel'kova NL, Markova YuA, Noskova OA, et al. Simulation of bacterial biofilms and estimation of the sensitivity of healthcare-associated infection pathogens to bactericide Sekusept active. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2020; 65(10): 652-658. (In Russ.). doi: 10.18821/0869-2084-2020-65-10-652-658

15. Grigorova EV, Nemchenko UM, Voropaeva NM, Bel'kova NL, Noskova OA, Savilov ED. Biofilm formation exposed to disinfectants with different active ingredients in *Pseudomonas aeruginosa*. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2021; 171(6): 733-738. (In Russ.). doi: 10.47056/0365-9615-2021-171-6-733-738

16. Savilov ED, Markova YuA, Nemchenko UM, Noskova OA, Chemezova NN, Kungurtseva EA, et al. Ability to biofilm formation

in infectious agents isolated from patients of a large general children's hospital. *Pacific Medical Journal*. 2020; 1(79): 32-35. (In Russ.). doi: 10.34215/1609-1175-2020-1-32-35

17. Godovalov AP, Stepanov MC, Kobzareno EE. *Surviving as a community: Antibiotic tolerance and persistence in bacterial biofilms*: Patent No. 2719402 of the Russian Federation. 2020; (11). (In Russ.).

18. Osipova EV, Shipicyna IV, Naumenko ZS. A comparative quantitative evaluation of the potential of biofilm formation by different bacterial clinical strains on polystyrene and glass surface. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2014; 8-1: 55-58. (In Russ.).

19. Leonov VV. The quantitative evaluation of capacity of opportunistic pathogenic microorganisms to form biofilms in experiment. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2012; 10: 57-59. (In Russ.).

20. Ignatenko AV. Study of bacterial biofilm formation and assessment of their resistance to biocides. *Trudy Belorusskogo Gosudarstvennogo Tekhnologicheskogo universiteta. Khimiya i tekhnologiya organicheskikh veshchestv*. 2008; 1(4): 173-176. (In Russ.).

Сведения об авторах

Ситникова Ксения Олеговна – лаборант-исследователь лаборатории микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: butakovaksenia505@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7717-906X>

Немченко Ульяна Михайловна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: umnemch@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7656-342X>

Воропаева Наталья Михайловна – младший научный сотрудник лаборатории микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: n.m.shabanova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7026-2522>

Григорова Екатерина Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6588-2591>

Савилов Евгений Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эпидемиологии и микробиологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: savilov47@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9217-6876>

Маркова Юлия Александровна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией «Растительно-микробных взаимодействий», ФГБНУ Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, e-mail: juliam06@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7767-4204>

Белькова Наталья Леонидовна – кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nlbelkova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Information about the authors

Kseniya O. Sitnikova – Research Assistant at the Laboratory for Microecology and Microbiome, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: butakovaksenia505@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7717-906X>

Ulyana M. Nemchenko – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory for Microecology and Microbiome, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: umnemch@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7656-342X>

Natalia M. Voropaeva – Junior Research Officer at the Laboratory for Microecology and Microbiome, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: n.m.shabanova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7026-2522>

Ekaterina V. Grigorova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory for Microecology and Microbiome, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6588-2591>

Eugeny D. Savilov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Epidemiology and Microbiology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Chief Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Significant Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: savilov47@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9217-6876>

Yuliya A. Markova – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Plant-Microbial Interactions, Siberian Institute of Physiology and Biochemistry of Plants, e-mail: juliam06@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7767-4204>

Natalia L. Belkova – Cand. Sc. (Biol.), Docent, Leading Research Officer, Head of the Laboratory for Microecology and Microbiome, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nlbelkova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

РАЗРАБОТКА МОДЕЛЕЙ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ РИСКА ТЯЖЁЛОГО ТЕЧЕНИЯ ЛИХОРАДОЧНОЙ ФОРМЫ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

РЕЗЮМЕ

Филатова Е.Н.¹,
Ильинских Е.Н.^{1,2},
Решетова А.В.¹,
Пучкова Н.Н.¹,
Портнягина Е.В.¹,
Петрова Е.И.¹,
Минакова Ю.В.¹,
Воронкова О.В.¹,
Мотлохова Е.А.¹,
Найденова Н.Е.¹,
Ильинских Н.Н.^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет»
Минздрава России (634050, г. Томск, Московский тракт, 2, Россия)

² ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»
(634050, г. Томск, пр. Ленина, 36, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Филатова Евгения Николаевна,
e-mail: infconf2009@gmail.com

Обоснование. В настоящее время отсутствуют общепринятая классификация и клинические подходы к оценке степени тяжести клещевого энцефалита.

Цель исследования. Разработка моделей количественной оценки тяжести лихорадочной формы клещевого энцефалита на основе наиболее информативных предикторов тяжёлого течения.

Материалы и методы. В соответствии с клиническими критериями, основанными на оценке высоты и продолжительности лихорадки, были сформированы две группы из 9 и 30 пациентов соответственно с тяжёлым и нетяжёлым течением лихорадочной формы клещевого энцефалита (средний возраст – $52,2 \pm 4,3$ и $49,5 \pm 3,9$ года соответственно). Дизайн исследования соответствовал ретроспективному исследованию типа «случай – контроль». Статистическая значимость различий переменных оценивалась с помощью критерия хи-квадрат. Вычислялись показатели отношения шансов. Разработка моделей логистической регрессии проводилась с помощью модулей Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США).

Результаты. Разработана анкета количественной оценки в баллах тяжести течения лихорадочной формы клещевого энцефалита на основе высоты лихорадки и 11 наиболее информативных предикторов тяжёлого течения болезни, включавших артралгию, озноб, нарушение сна, головокружение, орбитальные боли, тошноту, фотофобию, миалгию, сильную головную боль, рвоту и менингизм. Для прогнозирования тяжёлого течения заболевания построены две модели логистической регрессии – с учётом или без учёта синдрома лихорадки в сумме баллов количественной оценки (коэффициенты α и β составили $-12,13$ и $0,94$, а также $-5,78$ и $0,75$ для моделей 1 и 2 соответственно). Модели 1 и 2 продемонстрировали высокую прогнозируемую вероятность тяжёлого течения заболевания при порогах отсечения значений 14 и 9 баллов и «отличное» качество прогноза (AUC равна 0,99 и 0,98 соответственно).

Заключение. Разработанные модели позволяют с высокой вероятностью определить риск тяжёлого течения лихорадочной формы клещевого энцефалита, что может быть использовано в клинической практике и в научных целях.

Ключевые слова: клещевой энцефалит, лихорадочная форма, тяжесть течения, анкета, модель логистической регрессии, ретроспективные исследования, чувствительность, специфичность

Для цитирования: Филатова Е.Н., Ильинских Е.Н., Решетова А.В., Пучкова Н.Н., Портнягина Е.В., Петрова Е.И., Минакова Ю.В., Воронкова О.В., Мотлохова Е.А., Найденова Н.Е., Ильинских Н.Н. Разработка моделей количественной оценки риска тяжёлого течения лихорадочной формы клещевого энцефалита. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 129-138. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.14

Статья поступила: 01.06.2022

Статья принята: 19.10.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

DEVELOPMENT OF SCORE MODELS FOR SEVERE COURSE RISK ASSESSMENT OF FEBRILE FORM OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS

Filatova E.N.¹,
Ilyinskikh E.N.^{1,2},
Reshetova A.V.¹,
Puchkova N.N.¹,
Portnyagina E.V.¹,
Petrova E.I.¹,
Minakova Yu.V.¹,
Voronkova O.V.¹,
Motlokhova E.A.¹,
Naydenova N.E.¹,
Ilyinskikh N.N.^{1,2}

¹ Siberian State Medical University
(Moskovsky trakt 2, Tomsk 634050,
Russian Federation)

² National Research Tomsk State University
(Lenina ave. 36, Tomsk 634050,
Russian Federation)

Corresponding author:
Evgenia N. Filatova,
e-mail: infconf2009@gmail.com

ABSTRACT

Background. There is no current generally accepted classification and clinical approaches to assess the clinical course severity of tick-borne encephalitis.

The aim is to develop models for the quantitative severity scores of the febrile form of tick-borne encephalitis using the most informative predictors.

Materials and methods. In accordance with clinical criteria of the height and duration of fever, two groups of 9 and 30 patients (52.2 ± 4.3 and 49.5 ± 3.9 years old) with severe and non-severe febrile form of tick-borne encephalitis were formed. The study design was a retrospective case-control study. Statistical significance assessment of variables was carried out using the chi-square test. The odds ratios were also calculated. The development of logistic regression models was carried out using Statistica 12.0 modules.

Results. A questionnaire of febrile form of tick-borne encephalitis severity score was developed using the height of fever and 11 most informative clinical predictors including arthralgia, chills, sleep disturbance, dizziness, orbital pain, nausea, photophobia, myalgia, severe headache, vomiting and meningism. To predict the severe clinical course of febrile form of tick-borne encephalitis, two logistic regression models were developed with or without severity score assessment of fever syndrome (coefficients α and β were -12.13 and 0.94 and -5.78 and 0.75 for models 1 and 2, respectively). Models 1 and 2 demonstrated a high predicted probability for cut-off values equal to 14 and 9 points and excellent quality of prediction test (AUC are equal to 0.99 and 0.98, respectively).

Conclusions. The models of severity score demonstrated high predicted probabilities to predict severe clinical course of febrile form of tick-borne encephalitis, which can be used in clinical practice and for scientific purposes.

Key words: tick-borne encephalitis, febrile form, severity, questionnaires, logistic regression model, retrospective studies, sensitivity, specificity

For citation: Filatova E.N., Ilyinskikh E.N., Reshetova A.V., Puchkova N.N., Portnyagina E.V., Petrova E.I., Minakova Yu.V., Voronkova O.V., Motlokhova E.A., Naydenova N.E., Ilyinskikh N.N. Development of score models for severe course risk assessment of febrile form of tick-borne encephalitis. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 129-138. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.14

Received: 01.06.2022
Accepted: 19.10.2022
Published: 08.12.2022

Клещевой энцефалит (КЭ) относится к числу наиболее распространённых инфекций, передающихся иксодовыми клещами, как на территории Сибирского федерального округа (СФО), так и Томской области [1, 2]. В период с 2009 по 2020 г. в Томской области показатели заболеваемости КЭ ежегодно превышали общероссийские значения от 4,5 до 5,8 раза [3].

Известно, что клиническая картина КЭ может существенно варьировать от бессимптомных и лёгких форм до крайне тяжёлых вариантов, исходом которых может быть инвалидизация или смерть пациента [4, 5]. Более того, соотношение больных, имеющих различные клинические формы и тяжесть течения заболевания, может значительно различаться между группами пациентов, проживающих в различных географических регионах [6], что может зависеть не только от возраста, пола, наличия фоновой патологии, особенностей иммунореактивности организма у конкретного больного, но и от генотипа возбудителя, доминирующего в той или иной местности [7, 8].

В настоящее время отсутствует общепринятая классификация и клинические подходы к оценке степени тяжести КЭ, что часто делает характеристику клинического течения заболевания неточной [9, 10]. Клиницисты в разных стационарах и регионах зачастую применяют различные клинические параметры оценки тяжести течения КЭ. Имеющиеся в настоящее время клинические критерии степени тяжести лихорадочной формы (ЛФ) КЭ основаны только на оценке высоты и продолжительности лихорадки без учёта синдромов интоксикации и менингизма, которые характерны для тяжёлого течения этого варианта КЭ [10, 11]. В результате используемая в настоящее время методика оценки тяжести течения заболевания не позволяет проводить какое-либо сравнение внутри и между обследованными группами больных, что важно как для клинической практики, так и для научных исследований.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка моделей количественной оценки тяжести заболевания на основе наиболее информативных предикторов тяжёлого течения ЛФ КЭ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В общей сложности в ретроспективное клиническое исследование было включено 39 историй болезней пациентов с диагнозом моноинфекции ЛФ КЭ, госпитализированных в инфекционную клинику ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Томск) в период с 2009 по 2022 г. Выборка историй болезни формировалась с применением таблицы случайных чисел. Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протоколы № 7939 от 21.10.2019 и № 9119/1 от 30.05.2022). Информированное согласие было получено от всех пациентов, участвовавших в исследовании.

В данном исследовании в качестве клинического подхода для дифференцировки тяжёлой степени тяжести и нетяжёлого течения ЛФ КЭ, соответствующего лёгкому и среднетяжёлому течению болезни, были использованы критерии, предложенные Н.Г. Жуковой и соавт. [9]. Данный клинический способ оценки степени тяжести основан только на оценке высоты и продолжительности лихорадочной реакции: лёгкой степень тяжести соответствует температуре тела до 38,0 °C длительностью до 3 дней, для средней степени тяжести лихорадка варьирует от 38,1 до 39,6 °C продолжительностью от 4 до 7 дней, а критериями тяжёлой степени тяжести были повышение температуры тела свыше 39,6 °C в течение более чем 7 дней [9].

В соответствии с этими клиническими критериями больные ЛФ КЭ были разделены на две группы: группу 1, включавшую 9 пациентов с тяжёлым течением болезни, и группу 2, состоящую из 30 больных с лёгкой и среднетяжёлой степенью тяжести. Дизайн исследования соответствовал ретроспективному исследованию типа «случай – контроль». Численность групп 1 и 2 имела соотношение 1:3 с сохранением баланса по возрасту и полу. Группа 1 включала 4 (44,4 %) больных мужского пола и 5 (55,6 %) пациентов женского пола. Средний возраст пациентов в группе 1 с тяжёлым течением был 52,2 ± 4,3 года. В группу 2 больных с нетяжёлым течением ЛФ КЭ было включено 13 (43,3 %) мужчин и 17 (56,7 %) женщин. Средний возраст больных в группе 2 составил 49,5 ± 3,9 года.

Во всех случаях у пациентов диагноз КЭ был верифицирован с помощью определения в сыворотке крови IgM и IgG к вирусу КЭ, а также антигена этого вируса методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) при поступлении больного в стационар и в динамике через 10–14 дней с применением тест-систем АО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ) был исключён на основании отсутствия «мигрирующей» эритемы в месте присасывания клеща и отрицательных результатов ИФА с определением IgM и IgG к *Borrelia burgdorferi* s.l. в день обращения пациента и спустя 21 день от момента заболевания с применением тест-систем АО «Вектор-Бест» (Новосибирск).

Критериями включения в исследование для групп пациентов были возраст от 20 до 60 лет, поступление в стационар в срок не позднее 5 дней от начала заболевания, обнаружение иммуноглобулинов IgM к вирусу КЭ и АГ вируса КЭ в крови больного, нормальные показатели спинномозговой жидкости в случае наличия положительных менингеальных симптомов для исключения менингеальной формы КЭ.

Все включённые в исследование пациенты находились в стационаре под наблюдением опытных клиницистов. У всех больных был собран подробный эпидемиологический анамнез, изучены жалобы, проведён физикальный осмотр и получены результаты всех необходимых клинико-лабораторных исследований. С целью соблюдения корректности определения степени тяжести, выявленной у больных ЛФ КЭ с помощью клинических критериев и новой количественной системы в баллах, проводилась независимая оценка тяжести течения заболевания с помощью этих методов с участием двух

опытных клиницистов, которые не были осведомлены о полученных друг другом результатах.

Для статистического анализа использовалось программное обеспечение Epi Info, версия 3.3.2 (США) и Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США) [12]. Количественные данные проверяли на соответствие нормальному закону распределения с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Размер случайной выборки предварительно не рассчитывался. Для определения статистической значимости различий независимых выборок количественных переменных применяли t-критерий Стьюдента в случае нормального распределения данных.

Для оценки статистической значимости различий качественных переменных между группами с тяжёлым и нетяжёлым течением заболеваний использовали непараметрический критерий статистической значимости гипотезы «хи-квадрат» (χ^2) с поправкой Йейтса [13]. Для оценки силы взаимосвязи между номинальными переменными применяли критерий V Крамера [14]. Данные были представлены как медиана (Me), первый и третий квартили в формате $[Q_{0,25}; Q_{0,75}]$, отношение шан-

сов (ОШ) и 95%-е доверительные интервалы (95% ДИ) или как $M \pm m$, где M – выборочное среднее, а m – стандартная ошибка. Двусторонние значения $p < 0,05$ были интерпретированы как статистически значимые. Разработка и оценка качества моделей бинарной логистической регрессии проводилось с помощью специализированных модулей программного обеспечения Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США) [12, 15]. Статистическая значимость коэффициентов регрессии оценивалась с использованием статистики Вальда. Оценка чувствительности, специфичности, прогностичности положительного и отрицательного результатов, а также точности модели логистической регрессии прогноза тяжёлого течения ЛФ КЭ проводилась при различных значениях количественной оценки в баллах с использованием оптимального порога отсека COV (cut-off value). Качество модели логистической регрессии было также проверено с помощью ROC-анализа (receiver operating characteristic, рабочая характеристика приёмника) с вычислением AUC (area under ROC curve) – интегральной площади под характеристической ROC-кривой [16].

ТАБЛИЦА 1

ИНФОРМАТИВНОСТЬ КЛИНИЧЕСКИХ ПРЕДИКТОРОВ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ МОДЕЛЕЙ ЛОГИСТИЧЕСКОЙ РЕГРЕССИИ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ ТЯЖЁЛОГО ТЕЧЕНИЯ ЛИХОРАДОЧНОЙ ФОРМЫ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

TABLE 1

CLINICAL PREDICTORS FOR THE DEVELOPMENT OF LOGISTIC REGRESSION MODEL FOR SEVERE COURSE RISK SCORE ASSESSMENT OF THE FEBRILE FORM OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS

Предикторы	Частота в группах больных, абс. (%)		ОШ (95% ДИ)	χ^2	V
	группа 1 (n = 9)	группа 2 (n = 30)			
Озноб	6 (67,7)	7 (23,3)	6,6 (1,3–33,3)	5,8 $p = 0,016$	0,36
Миалгия	8 (88,9)	7 (23,3)	26,3 (2,8–248,0)	12,6 $p < 0,001$	0,49
Артралгия (оссалгия)	7 (70,0)	10 (33,3)	4,7 (1,0–22,0)	4,1 $p = 0,042$	0,34
Головная боль (сильная)	8 (88,9)	1 (2,5)	304,0 (17,2–638,8)	35,7 $p < 0,001$	0,65
Нарушение сна	6 (67,7)	7 (23,3)	6,6 (1,3–33,3)	5,8 $p = 0,016$	0,36
Головокружение	6 (67,7)	7 (23,3)	6,6 (1,3–33,3)	5,8 $p = 0,016$	0,36
Болезненность движения глаз	5 (55,6)	4 (13,3)	8,1 (1,5–43,8)	6,9 $p = 0,009$	0,46
Фотофобия (гиперестезия)	6 (67,7)	4 (13,3)	13,0 (2,3–74,1)	10,3 $p = 0,001$	0,46
Тошнота	5 (55,6)	3 (10,0)	11,3 (1,9–66,4)	8,8 $p = 0,003$	0,43
Рвота	5 (55,6)	0	–	–	–
Менингизм	8 (88,9)	0	–	–	–

Примечание. Группа 1 – больные с тяжёлым течением; группа 2 – больные с нетяжёлым течением; ОШ – отношение шансов; 95% ДИ – 95%-й доверительный интервал; χ^2 – критерий статистической значимости гипотезы хи-квадрат; V – критерий V Крамера; n – численность группы; p – статистическая значимость различий показателя между группами 1 и 2.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Группы больных 1 и 2 были сопоставимы по полу и возрасту. Средняя температура тела при поступлении в группу 1 с тяжёлой степенью тяжести составила $39,9 \pm 0,14$ °C, что было существенно выше, чем в группе 2 с нетяжёлым течением ($38,3 \pm 0,10$ °C; $p < 0,001$). Продолжительность лихорадочного периода также значительно отличалась между этими группами ($8,9 \pm 0,5$ дня против $4,4 \pm 0,27$ дня; $p < 0,001$). Двухволнового течения болезни среди обследованных больных выявлено не было. В результате поиска в группах 1 и 2 наиболее информативных клинических предикторов тяжёлого течения ЛФ КЭ в первые дни болезни из 15 проанализированных симптомов нами были отобраны 11 признаков синдромов интоксикации и менингизма, которые наряду с синдромом лихорадки имеют прогностическое значение для тяжёлой степени тяжести ЛФ КЭ (табл. 1).

Для каждого параметра вычислялись частота встречаемости в группах 1 и 2 и показатель ОШ, который показывает во сколько раз шанс иметь изучаемый признак в группе 1 с тяжёлой степенью тяжести выше, чем в группе 2 с нетяжёлым течением ЛФ КЭ. Кроме того, для оценки силы взаимосвязи между признаками применяли критерий V Крамера [14]. Установлено, что синдром менингизма и рвота встречались только в группе 1 больных с тяжёлым течением. Остальные изученные параметры по величине эффекта на риск развития тяжёлого течения ЛФ КЭ можно расположить в порядке возрастания следующим образом: артралгия (оссалгия), озноб, нарушение сна (сонливость и бессонница), головокружение, орбитальные боли (болезненность при движении глаз), тошнота, фотофобия, миалгия и сильная головная боль. На основе полученных данных об информативности клинических предикторов нами была разработана анкета, включавшая вышеперечисленные проявления синдромов лихорадки, интоксикации и менингизма для оценки риска тяжёлого течения ЛФ КЭ. Каждому параметру, включённому в анкету (табл. 2), соответствует определённое количество баллов. При наличии параметра пациенту присваивалось определённое количество баллов, которые затем суммировались. Отсутствие признака оценивалось как ноль баллов. Таким образом, общая сумма баллов у каждого больного зависела от наличия и интенсивности симптомов.

ТАБЛИЦА 3
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ В БАЛЛАХ В ГРУППАХ БОЛЬНЫХ С ТЯЖЁЛЫМ И НЕТЯЖЁЛЫМ ТЕЧЕНИЕМ ЛИХОРАДОЧНОЙ ФОРМЫ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

Варианты	Оценка тяжести течения, в баллах, Me [$Q_{0,25}$; $Q_{0,75}$]		<i>p</i>
	группа 1 (<i>n</i> = 9)	группа 2 (<i>n</i> = 30)	
Вариант 1	16,0 [15,0; 18,0]	5,0 [4,5; 6,0]	< 0,001
Вариант 2	10,0 [9,0; 12,0]	2,0 [1,0; 2,0]	< 0,001

Примечание. Вариант 1 – количественная оценка с учётом синдромов лихорадки, интоксикации и менингизма; вариант 2 – количественная оценка без учёта синдрома лихорадки; Me – медиана; [$Q_{0,25}$; $Q_{0,75}$] – первый и третий квартили; *n* – численность группы; *p* – статистическая значимость различий значений показателя между группами 1 и 2.

ТАБЛИЦА 2
АНКЕТА КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ У БОЛЬНЫХ ЛИХОРАДОЧНОЙ ФОРМОЙ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

TABLE 2
SEVERITY SCORE QUESTIONNAIRE FOR PATIENTS WITH FEBRILE FORM OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS

Симптомы	Баллы*
Максимальные значения температуры тела:	
субфебрилитет от 37,1 до 38,0 °C	+2
от 38,1 до 39,6 °C	+4
более 39,6 °C	+6
Озноб	+1
Миалгии	+1
Артралгия (оссалгия)	+1
Головная боль	
слабая	+1
сильная	+2
Нарушение сна (сонливость/бессонница)	+1
Головокружение	+1
Болезненность при движении глаз	+1
Фотофобия (гиперестезия)	+1
Тошнота	+1
Рвота	+3
Менингизм	+3

Примечание. * – в случае отсутствия признака присваивается ноль баллов; все полученные за каждый признак баллы суммируются.

В таблице 3 представлены данные распределения значений количественной оценки тяжести течения в баллах в группах больных, которые были установлены для двух вариантов: в варианте 1 определялась общая сумма баллов с включением всех трёх синдромов лихорадки, интоксикации и менингизма, а для вариан-

TABLE 3
DISTRIBUTION OF THE RESULTS OF QUANTITATIVE SEVERITY SCORES IN GROUPS OF PATIENTS WITH SEVERE AND NON-SEVERE FEBRILE FORM OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS

та 2 подсчитывалась сумма баллов без учёта синдрома лихорадки.

Для прогнозирования тяжёлого течения ЛФ КЭ и анализа оптимальных порогов отсечения COV в баллах, которые соответствуют границам диапазонов показателя и позволяют достоверно разделить больных с тяжёлым и нетяжёлым течением ЛФ КЭ, для приведённых выше вариантов 1 и 2 были построены две модели бинарной логистической регрессии. В модели 1 количественной оценки с учётом синдромов лихорадки, интоксикации и менингизма коэффициенты регрессии α и β составили $-12,13 \pm 6,13$ и $0,94 \pm 0,47$ ($p = 0,042$ и $p = 0,048$) соответственно. В модели 2 количественной оценки без учёта синдрома лихорадки коэффициенты регрессии α и β были равны $-5,78 \pm 1,94$ и $0,75 \pm 0,24$ ($p = 0,003$ и $p = 0,002$) соответственно. Таким образом, для расчёта прогнозируемой вероятности $P(X)$ тяжёлого течения у больного ЛФ КЭ с помощью показателя количественной оценки в условных баллах можно использовать два уравнения логистической регрессии:

$$P_1(X) = \frac{\exp(-12,13 + 0,94 \times x_1)}{1 + \exp(-12,13 + 0,94 \times x_1)}$$

и

$$P_2(X) = \frac{\exp(-5,78 + 0,75 \times x_2)}{1 + \exp(-5,78 + 0,75 \times x_2)},$$

где $P_1(X)$ и $P_2(X)$ – прогнозируемая вероятность; x_1 и x_2 – значение суммы баллов количественной оценки у больного для моделей 1 и 2 соответственно.

В таблице 4 приведены результаты анализа прогнозируемой вероятности тяжёлого течения болезни при различных значениях количественной оценки в баллах с использованием оптимальных порогов отсечения

переменной COV и учётом значений чувствительности и специфичности для моделей 1 и 2.

На основании расчётов прогнозируемой вероятности тяжёлого течения болезни при различных значениях количественной оценки в баллах было установлено, что больные ЛФ КЭ, показавшие в модели 1 и 2 сумму баллов равную 13 и 8 соответственно, могли быть отнесены с прогнозируемой вероятностью менее 0,5 в группу 2 с нетяжёлым течением и с вероятностью 0,5 – к группе 1 с тяжёлой формой заболевания. При COV равном 13 и 8 соответственно чувствительность моделей 1 и 2 логистической регрессии составила 89 %, специфичность – 93 %, прогностическая ценность положительного результата – 0,80, а точность – 0,92. Больные, получившие менее 13 и 8 баллов в моделях 1 и 2 количественной оценки, имели очень низкую вероятность развития тяжёлого течения болезни. Вместе с тем, у пациентов, получивших в моделях 1 и 2 сумму баллов 14 и 9 соответственно, была высокая прогнозируемая вероятность ($P(X) = 0,73$) тяжёлого течения ЛФ КЭ, что сочеталось с не менее высокими показателями чувствительности, специфичности, точности прогностической ценности положительного и отрицательного результатов.

В целом разработанные нами модели 1 и 2 имели «отличное» качество прогноза развития тяжёлого течения ЛФ КЭ ($AUC = 0,99 \pm 0,01$ и $AUC = 0,98 \pm 0,01$ соответственно).

Для дополнительного определения качества моделей 1 и 2 логистической регрессии результаты классификации больных, имеющих или не имеющих тяжёлое течение, установленные с помощью количественной оценки в баллах, сравнивались с данными, полученными с применением клинических критериев степени тяжести ЛФ КЭ (табл. 5).

ТАБЛИЦА 4
ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И СПЕЦИФИЧНОСТИ МОДЕЛЕЙ ЛОГИСТИЧЕСКОЙ РЕГРЕССИИ ПРОГНОЗА ТЯЖЁЛОГО ТЕЧЕНИЯ ЛИХОРАДОЧНОЙ ФОРМЫ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗНАЧЕНИЯХ ОПТИМАЛЬНОГО ПОРОГА ОТСЕЧЕНИЯ

TABLE 4
EVALUATION OF THE SENSITIVITY AND SPECIFICITY OF LOGISTIC REGRESSION MODELS FOR THE PREDICTION OF SEVERE COURSE OF THE FEBRILE FORM OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS FOR DIFFERENT CUT-OFF VALUES

Показатель	COV, в баллах x_i							
	Модель 1			Модель 2				
	≥ 13	≥ 14	≥ 15	≥ 16	≥ 8	≥ 9	≥ 10	≥ 12
$P(X)$	0,51	0,73	0,87	0,95	0,56	0,73	0,85	0,96
Чувствительность	0,89	0,89	0,78	0,67	0,89	0,78	0,67	0,33
Специфичность	0,93	0,97	1,0	1,0	0,93	0,93	0,97	1,0
ACC	0,92	0,95	0,95	0,92	0,92	0,90	0,90	0,90
PPV	0,80	0,89	1,0	1,0	0,80	0,78	0,86	1,0
NPV	0,97	0,97	0,94	0,91	0,97	0,93	0,91	0,83

Примечание. COV (cut-off value) – значения оптимального порога отсечения переменной; модель 1 – количественная оценка с учётом синдромов лихорадки, интоксикации и менингизма; модель 2 – количественная оценка без учёта синдрома лихорадки; $P(X)$ – прогнозируемая вероятность; ACC (accuracy) – точность; PPV (positive predictive value) – прогностическая ценность положительного результата; NPV (negative predictive value) – прогностическая ценность отрицательного результата.

ТАБЛИЦА 5

СРАВНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ОЦЕНКИ ТЯЖЕСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ КЛИНИЧЕСКИХ КРИТЕРИЕВ И КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ В БАЛЛАХ У БОЛЬНЫХ ЛИХОРАДОЧНОЙ ФОРМОЙ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

TABLE 5

COMPARISON OF THE RESULTS OF SEVERITY ASSESSMENT USING CLINICAL CRITERIA AND QUANTITATIVE SCORES IN PATIENTS WITH FEBRILE FORM OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS

Методы классификации случаев	Число случаев (n = 39), абс. (%)			
	Модель 1		Модель 2	
	группа 1 (≥ 14 баллов)	группа 2 (< 14 баллов)	группа 1 (≥ 9 баллов)	группа 2 (< 9 баллов)
Критерии	9 (23,1)	30 (76,9)	9 (23,1)	30 (76,9)
Баллы:				
правильно классифицированные (a + d)	8 (20,6)	29 (74,4)	7 (17,9)	28 (71,9)
неправильно классифицированные (b + c)	1 (2,5)	1 (2,5)	2 (5,1)	2 (5,1)

Примечание. a – число истинноположительных результатов; b – число ложноположительных результатов; c – число ложноотрицательных результатов; d – число истинноотрицательных результатов.

В модели 1 при использовании оптимального порога отсечения COV равного 14 баллам было установлено, что 95 % всех больных были правильно отнесены в свои группы, и только в двух случаях (5 %) результаты оценки тяжести течения с применением клинических критериев и количественной оценки в баллах не совпадали. Один из этих пациентов, классифицированный как имеющий нетяжелое течение в соответствии с клиническими критериями, был неправильно отнесен в группу 1 с тяжелым течением в соответствии с количественной оценкой. Кроме того, использование количественной оценки в баллах привело к тому, что ещё один больной, имеющий тяжелое течение заболевания согласно клиническим критериям, был неправильно классифицирован в группу 2 с нетяжелым течением. Все пациенты с синдромом менингизма имели сумму не менее 15 баллов и были отнесены в группу 1 с тяжелым течением. В модели 2 при использовании COV равного 9 баллам было показано, что 89,8 % всех больных были правильно классифицированы в свои группы. Вместе с тем, у 4 (10,2 %) пациентов результаты оценки тяжести течения с применением клинических критериев и количественной оценки в баллах не совпадали.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, разработаны две модели количественной оценки, позволяющие с высокой вероятностью определить риск тяжелого течения ЛФ КЭ в первые дни болезни. Используемый нами метод количественной оценки тяжести течения в целом очень хорошо коррелировал с общепринятым клиническим подходом. Во всех случаях неправильное определение тяжести течения с помощью количественной оценки, по сравнению с клиническими критериями было связано с тем, что полученные суммы баллов у этих пациентов были очень близки к минимальному лимиту диапазона баллов тяжелого течения.

В отечественных публикациях, посвящённых клинической картине КЭ, даётся лишь описание частоты встречаемости отдельных клинических симптомов в группах больных без указания тяжести течения заболевания [17, 18]. Кроме того, отсутствуют общепринятые клинические критерии тяжести течения этого заболевания. Вместе с тем, известно, что количественный подход был использован различными авторами для ранней диагностики, оценки тяжести течения или прогнозирования исходов при таких инфекционных заболеваниях как клещевой энцефалит [19], болезнь Лайма [20], лихорадка денге [21] и новая коронавирусная инфекция COVID-19 [22]. В частности, P. Vogović и соавт. [19] была предложена и протестирована в сравнении с традиционным клиническим подходом система количественной оценки, позволяющая дифференцировать лихорадочную, менингеальную и очаговую формы болезни.

Метод количественной оценки степени тяжести имеет несколько преимуществ, по сравнению традиционными клиническими критериями. Во-первых, в отличие от клинических критериев [9, 10], которые учитывают только высоту и продолжительность лихорадки у больных, предложенная нами анкета принимала во внимание основные симптомы интоксикации и проявления синдрома менингизма. Во-вторых, предложенная количественная система представляет собой критерии, позволяющие достоверно прогнозировать тяжелое течение болезни уже в первые дни заболевания и чётко дифференцировать больных, имеющих тяжелое или нетяжелое течение, что может быть использовано как в клинической практике, так и в научных исследованиях для сравнения тяжести течения болезни у пациентов из разных групп и популяций. Поскольку количественный подход позволяет более чётко дифференцировать больных в зависимости от тяжести клинического течения болезни, то это позволяет более обоснованно выбирать схемы и продолжительность этиотропной терапии. В-третьих, количественный подход позволяет адекватно оценить выра-

женность лихорадочно-интоксикационного синдрома и дифференцировать по этому параметру больных внутри из групп с тяжёлым и нетяжёлым течением. Поэтому потенциально подобная система оценки степени тяжести может быть применена для создания алгоритмов постановки диагноза у больных клещевыми инфекциями.

Вместе с тем, хотелось бы подчеркнуть, что разработанный вариант анкеты количественной оценки тяжести течения имеет ограничения в использовании и применим только для больных ЛФ КЭ, а также не может быть использован у больных моложе 20 лет или старше 60 лет, поскольку анкета не была протестирована в других возрастных группах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящее время отсутствует общепринятая классификация и клинические критерии степени тяжести КЭ. Вместе с тем, на примере других инфекций было показано, что модели бинарной логистической регрессии позволяют прогнозировать тяжесть течения и исходы заболевания. Поэтому применение количественного подхода может существенно расширить возможности классификации КЭ и других клещевых инфекций. Разработанные нами две модели количественной оценки позволяют с высокой вероятностью определить риск тяжёлого течения ЛФ КЭ на основе наиболее информативных клинических предикторов синдромов лихорадки, интоксикации и менингизма, что может быть использовано как в клинической практике, так и в научных целях для сравнения тяжести течения болезни у пациентов из разных групп и популяций. Сопоставимость и корректность результатов оценки тяжести течения у больных ЛФ КЭ с помощью клинических критериев и новой количественной системы в баллах была подтверждена путём сравнения этих двух методов. Дальнейшие исследования позволят разработать классификацию для других клинических форм КЭ.

Финансирование

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-15-20010 (<https://rscf.ru/project/22-15-20010>) и средств Администрации Томской области.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Полторацкая Н.В., Полторацкая Т.Н., Панкина Т.М., Шихин А.В., Сизова Н.Н., Дейнеко О.Ю. Анализ эпидемиологической ситуации по клещевому энцефалиту и иксодовому клещевому боррелиозу в Томской области. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2021; (1): 9-15. doi: 10.33092/0025-8326mp2021.1.9-15
- Тимонин А.В., Широкоуступ С.В. Ретроспективный анализ заболеваемости клещевым энцефалитом в Сибирском федеральном округе. *Universum: медицина и фармакология*. 2021; 11(82): 19-20. doi: 10.32743/UniMed.2021.82.11.12408
- Жукова Н.Г., Полторацкая Т.Н., Сизова Н.Н., Полторацкая Н.В., Панкина Т.М., Шихин А.В., и др. Клещевой энцефалит в Томской области. *Терапия*. 2021; 7(5(47)): 14-21. doi: 10.18565/therapy.2021.5.14-21
- Bogovic P, Strle F. Tick-borne encephalitis: A review of epidemiology, clinical characteristics, and management. *World J Clin Cases*. 2015; 3(5): 430-441. doi: 10.12998/wjcc.v3.i5.430
- Ruzek D, Avšič Županc T, Borde J, Chrdle A, Eyer L, Karganova G, et al. Tick-borne encephalitis in Europe and Russia: Review of pathogenesis, clinical features, therapy, and vaccines. *Antiviral Res*. 2019; 164: 23-51. doi: 10.1016/j.antiviral.2019.01.014
- Вотьяков В.И., Злобин В.И., Мишаева Н.П. *Клещевые энцефалиты Евразии (вопросы экологии, молекулярной эпидемиологии, нозологии, эволюции)*. Новосибирск: Наука; 2002.
- Злобин В.И., Джигоев Ю.П., Козлова И.В., Демина Т.В., Верхозина М.М., Аитов К.А., и др. Клещевой энцефалит в России: вопросы этиологии, эпидемиологии и профилактики. *Журнал инфекционной патологии*. 2018; 23(1-4): 19-20.
- Савинова Ю.С. Европейский субтип вируса клещевого энцефалита. Обзор литературы. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(4): 100-113. doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.9
- Жукова Н.Г., Команденко Н.И., Подолекина Л.Е. *Клещевой энцефалит в Томской области (этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика, лечение)*. Томск: СТТ; 2002.
- Кузнецова В.Г., Краснова Е.И., Патурина Н.Г. Клещевой энцефалит в клинической практике врача. *Лечащий врач*. 2015; (1): 20-26.
- Гордеев А.В., Аникина О.Л., Ерохина Л.Г., Мыльникова Е.Ю. Лихорадочная форма клещевого энцефалита у детей Приморья. *Детские инфекции*. 2005; 4(1): 47-48.
- Боровиков В.П. *Популярное введение в современный анализ данных в системе STATISTICA: учебное пособие для вузов*. М.; 2013.
- Лакин Г.Ф. *Биометрия: учебное пособие*. М.: Высшая школа; 1990.
- Bergsma W. A bias-correction for Cramér's V and Tschuprow's T. *J Korean Stat Soc*. 2013; 42(3): 323-328. doi: 10.1016/j.jkss.2012.10.002
- Tolles J, Meurer WJ. Logistic regression: Relating patient characteristics to outcomes. *JAMA*. 2016; 316(5): 533-534. doi: 10.1001/jama.2016.7653
- Zweig MH, Campbell G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: A fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin Chem*. 1993; 39(4): 561-577.
- Надеждина М.В., Топоркова М.Г., Гурарий Н.М., Махнева Н.А. Клиника и оптимизация лечения острых форм клещевого энцефалита. *Бюллетень сибирской медицины*. 2008; 7(5-1): 263-269. doi: 10.20538/1682-0363-2008-5-1-263-269
- Николенко В.В., Воробьева Н.Н., Меркурьева Е.В., Николенко А.В., Суслина О.А., Окишев М.А., и др. Клинико-эпидемиологические особенности течения клещевого энцефалита в Пермском крае. *Пермский медицинский журнал*. 2020; 37(3): 18-25. doi: 10.17816/pmj37318-25
- Bogovic P, Logar M, Avsic-Zupanc T, Strle F, Lotric-Furlan S. Quantitative evaluation of the severity of acute illness in adult

patients with tick-borne encephalitis. *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 841027. doi: 10.1155/2014/841027

20. Skogman BH, Sjöwall J, Lindgren PE. The NeBoP score – a clinical prediction test for evaluation of children with Lyme Neuroborreliosis in Europe. *BMC Pediatr*. 2015; 15: 214. doi: 10.1186/s12887-015-0537-y

21. Tuan NM, Nhan HT, Chau NV, Hung NT, Tuan HM, Tram TV, et al. Sensitivity and specificity of a novel classifier for the early diagnosis of dengue. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015; 9(4): e0003638. doi: 10.1371/journal.pntd.0003638

22. De Sanctis V, Bedair EMA, Soliman AT, Nair AP, Al Masalani MA, Yassin M. Proposed scoring system for evaluating clinico-radiological severity of COVID-19 using plain chest X-ray (CXR) changes (CO X-RADS): Preliminary results. *Acta Biomed*. 2020; 91(4): e2020172. doi: 10.23750/abm.v91i4.10664

REFERENCES

1. Poltoratskaya NV, Poltoratskaya TN, Pankina TM, Shikhin AV, Sizova NN, Deyneko OYu. Analysis of the epidemiological situation on tick-borne encephalitis and ixodid tick-borne borreliosis in Tomsk region. *Medical Parasitology and Parasitic Diseases*. 2021; (1): 9-15. (In Russ.). doi: 10.33092/0025-8326mp2021.1.9-15

2. Timonin AV, Shirokostup SV. Retrospective analysis of the incidence of tick-borne encephalitis in the Siberian federal district. *Universum: Meditsina i farmakologiya*. 2021; 11(82): 19-20. (In Russ.). doi: 10.32743/UniMed.2021.82.11.12408

3. Zhukova NG, Poltoratskaya TN, Sizova NN, Poltoratskaya NV, Pankina TM, Shikhin AV, et al. Tick-borne encephalitis in the Tomsk region. *Therapy*. 2021; 5(47): 14-21. (In Russ.). doi: 10.18565/therapy.2021.5.14-21

4. Bogovic P, Strle F. Tick-borne encephalitis: A review of epidemiology, clinical characteristics, and management. *World J Clin Cases*. 2015; 3(5): 430-441. doi: 10.12998/wjcc.v3.i5.430

5. Ruzek D, Avšič Županc T, Borde J, Chrdle A, Eyer L, Karganova G, et al. Tick-borne encephalitis in Europe and Russia: Review of pathogenesis, clinical features, therapy, and vaccines. *Antiviral Res*. 2019; 164: 23-51. doi: 10.1016/j.antiviral.2019.01.014

6. Votyakov VI, Zlobin VI, Mishaeva NP. *Tick-borne encephalitis of Eurasia (environmental issues, molecular epidemiology, nosology, evolution)*. Novosibirsk: Nauka; 2002. (In Russ.).

7. Zlobin VI, Dzhoiev YuP, Kozlova IV, Demina TV, Verkhovina MM, Aitov KA, et al. Tick-borne encephalitis in Russia: Issues of etiology, epidemiology and prevention. *Zhurnal infektsionnoy patologii*. 2018; 23(1-4): 19-20. (In Russ.).

8. Savinova YuS. European subtype of tick-borne encephalitis virus. Literature review. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(4): 100-113. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.9

9. Zhukova NG, Komandenko NI, Podoplekina LE. *Tick-borne encephalitis in the Tomsk region (etiology, epidemiology, clinic picture, diagnosis, prevention, treatment)*. Tomsk: STT; 2002. (In Russ.).

10. Kuznetsova VG, Krasnova EI, Paturina NG. Tick-borne encephalitis in the clinical practice of a physician. *Lechaschi vrach*. 2015; (1): 20-26. (In Russ.).

11. Gordeets AV, Anikina OL, Erokhina LG, Mylnikova EYu. Febrile form of tick-borne encephalitis in children of Primorye. *Children Infections*. 2005; 4(1): 47-48. (In Russ.).

12. Borovikov VP. *Popular introduction to contemporary data analysis in STATISTICA: Guidelines for universities*. Moscow; 2013. (In Russ.).

13. Lakin GF. *Biometrics: study guide*. Moscow: Vysshaya shkola; 1990. (In Russ.).

14. Bergsma W. A bias-correction for Cramér's V and Tschuprow's T. *J Korean Stat Soc*. 2013; 42(3): 323-328. doi: 10.1016/j.jkss.2012.10.002

15. Tolles J, Meurer WJ. Logistic regression: Relating patient characteristics to outcomes. *JAMA*. 2016; 316(5): 533-534. doi: 10.1001/jama.2016.7653

16. Zweig MH, Campbell G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: A fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin Chem*. 1993; 39(4): 561-577.

17. Nadezhdina MV, Toporkova MG, Gurariy NM, Makhneva NA. Clinic and optimization of treatment of acute forms of tick-borne encephalitis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2008; 7(5-1): 263-269. (In Russ.). doi: 10.20538/1682-0363-2008-5-1-263-269

18. Nikolenko VV, Vorob'eva NN, Merkur'eva EV, Nikolenko AV, Suslina OA, Okishev MA, et al. Clinicoepidemiological features of tick-borne encephalitis course in Perm krai. *Perm Medical Journal*. 2020; 37(3): 18-25. (In Russ.). doi: 10.17816/pmj37318-25

19. Bogovic P, Logar M, Avsic-Zupanc T, Strle F, Lotric-Furlan S. Quantitative evaluation of the severity of acute illness in adult patients with tick-borne encephalitis. *Biomed Res Int*. 2014; 2014: 841027. doi: 10.1155/2014/841027

20. Skogman BH, Sjöwall J, Lindgren PE. The NeBoP score – a clinical prediction test for evaluation of children with Lyme Neuroborreliosis in Europe. *BMC Pediatr*. 2015; 15: 214. doi: 10.1186/s12887-015-0537-y

21. Tuan NM, Nhan HT, Chau NV, Hung NT, Tuan HM, Tram TV, et al. Sensitivity and specificity of a novel classifier for the early diagnosis of dengue. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015; 9(4): e0003638. doi: 10.1371/journal.pntd.0003638

22. De Sanctis V, Bedair EMA, Soliman AT, Nair AP, Al Masalani MA, Yassin M. Proposed scoring system for evaluating clinico-radiological severity of COVID-19 using plain chest X-ray (CXR) changes (CO X-RADS): Preliminary results. *Acta Biomed*. 2020; 91(4): e2020172. doi: 10.23750/abm.v91i4.10664

Сведения об авторах

Филатова Евгения Николаевна – аспирант кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: infconf2009@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9951-8632>

Ильинских Екатерина Николаевна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; профессор кафедры экологии, природопользования и экологической инженерии, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», e-mail: infconf2009@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7646-6905>

Решетова Алина Васильевна – ассистент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: wind_of_change95@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5195-3897>

Пучкова Надежда Николаевна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: puchkovann@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5307-2460>

Портнягина Елена Владимировна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: elena.cafedra@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4063-5329>

Петрова Екатерина Игоревна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: katyainf@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9796-652X>

Минакова Юлия Владимировна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: minakovay.vtoms@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0436-8377>

Воронкова Ольга Владимировна – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой биологии и генетики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: Voronkova-ov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9478-3429>

Мотлохова Елизавета Андреевна – студентка, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: emotlokhova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7409-3770>

Найденова Надежда Евгеньевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры организации здравоохранения и общественного здоровья, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: nadiet@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4085-388X>

Ильинский Николай Николаевич – доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры биологии и генетики, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» Минздрава России; профессор кафедры экологии, природопользования и экологической инженерии, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», e-mail: nauka-tomsk@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1014-1096>

Information about the authors

Evgenia N. Filatova – Postgraduate at the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Siberian State Medical University, e-mail: infconf2009@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9951-8632>

Ekaterina N. Ilyinskikh – Dr. Sc. (Med.), Docent, Professor at the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Siberian State Medical University; Professor at the Department of Ecology, Nature Management and Environmental Engineering, National Research Tomsk State University, e-mail: infconf2009@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7646-6905>

Alina V. Reshetova – Teaching Assistant at the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Siberian State Medical University, e-mail: wind_of_change95@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5195-3897>

Nadezhda N. Puchkova – Cand. Sc. (Med.), Teaching Assistant at the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Siberian State Medical University, e-mail: puchkovann@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5307-2460>

Elena V. Portnyagina – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Siberian State Medical University, e-mail: elena.cafedra@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4063-5329>

Ekaterina I. Petrova – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Siberian State Medical University, e-mail: katyainf@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9796-652X>

Iuliia V. Minakova – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Siberian State Medical University, e-mail: minakovay.vtoms@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0436-8377>

Olga V. Voronkova – Dr. Sc. (Med.), Docent, Head of the Department of Biology and Genetics, Siberian State Medical University, e-mail: Voronkova-ov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9478-3429>

Elizaveta A. Motlokhova – Student, Siberian State Medical University, e-mail: emotlokhova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7409-3770>

Nadezhda E. Naydenova – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Health Organization and Public Health, Siberian State Medical University, e-mail: nadiet@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4085-388X>

Nicolay N. Ilyinskikh – Dr. Sc. (Biol.), Professor, Professor at the Department of Biology and Genetics, Siberian State Medical University; Professor at the Department of Ecology, Nature Management and Environmental Engineering, National Research Tomsk State University, e-mail: nauka-tomsk@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1014-1096>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

СЕРОПРЕВАЛЕНТНОСТЬ К *ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM* И *EHRLICHIA SP.* У ЛЮДЕЙ, ПОСТРАДАВШИХ ОТ УКУСОВ КЛЕЩЕЙ

Ляпунова Н.А.,
Хаснатинов М.А.,
Данчинова Г.А.

ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Ляпунова Наталья Андреевна,
e-mail: nataly2193@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Население Прибайкалья регулярно страдает от укусов иксодовых клещей, заражённых возбудителями природно-очаговых инфекций. При обращении населения в Центр диагностики и профилактики клещевых инфекций ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (Иркутск) нами ежегодно выявляются анаплазмы вида *Anaplasma phagocytophilum*, а также эрлихии *Ehrlichia chaffeensis*/*E. muris* как в иксодовых клещах, так и в образцах крови людей, пострадавших от присасывания клещей. При этом в открытых источниках отсутствуют данные о заболеваемости гранулоцитарным анаплазмозом человека (ГАЧ) и моноцитарным эрлихиозом человека (МЭЧ) в Прибайкалье. Также в настоящее время опубликовано мало работ по изучению напряжённости иммунного ответа к анаплазмам и эрлихиям у людей, проживающих на обследуемой территории, хотя эта информация является критичной для оценки частоты контактов и риска заражения человека на территории, эндемичной по клещевым инфекциям.

Цель настоящего исследования состоит в актуализации информации о наличии и распространённости специфичных иммуноглобулинов классов М и G к *A. phagocytophilum* и *Ehrlichia sp.* среди жителей Прибайкалья, пострадавших от присасывания клеща.

Методы. На наличие IgM и IgG к возбудителям ГАЧ и МЭЧ проанализированы 204 сыворотки крови людей, обратившихся по факту нападения клеща в 2021 г., с использованием коммерческих тест-систем (ООО «Омникс», Санкт-Петербург).

Результаты. В девяти образцах обнаружены антитела класса G к *A. phagocytophilum*, в одном – антитела класса G к *E. chaffeensis*/*E. muris*. Антитела класса М к обоим патогенам не выявлены.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о регулярном инфицировании населения анаплазмами и эрлихиями, что является признаком существования в Прибайкалье активных природных очагов ГАЧ и МЭЧ. Однако для выяснения реальной эпидемической роли этих инфекций требуется углублённое изучение иммунного статуса как среди здоровых лиц, так и среди пациентов с симптомами инфекционного заболевания.

Ключевые слова: моноцитарный эрлихиоз человека, гранулоцитарный анаплазмоз человека, антитела IgM, антитела IgG, иммуноферментный анализ

Статья поступила: 06.07.2022

Статья принята: 19.10.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Ляпунова Н.А., Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А. Серопревалентность к *Anaplasma phagocytophilum* и *Ehrlichia sp.* у людей, пострадавших от укусов клещей. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 139-144. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.15

SEROPLREVALENCE OF ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM AND EHRLICHIA SP. AMONG PEOPLE AFFECTED BY TICK BITES

Liapunova N.A.,
Khasnatinov M.A.,
Danchinova G.A.

Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Natalia A. Liapunova,
e-mail: nataly2193@mail.ru

ABSTRACT

Background. In spring and summer, the population of the Baikal region regularly comes into contact with the pathogens transmitted through the bites of ixodid ticks. In the Center for Diagnosis and Prevention of Tick-Borne Infections (Irkutsk, Russian Federation), we annually detect anaplasmas of the *Anaplasma phagocytophilum* species, as well as *Ehrlichia chaffeensis*/*E. muris* in both ixodid ticks and blood samples from people who have been bitten by ticks. At the same time, there are no data in open sources on the incidence of human granulocytic anaplasmosis and human monocytic ehrlichiosis in the Baikal region. Currently, there is very little information on the studies of intensity of the immune response to anaplasmas and ehrlichia in people living in the surveyed area, although this information is critical for assessing the frequency of contacts and the risk of infection of people in a territory endemic for tick-borne infections.

The aim. To update information on the presence and prevalence of specific immunoglobulins M and G to *A. phagocytophilum* and *Ehrlichia* sp. among the population of the Irkutsk Region affected by tick bites.

Materials and methods. In total, 204 samples of blood serum from the residents of the Irkutsk Region who were registered to be bitten by ticks were analyzed for the presence of IgM and IgG to human monocytic ehrlichiosis and human granulocytic anaplasmosis agents.

Results. IgG to *A. phagocytophilum* were found in 9 samples, IgG to *E. chaffeensis*/*E. muris* – in 1 sample; no IgM to both pathogens were found in any sample.

Conclusions. The results obtained indicate regular infection of the population with anaplasmas and ehrlichia which is a testifies to the existence of active natural foci of human monocytic ehrlichiosis and human granulocytic anaplasmosis in the Baikal region. To clarify the real epidemic role of these infections, a detailed study of the immune status is required both among healthy individuals and among patients with symptoms of an infectious disease.

Key words: human monocytic ehrlichiosis, human granulocytic anaplasmosis, immunoglobulin G, immunoglobulin M, Anaplasmataceae, ELISA

Received: 06.07.2022
Accepted: 19.10.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Liapunova N.A., Khasnatinov M.A., Danchinova G.A. Seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia* sp. among people affected by tick bites. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 139-144. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.15

ОБОСНОВАНИЕ

Гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ) и моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ) – это острые зоонозные инфекции, характеризующиеся поражением лейкоцитов и вызывающие лихорадочные заболевания у людей [1]. Возбудители этих заболеваний принадлежат родам *Anaplasma* и *Ehrlichia* соответственно, семейству Anaplasmataceae, отряду Rickettsiales. В род *Anaplasma* входят такие виды, как *A. marginale*, *A. (Ehrlichia) platys*, *A. phagocytophila*, *A. bovis* и *A. centrale* [2]. Род *Ehrlichia* включает в себя пять видов: *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. muris* и *E. ruminantium* [3]. По данным Государственных докладов Роспотребнадзора, в 2020 и 2021 гг. заболеваемость МЭЧ и ГАЧ в России отмечена на уровне единичных случаев [4, 5]. Официально опубликованные данные по заболеваемости ГАЧ и МЭЧ в Прибайкалье в настоящее время отсутствуют, однако при обращаемости населения в Центр диагностики и профилактики клещевых инфекций ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (Иркутск) нами ежегодно выявляются анаплазмы вида *A. phagocytophilum* и генетически близкие эрлихии *E. chaffeensis*/*E. muris* [6] (*Ehrlichia* sp.) в клещах и крови пострадавших. Кроме того, другими авторами показано, что в Иркутской области существуют природные очаги ГАЧ и МЭЧ [7, 8]. Хотя анаплазмоз и эрлихиоз человека клинически схожи, они различаются по спектру поражаемых возбудителями клеток крови: эрлихии чаще всего инфицируют моноциты, тогда как *A. phagocytophilum* по большей части поражают гранулоциты [1, 9]. Заражение человека *A. phagocytophilum* и *Ehrlichia* sp. происходит при укусе иксодового клеща; в Восточной Сибири это преимущественно таёжный клещ *Ixodes persulcatus* P. Sch., 1930 [6]. В 2021 г. в вирусологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области» методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) исследовано 689 экземпляров иксодовых клещей, собранных в природных биотопах; в 1,4 % проб выявлены возбудители ГАЧ (в 2020 г. – в 2,9 %), а в 0,4 % проб – возбудители МЭЧ (в 2020 г. – в 2,4 %) [10].

Таким образом, существуют очевидные предпосылки для инфицирования жителей и гостей Прибайкалья возбудителями ГАЧ и МЭЧ, особенно в период сезонного пика численности клещей. Поиск литературных источников в доступных электронных библиотеках показал, что к настоящему моменту есть только одна работа [11], в которой опубликованы данные по оценке напряжённости иммунного ответа к анаплазмам и эрлихиям у населения Прибайкалья.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Актуализация информации о наличии и распространённости специфичных иммуноглобулинов классов М и G к *A. phagocytophilum* и *Ehrlichia* sp. среди жителей Прибайкалья, пострадавших от присасывания клеща.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе было ретроспективно исследовано 204 архивных образца сыворотки крови людей, обратившихся в Центр диагностики и профилактики клещевых инфекций по поводу укуса клеща с марта по июль 2021 г. По факту обращения была проведена ПЦР-диагностика каждого образца на обнаружение РНК/ДНК семи клещевых патогенов, а именно вируса клещевого энцефалита (ВКЭ), *Borrelia burgdorferi* s.l., *Ehrlichia* sp., *A. phagocytophilum*, *B. miyamotoi*, *Rickettsia sibirica* и *R. heilongjiangensis*.

Для выделения ДНК и РНК из сыворотки крови использовали автоматическую станцию выделения KingFisher Flex (Thermo Scientific, США) и набор реагентов для автоматического выделения «РеалБест Уни-Маг» (Вектор-Бест, Новосибирск). Для постановки реакции ПЦР/ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени использовали наборы реагентов для выявления ДНК/РНК «РеалБест ДНК» (Вектор-Бест, Новосибирск) согласно инструкции производителя.

Для выявления в сыворотках крови иммуноглобулинов М и G к антигену *A. phagocytophilum* и *E. chaffeensis*/*E. muris* использовали коммерческие тест-системы ГАЧ-ИФА-IgM и ГАЧ-ИФА-IgG и МЭЧ-ИФА-IgM и МЭЧ-ИФА-IgG (ООО «Омникс», Санкт-Петербург).

Измерение оптической плотности (ОП) производили при длине волны 450 нм с помощью планшетного спектрофотометра Immunochem 2100 (США). Аналитическим пределом детекции антител считали критический уровень оптической плотности (ОП_{крит.}), который устанавливали в соответствии с инструкциями производителя тест-системы. Значения ОП выше критического уровня считали специфическими для *A. phagocytophilum* и *E. chaffeensis*/*E. muris* в исследуемом материале.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Обстоятельства нападения клеща больше чем в половине случаев – отдых на природе или на даче; территориально чаще всего это были Иркутский, Шелеховский или Слюдянский районы Иркутской области.

Для большей части исследованных сывороток крови получены отрицательные результаты ПЦР на наличие двух (ВКЭ, *B. burgdorferi* s.l.), четырех (ВКЭ, *B. burgdorferi* s.l., *Ehrlichia* sp. и *A. phagocytophilum*) или всех семи (ВКЭ, *B. burgdorferi* s.l., *Ehrlichia* sp., *A. phagocytophilum*, *B. miyamotoi*, *R. sibirica* и *R. heilongjiangensis*) патогенов. В одном образце обнаружена ДНК *R. sibirica*, и в одном – ДНК *B. miyamotoi*.

Исследуемая выборка состоит из сывороток крови людей обоих полов разных возрастных групп (табл. 1). Соотношение лиц мужского и женского полов составляет 1:1. Доля детей и подростков до 17 лет включительно составляет около 24 % от общего числа. 28 (14 %) человек отмечали ухудшение состояния здоровья в среднем через 3–4 суток после укуса клеща.

В результате проведенного исследования были выявлены антитела к возбудителям МЭЧ и ГАЧ в 10 образцах, из которых в одном – иммуноглобулины класса G к *E. chaffeensis*/*E. muris*, в остальных девяти – иммуноглобулины класса G к *A. phagocytophilum*. Антитела класса M к обоим патогенам в образцах исследуемой выборки не выявлены (табл. 2).

В образцах сывороток крови несовершеннолетних специфические антитела к *E. chaffeensis*/*E. muris* и *A. phagocytophilum* не обнаружены. Антитела к *A. phagocytophilum*

выявлены в сыворотке крови 5 женщин и 4 мужчин (табл. 2). Антитела класса G к *E. chaffeensis*/*E. muris* были обнаружены у пациента 6225, который имел жалобы на повышение температуры тела на момент обращения в Центр диагностики и профилактики клещевых инфекций. При этом в результате ПЦР-диагностики его сыворотки крови была обнаружена ДНК *B. miyamotoi*. У пациентов 1568 и 3251 диагностика на выявление ДНК *E. chaffeensis*/*E. muris* и *A. phagocytophilum* не проводилась. Пациент с номером 1568 упустил сроки для своевременной ПЦР-

ТАБЛИЦА 1
РЕЗУЛЬТАТЫ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА ПО ВЫЯВЛЕНИЮ АНТИТЕЛ К *A. PHAGOCYTOPHILUM* И *E. CHAFFEENSIS*/*E. MURIS* В СЫВОРОТКАХ КРОВИ ЛЮДЕЙ, ПОСТРАДАВШИХ ОТ УКУСА КЛЕЩА

Пациенты	n (%)	Выявлены антитела			
		IgM к <i>A. phagocytophilum</i> , n (%)	IgG к <i>A. phagocytophilum</i> , n (%)	IgM к <i>Ehrlichia</i> sp., n (%)	IgG к <i>Ehrlichia</i> sp., n (%)
Дети (1–17 лет): n = 48 (23,5 %)					
Девочки, n (%)	20 (42)	0	0	0	0
Мальчики, n (%)	28 (58)	0	0	0	0
Взрослые (18–87 лет): n = 156 (76,5 %)					
Женщины, n (%)	87 (56)	0	5 (5,8)	0	0
Мужчины, n (%)	69 (44)	0	4 (5,8)	0	1 (1,5)
Всего	204	0	9 (4,4)	0	1 (0,5)

TABLE 1
RESULTS OF ELISA TEST ON THE DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST *A. PHAGOCYTOPHILUM* AND *E. CHAFFEENSIS*/*E. MURIS* IN THE SERUM SAMPLES FROM PEOPLE BITTEN BY TICKS

ТАБЛИЦА 2
ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ, В ОБРАЗЦАХ КОТОРЫХ БЫЛИ ОБНАРУЖЕНЫ АНТИТЕЛА К ВОЗБУДИТЕЛЯМ ГАЧ И МЭЧ

Код пациента	КС		Пол	Возраст	Административный район Иркутской области*	Выявление ДНК возбудителей	Жалобы
	IgG-ГАЧ	IgG-МЭЧ					
443	1,2	N/A	М	74	Иркутский	Не выявлена	нет
550	3	N/A	М	32	Балаганский	Не выявлена	нет
883	1,7	N/A	Ж	49	Иркутский	Не выявлена	нет
1399	4,1	N/A	Ж	49	Ольхонский	Не выявлена	нет
1568	2,9	N/A	М	18	Иркутский	Не проводилось	нет
1627	1,3	N/A	Ж	76	Иркутский	Не выявлена	нет
3251	2,2	N/A	Ж	53	Слюдянский	Не проводилось	нет
4052	2,9	N/A	М	73	Иркутский	Не выявлена	нет
5903	4,6	N/A	Ж	70	Шелеховский	Не выявлена	нет
6225	N/A	1,7	М	61	Шелеховский	<i>B. miyamotoi</i>	На момент обращения гипертермия (39 °C)

Примечание. КС – коэффициент серопозитивности; N/A – не выявлено; * – территория, на которой пациенты подверглись нападению клеща.

TABLE 2
CHARACTERISTICS OF PATIENTS WITH ANTIBODIES TO THE HUMAN MONOCYTIC EHRLICHIOSIS, HUMAN GRANULOCYTIC ANAPLASMOSIS AGENTS

диагностики, обратившись в Центр диагностики и профилактики клещевых инфекций через 10 дней после укуса клеща. Все остальные пациенты с обнаруженными антителами обратились в Центр на 2–3-и сутки после укуса.

Известно, что у большинства людей антитела IgM или IgG вырабатываются через 2 недели после инфицирования анаплазмами и эрлихиями [12]. Поэтому основным ограничением нашего исследования является то, что большинство образцов были получены в первую неделю после укуса клеща. В этот период антитела IgG еще не начали вырабатываться, а концентрация IgM в крови может быть ниже аналитического предела детекции тест-системы. К сожалению, ни в одном случае не удалось получить образцы парных сывороток, что также является ограничением данного исследования. Однако ранее было показано [13], что диагностические титры антител против *A. phagocytophilum* наблюдаются в течение 3,5 лет после перенесённого заболевания. Таким образом, выявление специфических иммуноглобулинов G как к *A. phagocytophilum*, так и к *Ehrlichia* sp. в архивных образцах сыворотки крови людей, пострадавших от укусов клеща в 2021 г., позволяет предположить, что жители Иркутской области регулярно подвергаются инфицированию анаплазмами и эрлихиями. Однако отсутствие иммуноглобулинов класса M может быть интерпретировано как признак того, что инфицирование обоими патогенами происходит достаточно редко, и, вероятно, наблюдаемый иммунный ответ сформировался не в сезоне 2021 г., а в результате более ранних укусов. Можно предположить, что в Прибайкалье продолжают существовать активные природные очаги ГАЧ и МЭЧ, однако частота заражения людей относительно низкая.

Отсутствие у иммунокомпетентных людей жалоб на длительное ухудшение здоровья или случаев госпитализации позволяет предположить, что ГАЧ и МЭЧ в Иркутской области протекают либо в относительно лёгкой форме, либо в форме бессимптомной инфекции.

Отсутствие у детей антител к возбудителям ГАЧ и МЭЧ говорит о меньшей по сравнению со взрослыми частоте контактов с иксодовыми клещами и, как следствие, о более низкой вероятности встречи с эрлихиями и анаплазмами. Однако в исследованной выборке группы детей и взрослых отличаются по количеству наблюдений, поэтому требуется уточняющее исследование с использованием большей выборки, в которой будет сопоставимое число взрослых и детей. Кроме того, необходимо исследование парных сывороток, взятых с интервалом 4–6 недель, чтобы отследить динамику формирования специфичного иммунного ответа.

Данная работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Иркутск).

Благодарности

Авторы выражают благодарность медицинскому персоналу Центра диагностики и профилактики клещевых инфекций ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ и лично руководителю Центра Петровой Ирине Викторовне за помощь в сборе данных.

Соответствие принципам биомедицинской этики

При работе соблюдены этические принципы, представляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, в редакции 2000). Работа проведена с одобрения Комитета по биомедицинской этике ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ и информированного согласия пациентов.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Johnson DK, Schiffman E, Davis JP, Neitzel D, Sloan LM, Nicholson WL, et al. Human Infection with *Ehrlichia muris*-like pathogen, United States, 2007–2013. *Emerg Infect Dis*. 2015; 21(10): 1794–1799. doi: 10.3201/eid2110.150143
- Yang J, Li Y, Liu Z, Liu J, Niu Q, Ren Q, et al. Molecular detection and characterization of *Anaplasma* spp. in sheep and cattle from Xinjiang, northwest China. *Parasit Vectors*. 2015; 8: 108. doi: 10.1186/s13071-015-0727-3
- Pritt BS, Allerdice MEJ, Sloan LM, Paddock CD, Munderloh UG, Rikihisa Y, et al. Proposal to reclassify *Ehrlichia muris* as *Ehrlichia muris* subsp. *muris* subsp. nov. and description of *Ehrlichia muris* subsp. *eaclaurensis* subsp. nov., a newly recognized tick-borne pathogen of humans. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2017; 67(7): 2121–2126. doi: 10.1099/ijsem.0.001896
- О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году: государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2021.
- 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.
- Khasnatinov MA, Danchinova GA, Liapunov AV, Manzarova EL, Petrova IV, Lyapunova NA, et al. Prevalence of tick-borne pathogens in hard ticks that attacked human hosts in Eastern Siberia. *International Journal of Biomedicine*. 2017; 7(4): 307–309.
- Козлова И.В., Злобин В.И., Верховина М.М., Пар В.А., Лисак О.В., Дорощенко Е.К., и др. Результаты рекогносцировочных исследований по моноцитарному эрлихиозу и гранулоцитарному анаплазмозу человека в Прибайкалье. *Acta biomedica scientifica*. 2007; 3(55): 112–116.
- Козлова И.В., Верховина М.М., Дёмина Т.В., Джоиев Ю.П., Дорощенко Е.К., Лисак О.В., и др. Сочетанные очаги трансмиссивных клещевых инфекций на территории Прибайкалья. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2010; 4(53): 40–46.
- Dahlgren FS, Heitman KN, Behravesh CB. Undetermined human ehrlichiosis and anaplasmosis in the United States, 2008–2012: A catch-all for passive surveillance. *Am J Trop Med Hyg*. 2016; 94(2): 299–301. doi: 10.4269/ajtmh.15-0691
- О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Иркутской области в 2021 году: государственный доклад. Иркутск: Федеральная служба по надзору

в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Иркутской области; 2022.

11. Danchinova GA, Lyapunova NA, Manzarova EL, Solovarov IS, Petrova IV, Lyapunov AV, et al. Preliminary results of the study of subclinical infections of tick-borne pathogens in bitten humans. *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(1): 43-48.

12. Chapman AS, Bakken JS, Folk SM, Paddock CD, Bloch KC, Krusell A, et al. Diagnosis and management of tick-borne rickettsial diseases: Rocky Mountain spotted fever, ehrlichioses, and anaplasmosis. United States: A practical guide for physicians and other health-care and public health professionals. *MMWR Recomm Rep*. 2006; 55(RR-4): 1-27.

13. Bakken JS, Haller I, Riddell D, Walls JJ, Dumler JS. The serological response of patients infected with the agent of human granulocytic ehrlichiosis. *Clin Infect Dis*. 2002; 34: 22-27.

REFERENCES

1. Johnson DK, Schiffman E, Davis JP, Neitzel D, Sloan LM, Nicholson WL, et al. Human Infection with *Ehrlichia muris*-like pathogen, United States, 2007–2013. *Emerg Infect Dis*. 2015; 21(10): 1794-1799. doi: 10.3201/eid2110.150143

2. Yang J, Li Y, Liu Z, Liu J, Niu Q, Ren Q, et al. Molecular detection and characterization of *Anaplasma* spp. in sheep and cattle from Xinjiang, northwest China. *Parasit Vectors*. 2015; 8: 108. doi: 10.1186/s13071-015-0727-3

3. Pritt BS, Allerdice MEJ, Sloan LM, Paddock CD, Munderloh UG, Rikihisa Y, et al. Proposal to reclassify *Ehrlichia muris* as *Ehrlichia muris* subsp. *muris* subsp. nov. and description of *Ehrlichia muris* subsp. *euclairensis* subsp. nov., a newly recognized tick-borne pathogen of humans. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2017; 67(7): 2121-2126. doi: 10.1099/ijsem.0.001896

4. *On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2020: State report*. Moscow; 2021. (In Russ.).

5. *On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2021: State report*. Moscow; 2022. (In Russ.).

6. Khasnatinov MA, Danchinova GA, Liapunov AV, Manzarova EL, Petrova IV, Lyapunova NA, et al. Prevalence of tick-borne pathogens in hard ticks that attacked human hosts in Eastern Siberia. *International Journal of Biomedicine*. 2017; 7(4): 307-309.

7. Kozlova IV, Zlobin VI, Verkhozina MM, Rar VA, Lisak OV, Doroshchenko EK, et al. The results of the first research evaluating the epidemic situation with HGA and HME in Pribaikalye region. *Acta biomedica scientifica*. 2007; 3(55): 112-116. (In Russ.).

8. Kozlova IV, Verkhozina MM, Demina TV, Dzhioev YuP, Doroshchenko EK, Lisak OV, et al. Combined natural foci of tick-borne infections in Baikal region. *Epidemiology and Vaccinal Prevention* 2010; 4(53): 40-46. (In Russ.).

9. Dahlgren FS, Heitman KN, Behravesh CB. Undetermined human ehrlichiosis and anaplasmosis in the United States, 2008–2012: A catch-all for passive surveillance. *Am J Trop Med Hyg*. 2016; 94(2): 299-301. doi: 10.4269/ajtmh.15-0691

10. *On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Irkutsk Region in 2021: State report*. Irkutsk; 2022. (In Russ.).

11. Danchinova GA, Lyapunova NA, Manzarova EL, Solovarov IS, Petrova IV, Lyapunov AV, et al. Preliminary results of the study of subclinical infections of tick-borne pathogens in bitten humans. *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(1): 43-48.

12. Chapman AS, Bakken JS, Folk SM, Paddock CD, Bloch KC, Krusell A, et al. Diagnosis and management of tick-borne rickettsial diseases: Rocky Mountain spotted fever, ehrlichioses, and anaplasmosis. United States: A practical guide for physicians and other health-care and public health professionals. *MMWR Recomm Rep*. 2006; 55(RR-4): 1-27.

13. Bakken JS, Haller I, Riddell D, Walls JJ, Dumler JS. The serological response of patients infected with the agent of human granulocytic ehrlichiosis. *Clin Infect Dis*. 2002; 34: 22-27.

Сведения об авторах

Ляпунова Наталья Андреевна – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nataly2193@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6039-0854>

Хаснатинов Максим Анатольевич – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: khasnatinov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8441-3640>

Данчинова Галина Анатольевна – доктор биологических наук, руководитель лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: dan-chin@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6705-3070>

Information about the authors

Natalia A. Liapunova – Cand. Sc. (Biol.), Junior Research Officer at the Laboratory of Arthropod-Borne Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nataly2193@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6039-0854>

Maxim A. Khasnatinov – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Arthropod-Borne Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: khasnatinov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8441-3640>

Galina A. Danchinova – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Arthropod-Borne Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: dan-chin@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6705-3070>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ШТАММОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ В СТРУКТУРЕ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Воропаева Н.М.¹,
Немченко У.М.¹,
Ситникова К.О.¹,
Савилов Е.Д.^{1,2},
Чемезова Н.Н.^{1,2},
Григорова Е.В.¹,
Сорокина А.В.^{1,3},
Зугеева Р.Е.^{1,3},
Белькова Н.Л.¹

¹ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

² Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

³ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Воропаева Наталья Михайловна,
e-mail: n.m.shabanova@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Проблема антибиотикорезистентности остаётся значимой для медицинского сообщества на протяжении более полувека, с момента регистрации первых случаев устойчивости к пенициллину.

Цель. Анализ многолетней динамики изменения антибактериальной устойчивости микроорганизмов и создание коллекции полирезистентных штаммов условно-патогенных микроорганизмов.

Материалы и методы. В исследование вошли данные 3173 бактериологических проб различных локусов организма человека за 2010 и 2020–2021 гг. Чувствительность выделенных культур определяли диско-диффузионным методом к антимикробным препаратам следующих групп: пенициллины, цефалоспорины, фторхинолоны, аминогликозиды, карбапенемы, тетрациклины, макролиды, линкозамиды, оксазолидиноны, гликопептиды и другие.

Результаты. В общей структуре условно-патогенных микроорганизмов наблюдали значимое увеличение частоты выделения полирезистентных представителей рода *Staphylococcus* в два и более раза в 2021 г. по сравнению с 2010 и 2020 гг. Также наблюдали значимое увеличение доли полирезистентных *Streptococcus* spp. и неферментирующих грамотрицательных бактерий. Данные изменения положили начало созданию коллекции условно-патогенных микроорганизмов с множественной антибактериальной устойчивостью. В структуре полирезистентных микроорганизмов, входящих в «Коллекцию микробиоты человека Иркутской области», лидирующие позиции занимают *Klebsiella pneumoniae* (23,81 %), *Escherichia coli* (19,05 %) и *Staphylococcus aureus* (22,22 %).

Заключение. Мониторинг антибиотикорезистентности является важным мероприятием для контроля устойчивости внебольничных и нозокомиальных (внутрибольничных) микроорганизмов как внутри конкретной страны, так и на мировом уровне.

Ключевые слова: антимикробные препараты, антибиотикорезистентность, условно-патогенные микроорганизмы, коллекция

Для цитирования: Воропаева Н.М., Немченко У.М., Ситникова К.О., Савилов Е.Д., Чемезова Н.Н., Григорова Е.В., Сорокина А.В., Зугеева Р.Е., Белькова Н.Л. Частота встречаемости штаммов с множественной антибиотикорезистентностью в структуре условно-патогенных микроорганизмов. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 145-153. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.16

Статья поступила: 30.06.2022

Статья принята: 29.09.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

FREQUENCY OF STRAINS WITH MULTIPLE ANTIBIOTIC RESISTANCE IN THE STRUCTURE OF OPPORTUNITISTIC PATHOGENS

Voropaeva N.M.¹,
Nemchenko U.M.¹,
Sitnikova K.O.¹,
Savilov E.D.^{1,2},
Chemzova N.N.^{1,2},
Grigorova E.V.¹,
Sorokina A.V.^{1,3},
Zugeeva R.E.^{1,3},
Belkova N.L.¹

¹ Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

² Irkutsk State Medical Academy
of Postgraduate Education – Branch
Campus of the Russian Medical Academy
of Continuing Professional Education
(Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian
Federation)

³ Irkutsk State University
(Karla Marksa str. 1, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Natalia M. Voropaeva,
e-mail: n.m.shabanova@mail.ru

ABSTRACT

Background. The problem of antibiotic resistance has remained significant for the medical community for more than half a century, since the first cases of resistance to penicillin were registered.

The aim. Analysis of the long-term dynamics of changes in the antibacterial resistance of microorganisms and the creation of a collection of multi-resistant strains of opportunistic microorganisms.

Materials and methods. The study included data from 3173 bacteriological samples of various loci of the human body for 2010 and 2020–2021. The sensitivity of isolated cultures was determined by the disk diffusion method to antimicrobial drugs of the following groups: penicillins, cephalosporins, fluoroquinolones, aminoglycosides, carbapenems, tetracyclines, macrolides, lincosamides, oxazolidinones, glycopeptides and others.

Results. In the general structure of conditionally pathogenic microorganisms, a significant increase in the frequency of isolation of multidrug-resistant representatives of the genus *Staphylococcus* by two or more times was observed in 2021 compared to 2010 and 2020. We also observed a significant increase in the proportion of multidrug-resistant *Streptococcus* spp. and non-fermenting gram-negative bacteria. These changes marked the beginning of the creation of a collection of conditionally pathogenic microorganisms with multiple antibacterial resistance. In the structure of multiresistant microorganisms included in the “Collection of human microbiota of the Irkutsk region”, the leading positions belong to *Klebsiella pneumoniae* (23.81 %), *Escherichia coli* (19.05 %) and *Staphylococcus aureus* (22.22 %).

Conclusion. Antibiotic resistance monitoring is an important measure to control the resistance of community-acquired and nosocomial (nosocomial) microorganisms both within a particular country and globally.

Key words: antimicrobials, antibiotic resistance, opportunistic microorganisms, collection

For citation: Voropaeva N.M., Nemchenko U.M., Sitnikova K.O., Savilov E.D., Chemzova N.N., Grigorova E.V., Sorokina A.V., Zugeeva R.E., Belkova N.L. Frequency of strains with multiple antibiotic resistance in the structure of opportunistic pathogens. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 145-153. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.16

Received: 30.06.2022

Accepted: 29.09.2022

Published: 08.12.2022

ВВЕДЕНИЕ

Антибиотики являются одним из величайших медицинских достижений XX века, однако они могут быть бесполезными из-за устойчивости бактерий к ним, которая усугубляется нерациональным применением и трудностями в разработке новых антимикробных препаратов (АМП). Проблема антибиотикорезистентности нозокомиальных и внебольничных инфекций остаётся значимой для медицинского сообщества на протяжении более полувека, с момента регистрации первых случаев устойчивости к пеницилину [1, 2]. Одной из противодействующих мер в вопросах распространения антибиотикорезистентности является постоянное наблюдение за изменением чувствительности возбудителей инфекций к АМП [3–6]. За последние 30 лет количество антибактериальных средств для системного применения, одобренных Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA, Food and Drug Administration), уменьшилось на 75 % [7], что способствует движению к постантибиотической эре, в которой обычные инфекции станут неизлечимыми и снова смертельными. Таким образом, существует острая потребность как в новых классах антибиотиков, так и в новых подходах к лечению, включающих в себя точную видовую идентификацию возбудителя, определение его чувствительности к АМП в соответствии с современными рекомендациями и стандартами и, по возможности, выявление основных механизмов резистентности, а также перепрофилирование существующих лекарств или доклинических соединений и расширенное внедрение комбинированной терапии.

Таким образом, **целью исследования** является анализ многолетней динамики изменения антибактериальной устойчивости микроорганизмов и создание коллекции полирезистентных штаммов условно-патогенных микроорганизмов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли данные 3173 бактериологических проб, полученных от амбулаторных пациентов за 2010, 2020 и 2021 гг. За 2010 г. исследовано 1816 проб биоматериала, из которого изолировано 969 штаммов, за 2020 г. получено 474 пробы (369 штаммов) и за 2021 г. – 883 пробы (586 штаммов), представленных в диагностически значимых титрах.

Материалом исследования служили различные локусы организма человека: мазки из зева и носа, отделяемое из ушей, конъюнктивы глаз, раны, фекалии, моча, гинекологические мазки, мазки из уретры, эякулят и секрет простаты. Бактериологическую идентификацию выбранных штаммов осуществляли с использованием стандартизированных бактериологических алгоритмов, с учётом морфологических, культуральных и биохимических свойств, а также с использованием MALDI-TOF прямого белкового про-

филирования неспорообразующих микроорганизмов. Масс-спектрометрический анализ проводили на приборе ultraflExtreme (Bruker Daltonics, Германия). Чувствительность выделенных культур определяли диско-диффузионным методом в соответствии с действующими рекомендациями EUCAST версия 10.0 (действует с 01.01.2020) и Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам версия 2021-01 к АМП следующих групп: пенициллины, цефалоспорины, фторхинолоны, аминогликозиды, карбапенемы, тетрациклины, макролиды, линкозамиды, оксазолидиноны, гликопептиды и другие антимикробные препараты

Статистическая обработка данных проведена с использованием программного пакета Microsoft Office Excel (Microsoft Corp., США). Вычисляли непараметрические критерии оценки статистической значимости (критерий χ^2) для данных по антибиотикорезистентности за исследуемые года. Различия статистических показателей считались значимыми при $p \leq 0,05$ [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Вобщую структуру условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) вошли представители сем. Enterobacteriaceae, неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОВ), а также представители родов *Staphylococcus*, *Streptococcus* и *Enterococcus* (рис. 1).

Исследования показали, что в структуре УПМ за исследуемые года лидирующие позиции занимали представители сем. Enterobacteriaceae и рода *Staphylococcus*.

При оценке антибиотикорезистентности из общей структуры микроорганизмов выделена группа бактерий, обладающая устойчивостью к двум и более АМП, относящихся к одной или разным группам (рис. 2).

За исследуемый период в общей структуре УПМ наблюдали значимое увеличение частоты выделения полирезистентных представителей рода *Staphylococcus* – в два и более раз в 2021 г. (96,7 %) по сравнению с 2010 г. (16,5 %; $\chi^2 = 273,4215$; $p < 0,001$) и 2020 г. (76,3 %; $\chi^2 = 26,049$; $p < 0,001$). Так же значимо увеличилась доля полирезистентных стрептококков с 30,9 % в 2020 г. до 56,3 % в 2021 г. ($\chi^2 = 9,491$; $p = 0,003$) и НГОВ – с 40,0 до 85,7 % ($\chi^2 = 3,971$; $p = 0,047$). Вероятно, это может быть обусловлено массовым приёмом АМП в период пандемии COVID-19.

Для представителей сем. Enterobacteriaceae и рода *Enterococcus* доля полирезистентных изолятов оставалась на одинаковом уровне.

Несмотря на сохранение общего уровня полирезистентности сем. Enterobacteriaceae, среди отдельных представителей данного семейства наблюдали значимые изменения в частоте регистрации полирезистентных изолятов (табл. 1).

При детальном рассмотрении структуры полирезистентных представителей сем. Enterobacteriaceae было выявлено значимое увеличение доли полирезистентных изолятов *Escherichia coli* с 50,0 % в 2010 г. до 70,0 %

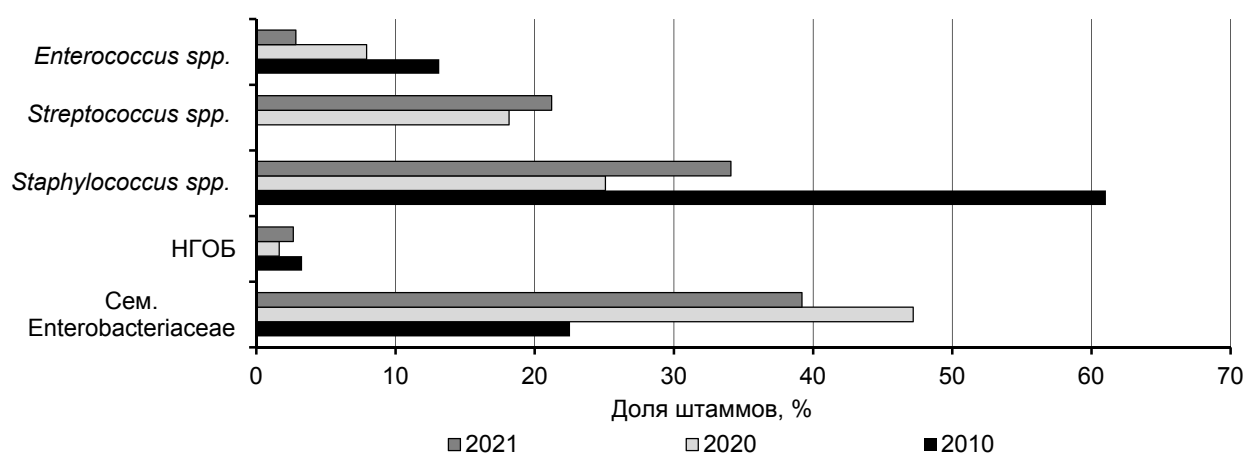


РИС. 1.

Общая структура условно-патогенных микроорганизмов, полученных от амбулаторных пациентов за исследуемые периоды

FIG. 1.

General structure of opportunistic microorganisms obtained from outpatients during the study periods

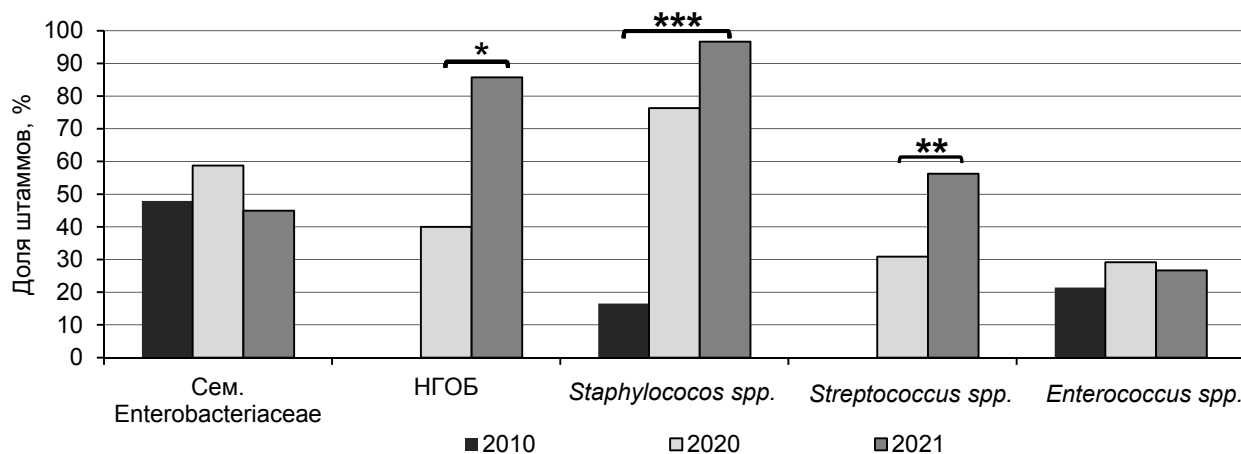


РИС. 2.

Структура полирезистентных штаммов условно-патогенных микроорганизмов, полученных от амбулаторных пациентов за исследуемые периоды: * – $p = 0,047$; ** – $p = 0,003$; *** – $p < 0,001$

FIG. 2.

Structure of multidrug-resistant strains of conditionally pathogenic microorganisms: * – $p = 0.047$; ** – $p = 0.003$; *** – $p < 0.001$

в 2020 г. ($\chi^2 = 8,333$; $p = 0,004$) и последующее снижение до 45,1 % в 2021 г. ($\chi^2 = 12,719$; $p < 0,001$). Аналогичная картина была и для *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* и *E. gergoviae*. Наблюдали увеличение доли полирезистентных изолятов *K. pneumoniae* с 20,0 % в 2010 г. до 67,4 % в 2020 г. ($\chi^2 = 45,733$; $p < 0,001$) и снижение до 42,4 % в 2021 г. ($\chi^2 = 12,643$; $p < 0,001$). Доля изолятов *E. cloacae* увеличилась с 60,0 % в 2010 г. до 80,0 % в 2020 г. ($\chi^2 = 14,289$; $p < 0,001$) и в 2021 г. снизилась до 57,1 % ($\chi^2 = 12,124$; $p < 0,001$). Полирезистентные изоляты *E. gergoviae* в 2010 г. не регистрировали, тогда как в 2020 г. доля таковых составила 100,0 % и в 2021 г. снизилась до 50,0 ($\chi^2 = 12,1249$; $p < 0,001$).

Также значимое увеличение доли полирезистентных изолятов наблюдали у *E. sakazakii* ($\chi^2 = 66,667$; $p < 0,001$), *Citrobacter freundii* ($\chi^2 = 6,252$; $p = 0,013$ с 2010 по 2020 гг. и $\chi^2 = 12,588$; $p < 0,001$ с 2020 по 2021 гг.) и *Proteus mirabilis* ($\chi^2 = 7,115$; $p = 0,008$).

За исследуемый период наблюдали и снижение доли полирезистентных изолятов, таких как *K. aerogenes* (с 66,7 % в 2010 г. до 40,0 % в 2020 г.; $\chi^2 = 5,717$; $p = 0,017$) и *P. vulgaris* (со 100,0 % в 2010 г. до 66,7 % в 2020 г. ($\chi^2 = 39,995$; $p < 0,001$) и до 25,0 % в 2021 г.; $\chi^2 = 34,970$; $p < 0,001$).

НГОБ в исследовании были представлены видом *Pseudomonas aeruginosa*, среди которых полирезистентные изоляты в 2010 г. не регистрировали, в 2020 г. доля таковых составила 40,0 % и в 2021 г. увеличилась до 85,7 % ($\chi^2 = 44,746$; $p < 0,001$).

Среди кокковой микрофлоры наблюдали значимое увеличение доли полирезистентных представителей рода *Staphylococcus*. Так, доля полирезистентных *S. aureus* увеличилась с 17,8 % в 2010 г. до 76,1 % в 2020 г. ($\chi^2 = 68,374$; $p < 0,001$) и в дальнейшем до 96,4 % в 2021 г. ($\chi^2 = 17,373$; $p < 0,001$). Доля КОС возросла с 27,6 % в 2010 г. до 77,8 % в 2020 г. ($\chi^2 = 50,526$; $p < 0,001$) и в 2021 г. составила 100,0 % ($\chi^2 = 24,997$; $p < 0,001$).

ТАБЛИЦА 1

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫХ ИЗОЛЯТОВ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ В ДИНАМИКЕ ОТ АМБУЛАТОРНЫХ ПАЦИЕНТОВ, %

TABLE 1

ETIOLOGICAL STRUCTURE OF MULTIDRUG-RESISTANT ISOLATES OF GRAM-NEGATIVE MICROORGANISMS ISOLATED IN DYNAMICS FROM OUTPATIENTS, %

Виды микроорганизмов	2010 г.	2020 г.	2021 г.
<i>E. coli</i> *	50,0	70,0	45,1
<i>K. pneumoniae</i> *	20,0	67,4	42,4
<i>K. oxytoca</i>	50,0	44,8	33,3
<i>K. aerogenes</i> **	66,7	40,0	0,0
<i>E. cloacae</i> *	60,0	80,0	57,1
<i>E. gergoviae</i>	0,0	100,0	50,0
<i>E. sakazakii</i> *	0,0	57,1	100,0
<i>C. freundii</i> *	25,0	41,7	66,7
<i>P. mirabilis</i> ***	25,0	33,3	42,9
<i>P. vulgaris</i> *	100,0	66,7	25,0
<i>M. morganii</i>	0,0	0,0	100,0
<i>P. aeruginosa</i>	0,0	40,0	85,7

Примечание. * – $p < 0,001$; ** – $p = 0,017$; *** – $p = 0,008$.

ТАБЛИЦА 2

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫХ ИЗОЛЯТОВ ГРАМОПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ В ДИНАМИКЕ ОТ АМБУЛАТОРНЫХ ПАЦИЕНТОВ, %

TABLE 2

ETIOLOGICAL STRUCTURE OF MULTIDRUG-RESISTANT ISOLATES OF GRAM-POSITIVE MICROORGANISMS ISOLATED IN DYNAMICS FROM OUTPATIENTS, %

Виды микроорганизмов	2010 г.	2020 г.	2021 г.
<i>Staphylococcus</i> spp.*	16,54	76,32	96,67
<i>S. aureus</i> *	17,76	76,12	96,41
КОС*	27,59	77,78	100,00
<i>Enterococcus</i> spp.	21,43	29,17	26,67
<i>E. faecalis</i>	0	35,00	18,18
<i>E. faecium</i>	0	0,00	50,00
<i>Streptococcus</i> spp.	0	30,91	56,25
<i>S. oralis</i>	0	20,00	16,67
<i>S. pneumoniae</i> **	0	35,14	57,50
<i>S. agalactiae</i> *	0	33,33	59,57
<i>S. pyogenes</i> *	0	0,00	57,89

Примечание. * – $p < 0,001$; ** – $p = 0,002$.

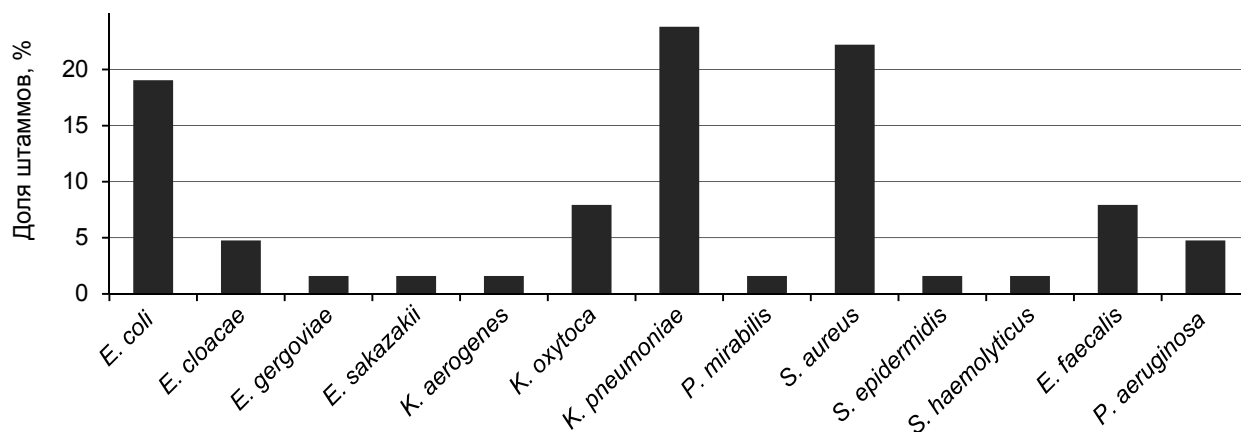


РИС. 3.

Структура «Коллекции микробиоты человека Иркутской области» полирезистентных видов условно-патогенных микроорганизмов

FIG. 3.

Structure of the "Collection of human microbiota of the Irkutsk region" of multidrug-resistant types of opportunistic microorganisms

Также возросла частота регистрации полирезистентных изолятов среди представителей рода *Streptococcus*. Доля изолятов *S. pneumoniae* возросла с 35,14 % в 2020 г. до 57,50 % в 2021 г. ($\chi^2 = 10,054$; $p = 0,002$), *S. agalactiae* – с 33,33 % в 2020 г. до 59,57 % в 2021 г. ($\chi^2 = 13,841$; $p < 0,001$), и для *S. pyogenes* доля полирезистентных составила 57,89 %. Тогда как в 2010 г. полирезистентных изолятов среди рода *Streptococcus* не регистрировали.

Среди рода *Enterococcus* наблюдали незначительное увеличение доли полирезистентных изолятов *E. faecalis* с 27,8 % в 2010 г. до 35,0 % в 2020 г., и последующее значимое снижение доли полирезистентных изолятов до 18,2 % в 2021 г. ($\chi^2 = 7,247$; $p = 0,008$). Для *E. faecium* доля полирезистентных изолятов в 2021 г. составила 50,0 %, тогда как в 2010 и 2020 гг. таковых не регистрировали.

Полученные результаты многолетней динамики изменения количества полирезистентных изолятов за исследуемый период послужили основанием для начала формирования «Коллекции микробиоты человека Иркутской области» с множественной антибактериальной устойчивостью, видовая структура которых представлена на рис. 3.

На начальном этапе формирования коллекции нами была проанализирована резистентность к АМП наиболее часто встречающихся видов.

В структуре полирезистентных микроорганизмов, входящих в коллекцию, лидирующие позиции занимают *K. pneumoniae* (23,8 %), *E. coli* (19,1 %) и *S. aureus* (22,2 %). Анализ резистентности показал, что *K. pneumoniae* проявляла устойчивость ко всем исследуемым группам АМП. Так, к пенициллинам было устойчиво 93,3 % изолятов, к цефалоспорином – 86,7 %, к аминогликозидам – 40,0 %, к фторхинолонам – 26,7 %, к группе другие АМП – 20,0 %, к карбапенемам – 13,3 % и к тетрациклинам – 6,7 % изолятов. Изоляты *E. coli* проявили устойчивость к пенициллинам в 100,0 % случаях, к цефалоспорином – в 75,0 %, к аминогликозидам – в 50,0 %, к фторхинолонам – в 25,0 %, и к группе другие АМП – в 33,3 % случаев. Среди изолятов *S. aureus* также наиболее часто регистрировали устойчивость к пенициллинам в 92,9 % случаях, к макролидам – в 78,6 %, к фторхинолонам и аминогликозидам – по 71,4 %, к тетрациклинам и к группе другие АМП – по 21,4 % и к цефалоспорином – в 14,3 % изолятов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Мониторинг амбулаторных изолятов за исследуемый период показал широкий видовой спектр микроорганизмов, обладающих полирезистентностью к АМП среди амбулаторных пациентов. Проведённые нами за последние десять лет исследования показали увеличение доли полирезистентных изолятов из сем. Enterobacteriaceae, рода *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* и *P. aeruginosa*, что согласуется с общемировой тенденцией [9–11]. Представители данных таксонов входят в группу микроорганизмов, обладающих резистентностью ко многим АБП, которые Американское общество по инфекционным болезням (IDSA) обозначило как ESKAPE-патогены. Данная группа представлена микроорганизмами, которые в процессе селекции приобрели свойство ускользать (англ. escape) от действия современных антибиотиков. Сюда относятся такие представители как *Enterococcus faecium* (VRE), *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Klebsiella* spp. и *Escherichia coli* (с расширенным спектром бета-лактамаз – extended spectrum beta-lactamases, ESBL), *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp. [12]. В 2017 г. опубликовано сообщение ВОЗ уже о двенадцати особо опасных для человека антибиотикорезистентных бактериях. В первую группу вошли бактерии с множественной лекарственной резистентностью, в частности с устойчивостью к карбапенемам и цефалоспорином третьего поколения: *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и Enterobacteriaceae. Во вторую группу включены бакте-

рии *Enterococcus faecium* (VR), *Staphylococcus aureus* (MR, VR, VI), *Helicobacter pylori*, устойчивые к фторхинолонам *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. и *Neisseria gonorrhoeae*. К третьей группе отнесены *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* и *Shigella* spp. [7, 13].

Мониторинг амбулаторных изолятов показал значимое увеличение доли полирезистентных изолятов среди представителей сем. Enterobacteriaceae таких как *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *C. freundii* за период с 2010 по 2020 г., полученных от амбулаторных пациентов. Данные представители относятся к наиболее часто встречающимся возбудителями внутрибольничных инфекций [14], в связи с чем особый интерес вызывает значимое снижение доли полирезистентных изолятов среди данных видов в 2021 г.

Также показано значимое, в два и более раз, увеличение частоты выделения полирезистентных представителей рода *Staphylococcus* в 2021 г. по сравнению с 2010 и 2020 гг., что согласуется с многоцентровым эпидемиологическим исследованием «МАРАФОН» по динамике антибиотикорезистентности *S. aureus* в период с 2002–2015 гг. в разных медицинских учреждениях России [9]. Однако помимо *S. aureus* значимо выросла доля полирезистентных КОС.

Представители род *Enterococcus* долгое время рассматривались как нормальная микробиота организма человека, однако в последнее время их роль в развитии внутрибольничных инфекций значительно выросла [15]. При этом, по результатам мониторинга амбулаторных изолятов *E. faecium*, до 2021 г. полирезистентных изолятов не выявляли, тогда как в 2021 г. доля таковых составила 50,0 %, что может свидетельствовать о циркуляции внутрибольничных изолятов среди амбулаторных пациентов.

Многочисленные исследования по мониторингу резистентности *P. aeruginosa* показывают увеличение доли резистентных штаммов не только в России, но и за рубежом [16–19], что прослеживается и в наших исследованиях.

При создании «Коллекции микробиоты человека Иркутской области» полирезистентных видов УПМ, полученных от амбулаторных пациентов, лидирующими оказались *K. pneumoniae*, *E. coli* и *S. aureus*, которые также являются основными возбудителями внутрибольничной инфекции. В будущем планируется дальнейший набор УПМ в коллекцию и более подробное исследование механизмов устойчивости к АМП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, мониторинг антибиотикорезистентности является необходимым для контроля за внебольничными и нозокомиальными (внутрибольничными) инфекциями как внутри конкретной страны, так и на мировом уровне. Для отслеживания развития резистентности существуют множество мероприятий как национального уровня, например, ПеГАС, МАРАФОН и др., так и международного: Европейская система по наблюдению за антимикробной резистентностью (EARS-Net), система эпиднадзора за устойчивостью к противомик-

кробным препаратам в Центральной Азии и Восточной Европе (CAESAR) и др.

Данная работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» и УНУ «Коллекция микробиоты человека Иркутской области» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ, г. Иркутск.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ferri M, Ranucci E, Romagnoli P, Giaccone V. Antimicrobial resistance: a global emerging threat to public health systems. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2017; 57(13): 2857-2876. doi: 10.1080/10408398.2015.1077192
2. Sultan I, Rahman S, Jan AT, Siddiqui MT, Mondal AH, Haq QM. Antibiotics, resistome and resistance mechanisms: A bacterial perspective. *Front Microbiol*. 2018; 9: 2066. doi: 10.3389/fmicb.2018.02066
3. Chaudhary AS. A review of global initiatives to fight antibiotic resistance and recent antibiotics' discovery. *Acta Pharm Sin B*. 2016; 6(6): 552-556. doi: 10.1016/j.apsb.2016.06.004
4. Белобородова В.Б., Бруси́на Е.Б., Козлов Р.С., Елисеева Е.В., Суворова М.П., Замя́тин М.Н., и др. Программа СКАТ (стратегия контроля антимикробной терапии) при оказании стационарной медицинской помощи: Российские клинические рекомендации. М.: Перо; 2018
5. Rao P, Stroup S, Mirawdaly S, Aartsen D, Dillingham R, Heyse S.K, et al. Urine colometry for levofloxacin pharmacokinetic and personalized dosing in people with drug-resistant tuberculosis. *Int J Mycobacteriol*. 2020; 9(4): 411-416. doi: 10.4103/ijmy.ijmy_186_20
6. Кузьменков А.Ю., Виноградова А.Г., Трушин И.В., Эйдельштейн М.В., Авраменко А.А., Дехнич А.В., и др. AMRmap – система мониторинга антибиотикорезистентности в России. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2021; 23(2): 198-204. doi: 10.36488/cmac.2021.2.198-204
7. Ефименко Т.А., Терехова Л.П., Ефременкова О.В. Современное состояние проблемы антибиотикорезистентности патогенных бактерий. *Антибиотики и химиотерапия*. 2019; 64: 5-6. doi: 10.24411/0235-2990-2019-100033
8. Савилов Е.Д., Астафьев В.А., Жданова С.Н., Заруднев Е.А. Эпидемиологический анализ. Методы статистической обработки материала. Новосибирск; 2011.
9. Сухорукова М.В., Секлеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Эйдельштейн М.В., Дехнич А.В., и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Staphylococcus aureus* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования марафон в 2011–2012 гг. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2014; 16(4): 280-286.
10. Фесенко О.В., Швайко С.Н. Пневмонии, вызванные *Klebsiella pneumoniae* (фридлендеровские пневмонии). *Практическая пульмонология*. 2019; 1: 22-31.
11. Фёдорова А.В., Клясова Г.А., Фролова И.Н., Хрульнова С.А., Ветохина А.В., Капорская Т.С., и др. Антибиотико-

резистентность *Enterococcus faecium* и *Enterococcus faecalis*, выделенных из гемокультуры от больных с опухолями системы крови, в разные периоды исследования. *Онкогематология*. 2021; 16(1): 54-63. doi: 10.17650/1818-8346-2021-16-1-54-63

12. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, et al. Bad bugs, no drugs: No ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2009; 48(1): 1-12. doi: 10.1086/595011

13. World Health Organization (WHO). *Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics*. URL: http://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf?ua=1 [date of access: 25.06.2022].

14. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Иванчик Н.В., Склеенова Е.Ю., Шайдулина Э.Р., Азизов И.С., и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacterales в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015–2016». *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019; 21(2): 147-159. doi: 10.36488/cmac.2019.2.147-159

15. Носкова О.А., Агапова Е.Д., Батурина Е.А., Гвак Г.В. Микробиологический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за гнойно-септическими инфекциями в детском многопрофильном стационаре. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 122-126. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.19

16. Верещагина С.А., Федосеева М.В., Раднаева Г.Г., Белохвостикова Т.С., Фадеева Т.В. Динамика антибиотикорезистентности нозокомиальных возбудителей и состояние антибиотикотерапии в многопрофильной клинике. *Acta biomedica scientifica*. 2012; 4(86): 186-189.

17. Андреева С.В., Бахарева Л.И., Валеева Д.М. Динамика антибиотикорезистентности у ведущих возбудителей ожоговых инфекций. *Вестник Челябинского государственного университета*. 2013; 7(298): 60-61.

18. Гребенюк В.В., Ковтунов К.А., Назаров А.А., Чумаченко И.В. Устойчивость патогенной микрофлоры к антибактериальной терапии у пациентов с хирургическим сепсисом. *Евразийский Союз Учёных*. 2015; 10-1(19): 73-76.

19. Al-Tawfiq JA, Rabaan AA, Saunar JV, Bazzi AM. Antimicrobial resistance of gram-negative bacteria: A six-year longitudinal study in a hospital in Saudi Arabia. *J Infect Public Health*. 2020; 13(5): 737-745. doi: 10.1016/j.jiph.2020.01.004

REFERENCES

1. Ferri M, Ranucci E, Romagnoli P, Giaccone V. Antimicrobial resistance: a global emerging threat to public health systems. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2017; 57(13): 2857-2876. doi: 10.1080/10408398.2015.1077192
2. Sultan I, Rahman S, Jan AT, Siddiqui MT, Mondal AH, Haq QM. Antibiotics, resistome and resistance mechanisms: A bacterial perspective. *Front Microbiol*. 2018; 9: 2066. doi: 10.3389/fmicb.2018.02066
3. Chaudhary AS. A review of global initiatives to fight antibiotic resistance and recent antibiotics' discovery. *Acta Pharm Sin B*. 2016; 6(6): 552-556. doi: 10.1016/j.apsb.2016.06.004
4. Beloborodova VB, Brusina EB, Kozlov RS, Eliseeva EV, Suvorova MP, Zamyatin MN, et al. SCAT program (antimicrobial control

strategy) in the provision of inpatient care: Clinical recommendations. Moscow: Pero; 2018. (In Russ.).

5. Rao P, Stroup S, Mirawdaly S, Aartsen D, Dillingham R, Hey-sell S.K, et al. Urine colometry for levofloxacin pharmacokinetic and personalized dosing in people with drug-resistant tuberculosis. *Int J Mycobacteriol.* 2020; 9(4): 411-416. doi: 10.4103/ijmy.ijmy_186_20

6. Kuz'menkov AYu, Vinogradova AG, Trushin IV, Edelstein MV, Avramenko AA, Dekhnich AV, et al. AMRmap – antibiotic resistance surveillance system in Russia. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2021; 23(2): 198-204. (In Russ.). doi: 10.36488/cmac.2021.2.198-204

7. Efimenko TA, Terekhova LP, Efremenkova OV. Current state the problem of antibiotic resistance of pathogens. *Antibiotics and Chemotherapy.* 2019; 64: 5-6. (In Russ.). doi: 10.24411/0235@2990@2019@10033

8. Savilov ED, Astaf'ev VA, Zhdanova SN, Zarudnev EA. *Epidemiological analysis. Methods of statistical processing of material.* Novosibirsk; 2011. (In Russ.).

9. Sukhorukova MV, Skleenova EYu, Ivanochik NV, Timohova AV, Ejdel'shtejn MV, Dekhnich AV, et al. Antimicrobial resistance of nosocomial *Staphylococcus aureus* isolates in Russia: Results of National Multicenter Surveillance Study «MARATHON» 2011–2012. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2014; 16(4): 280-286. (In Russ.).

10. Fesenko OV, Shvajko SN. Pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* (Friedlander's pneumonia). *The Journal of Practical Pulmonology.* 2019; 1: 22-31. (In Russ.).

11. Fyodorova AV, Klyasova GA, Frolova IN, Khrolnova SA, Vetokhina AV, Kaporskaya TS, et al. Antimicrobial resistance of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*, isolated from blood culture of patients with hematological malignancies during different study periods. *Oncohematology.* 2021; 16(1): 54-63. (In Russ.). doi: 10.17650/1818-8346-2021-16-1-54-63

12. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, et al. Bad bugs, no drugs: No ESCAPE! An update from

the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2009; 48(1): 1-12. doi: 10.1086/595011

13. World Health Organization (WHO). *Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics.* URL: http://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf?ua=1 [date of access: 25.06.2022].

14. Sukhorukova MV, Edelstein MV, Ivanchik NV, Skleenova EYu, Shajdullina ER, Azizov IS, et al. Antibiotic resistance of nosocomial strains of Enterobacterales in Russian hospitals: Results of the multicenter epidemiological study "MARATHON 2015–2016". *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2019; 21(2): 147-159. (In Russ.). doi: 10.36488/cmac.2019.2.147-159

15. Noskova OA, Agapova ED, Baturina EA, Gvak GV. Microbiological monitoring in the system of epidemiological surveillance of purulent-septic infections in a multidisciplinary hospital. *Acta biomedica scientifica.* 2019; 4(5): 122-126. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.19

16. Vereshchagina SA, Fedoseeva MV, Radnaeva GG, Belokhvostikova TS, Fadeeva TV. Dynamics of antibiotic resistance of nosocomial pathogens and state of antibiotic therapy in multifield clinic. *Acta biomedica scientifica.* 2012; 4(86): 186-189. (In Russ.).

17. Andreeva SV, Bakhareva LI, Valeeva DM. Dynamics of antibiotic resistance in the leading pathogens of burn infections. *Vestnik Chelyabinskogo gosudarstvennogo universiteta.* 2013; 7(298): 60-61. (In Russ.).

18. Grebenyuk VV, Kovtunov KA, Nazarov AA, Chumachenko IV. Resistance of pathogenic microflora to antibiotic therapy in patients with surgical sepsis. *Eurasian Union of Scientists.* 2015; 10-1(19): 73-76. (In Russ.).

19. Al-Tawfiq JA, Rabaan AA, Saunar JV, Bazzi AM. Antimicrobial resistance of gram-negative bacteria: A six-year longitudinal study in a hospital in Saudi Arabia. *J Infect Public Health.* 2020; 13(5): 737-745. doi: 10.1016/j.jiph.2020.01.004

Сведения об авторах

Воропаева Наталья Михайловна – младший научный сотрудник лаборатории микробиома и микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: n.m.shabanova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7026-2522X>

Немченко Ульяна Михайловна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиома и микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: umnemch@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7656-342X>

Савилов Евгений Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эпидемиологии и микробиологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: savilov47@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9217-6876>

Чемезова Наталья Николаевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры эпидемиологии и микробиологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: chemezova_natally@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5375-7785>

Григорова Екатерина Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиома и микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6588-2591>

Ситникова Ксения Олеговна – лаборант-исследователь лаборатории микробиома и микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: butakovaksenia505@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7717-906X>

Сорокина Анастасия Васильевна – лаборант лаборатории биомедицинской микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; магистр 1-го курса биолого-почвенного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», e-mail: nasty_sorokina_99@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3986-7413>

Зугеева Раиса Евгеньевна – лаборант лаборатории биомедицинской микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; бакалавр 3-го курса биолого-почвенного факультета ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», e-mail: raya.zugeeva@mail.ru

Белькова Наталья Леонидовна – кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nlbelkova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Information about the authors

Natalia M. Voropaeva – Junior Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: n.m.shabanova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7026-2522X>

Juliana M. Nemchenko – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: umnemch@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7656-342X>

Evgeny D. Savilov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Epidemiology and Microbiology, Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education – Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Chief Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: savilov47@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9217-6876>

Natalya N. Chemezova – Cand. Sc. (Biol.), Associate Professor at the Department of Epidemiology and Microbiology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Significant Cases, Scientific Center for Family Health and Human Reproduction, e-mail: chemezova_nataly@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5375-7785>

Ekaterina V. Grigorova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6588-2591>

Kseniya O. Sitnikova – Clinical Research Assistant at the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: butakovaksenia505@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7717-906X>

Anastasiya V. Sorokina – Laboratory Assistant at the Laboratory of Biomedical Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; Master's Degree Student of the 1st year at the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University, e-mail: nasty_sorokina_99@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3986-7413>

Raisa E. Zugeeva – Laboratory Assistant at the Laboratory for Microecology and the Microbiome, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; Bachelor's Degree Student of the 3rd year at the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University, e-mail: raya.zugeeva@mail.ru

Natalia L. Belkova – Cand. Sc. (Biol.), Docent, Leading Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nlbelkova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ НА ПАРАМЕТРЫ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ К TNF У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Альшевская А.А.,
Жукова Ю.В.,
Лопатникова Ю.А.,
Киреев Ф.Д.,
Шкаруба Н.С.,
Чумасова О.А.,
Шевченко Ю.А.,
Ильина Н.А.,
Сизиков А.Э.,
Сенников С.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский
институт фундаментальной
и клинической иммунологии»
(630099, г. Новосибирск,
ул. Ядринцевская, 14, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Альшевская Алина Анатольевна,
e-mail: alkkina@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Баланс экспрессии рецепторов к фактору некроза опухоли (TNF, tumor necrosis factor) на иммунных клетках является ключевым фактором, определяющим активацию под действием цитокина проапоптотических или пролиферативных сигнальных путей. Благодаря этому изменение уровня цитокина и экспрессии его рецепторов может являться одним из механизмов, регулирующих уровень системного и локального воспаления при ревматоидном артрите (РА) и обуславливающих степень эффективности терапии.

Цель исследования. Изучить влияние терапии ревматоидного артрита на изменение паттернов экспрессии рецепторов к TNF по показателям ко-экспрессии и количества рецепторов на основных субпопуляциях иммунокомпетентных клеток.

Методы. Был проведен сравнительный анализ профилей ко-экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF (TNFR1/2) у пациентов с РА (n = 16) до и после прохождения курса эффективной терапии в стационаре и в сравнении с группой здоровых доноров (n = 21). Проводилось сопоставление показателей количества рецепторов и доли клеток, экспрессирующих соответствующий рецептор, с помощью проточной цитометрии. Исследовались субпопуляции Т-регуляторных клеток, Т-клеток, В-клеток и моноцитов.

Результаты. При РА происходит значимое перераспределение экспрессии TNFR1 и TNFR2 на иммунокомпетентных клетках; при этом выраженность изменений ассоциирована не только с показателями тяжести заболевания, но и с получаемой терапией. Ключевым адаптационным механизмом системы TNF при длительном рефрактерном к терапии течении РА является изменение доли дубль-позитивных TNFR1+TNFR2+ клеток, в то время как эффективность терапии и клинические показатели тяжести заболевания связаны с индивидуальной вариативностью в параметрах экспрессии рецепторов 2-го типа.

Заключение. Полученные данные подтверждают наличие взаимосвязи между дисбалансом экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF на иммунокомпетентных клетках и эффективностью ответа на терапию. Выявленные паттерны типичных изменений в ко-экспрессии TNFR1/2 при РА могут быть использованы в качестве потенциальных терапевтических мишеней и факторов прогноза эффективности терапии.

Ключевые слова: фактор некроза опухолей, рецепторы, Т-лимфоциты, В-лимфоциты, моноциты, макрофаги, ревматоидный артрит, ритуксимаб, глюкокортикостероиды

Для цитирования: Альшевская А.А., Жукова Ю.В., Лопатникова Ю.А., Киреев Ф.Д., Шкаруба Н.С., Чумасова О.А., Шевченко Ю.А., Ильина Н.А., Сизиков А.Э., Сенников С.В. Влияние различных типов иммуносупрессивной терапии на параметры экспрессии рецепторов к TNF у пациентов с ревматоидным артритом. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 154-166. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.17

Статья поступила: 03.06.2022

Статья принята: 14.09.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

EFFECT OF DIFFERENT TYPES OF IMMUNOSUPPRESSIVE THERAPY ON THE PARAMETERS OF TNF RECEPTOR EXPRESSION IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

Alshevskaya A.A.,
Zhukova J.V.,
Lopatnikova J.A.,
Kireev F.D.,
Shkaruba N.S.,
Chumasova O.A.,
Shevchenko J.A.,
Ilina N.A.,
Sizikov A.E.,
Sennikov S.V.

Research Institute of Fundamental
and Clinical Immunology
(Yadrintsevskaya str. 14, Novosibirsk
630099, Russian Federation)

Corresponding author:
Alina A. Alshevskaya,
e-mail: alkkina@yandex.ru

ABSTRACT

Background. The balance of TNF receptor expression on immune cells is a key factor determining cytokine-induced activation of proapoptotic or proliferative signaling pathways. As a result, the changes in cytokine level and in expression of its receptors may be one of the mechanisms that regulate the level of systemic and local inflammation in rheumatoid arthritis (RA) and determine the degree of therapy effectiveness. **The aim.** To study the effect of rheumatoid arthritis therapy on the change in the patterns of TNF receptors expression in terms of co-expression and the number of receptors on the main subpopulations of immunocompetent cells.

Materials and methods. A comparative analysis of the profiles of TNF receptors type 1 and 2 (TNFR1/2) co-expression was carried out in patients with RA ($n = 16$) before and after having inpatient effective therapy and in comparison with a group of healthy individuals ($n = 21$). We compared the number of receptors and the proportion of cells expressing the corresponding receptor using flow cytometry and studied the subpopulations of regulatory T cells, T cells, B cells, and monocytes.

Results. In patients with RA, there is a significant redistribution of TNFR1 and TNFR2 expression on immunocompetent cells, while the intensity of changes is associated not only with disease severity indicators, but also with the therapy received. The key adaptive mechanism of the TNF system in long-term treatment refractory course of RA is a change in the proportion of double-positive TNFR1+TNFR2+ cells, while the effectiveness of therapy and clinical indicators of the disease severity are associated with individual variability in the parameters of type 2 receptors expression.

Conclusions. The data obtained confirm the existence of a relationship between an imbalance in the expression of type 1 and type 2 TNF receptors on immunocompetent cells and the effectiveness of response to therapy. The identified patterns of typical changes in TNFR1/2 co-expression in RA can be used as potential therapeutic targets and predictive factors for the effectiveness of therapy.

Key world: tumor necrosis factor, receptors, T lymphocytes, B lymphocytes, monocytes, macrophages, rheumatoid arthritis, rituximab, glucocorticoids

For citation: Alshevskaya A.A., Zhukova J.V., Lopatnikova J.A., Kireev F.D., Shkaruba N.S., Chumasova O.A., Shevchenko J.A., Ilina N.A., Sizikov A.E., Sennikov S.V. Effect of different types of immunosuppressive therapy on the parameters of TNF receptor expression in patients with rheumatoid arthritis. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 154-166. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.17

Received: 03.06.2022
Accepted: 14.09.2022
Published: 08.12.2022

ВВЕДЕНИЕ

Фактор некроза опухоли (TNF, tumor necrosis factor) – плейотропный цитокин, который регулирует сигнальные пути выживания клеток, пролиферации и метаболические процессы и является ключевым медиатором и регулятором иммунных реакций в норме и при патологии. Основная биологическая роль TNF заключается в защите хозяина от бактериальных, вирусных и паразитарных инфекций, однако физиологически он важен для нормального ответа на инфекцию, и, соответственно, нарушение в сети регуляции данного цитокина может приводить к серьёзным патологическим изменениям в организме. На клеточном уровне несколько сотен генов регулируются (индуцируются или подавляются) с помощью TNF в зависимости от типа клеток [1]. Функциональная активность TNF реализуется через связывание с двумя типами мембраносвязанных рецепторов. Данные рецепторы по-разному экспрессируются в клетках и тканях и инициируют как различные, так и перекрывающиеся пути передачи сигнала. Эти разнообразные сигнальные каскады приводят к ряду клеточных ответов, которые включают гибель клеток, выживание, дифференцировку, пролиферацию и миграцию [2]. Пути передачи сигнала TNF сложны и до конца не изучены. Несмотря на то, что регуляция фактора транскрипции NF- κ B является ключевым компонентом передачи сигнала TNF, точные данные обо всех молекулах и вариантах путей к настоящему моменту отсутствуют [3]. Предполагают, что провоспалительные и апоптотические пути гибели клеток, которые активируются TNF и связаны с повреждением тканей, в значительной степени опосредованы через TNFR1 [4]. При этом эффекты передачи сигналов через TNFR2 менее хорошо охарактеризованы, хотя было показано, что TNFR2 опосредует локальные гомеостатические эффекты, и его активация способствует восстановлению тканей и ангиогенезу [5, 6].

Экспрессия мембраносвязанных рецепторов отличается и может по-разному регулироваться на отдельных субпопуляциях иммунокомпетентных клеток. При этом регуляция экспрессии мембраносвязанных рецепторов TNF является результатом изменений скорости синтеза и шеддинга рецепторов, а также может активно меняться под воздействием стимулов, таких как концентрация окружающих цитокинов и микроокружение клеток [5, 6].

Показано участие TNF в патогенезе различных воспалительных, инфекционных и злокачественных заболеваний [1, 7]. Важность TNF в развитии воспалительных реакций была дополнительно подтверждена после начала применения терапии с помощью блокаторов и антагонистов TNF и введения синтетических растворимых рецепторов, блокирующих его эффекты [8]. Одним из заболеваний, в котором терапевтические стратегии, направленные на подавление TNF, продемонстрировали высокую эффективность, является ревматоидный артрит [9]. Ревматоидный артрит (РА) представляет собой хроническое аутоиммунное воспалительное заболевание, связанное с накоплением Т-клеток, макрофагов, а также В-клеток, плазматических клеток и дендритных клеток с активной продукцией провоспалительных цитокинов,

включая IL-1, IL-6, TNF и GM-CSF в воспалённом суставе [2, 9]. TNF- α является ключевым фактором, провоцирующим синовиальное воспаление, у 50–70 % пациентов с ревматоидным артритом (РА) [10].

К настоящему моменту известно, что рецепторы к цитокинам представляют собой важный фактор, участвующий в регуляции биологических эффектов иммунорегуляторных медиаторов. При этом значение имеет как количество клеток, которые экспрессируют специфические рецепторы, так и количество самих молекул рецепторов на мембране клеток-мишеней [11]. Уровень экспрессии мембраносвязанных рецепторов может существенно влиять на дифференцировку, пролиферацию и апоптоз клеточных популяций [12]. Однако на данный момент до конца не решён ряд фундаментальных вопросов и задач о влиянии распределения рецепторов разных типов внутри субпопуляции на функциональную активность клеток и о возможностях переключения между различными сигнальными путями за счёт изменения плотности экспрессии рецепторов. Также остаётся неизученным вопрос о наличии и природе взаимосвязей между проводимой терапией и её эффективностью с изменениями показателей экспрессии рецепторов как ключевого фактора, регулирующего воздействие цитокина на клетки.

Целью данного исследования было изучить влияние эффективной терапии ревматоидного артрита на изменение паттернов экспрессии рецепторов к TNF по показателям ко-экспрессии и количества рецепторов на основных субпопуляциях иммунокомпетентных клеток.

МЕТОДЫ

Получение материала от пациентов с ревматоидным артритом

Для оценки уровня ко-экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF- α использовали периферическую кровь больных РА, проходящих лечение в Клинике иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ). Все пациенты дали информированное согласие на участие в исследовании и использование персональных данных. Протокол исследования был утверждён локальным этическим комитетом НИИФКИ (№ 131 от 12.05.2021). В исследование включены 16 пациентов с РА, разделённых на группы по типу терапии: группа пациентов, которые прошли в стационаре курс терапии генно-инженерными биологическими препаратами (ГИБП), и группа пациентов, получавших терапию метилпреднизалоном. Критериями включения в исследование были снижение активности заболевания по DAS28 (Disease Activity Score 28) не менее чем на 0,6 балла (умеренное или значительное улучшение) за время госпитализации и монотерапия в условиях стационара. В качестве контрольной группы были использованы данные по 21 условно здоровому донору. Они были сопоставимы с пациентами, включёнными в исследование, по полу ($p > 0,999$) и возрасту ($p = 0,751$). Демографические и клинические характеристики включённых в исследование

пациентов и здоровых доноров контрольной группы представлены в таблице 1. Пациенты с РА для оценки ко-экспрессии рецепторов к TNF были дополнительно разделены на две подгруппы по типу проводимой терапии: первая подгруппа пациентов (подгруппа RIT; $n = 8$) получила ГИБП ритуксимаб; во вторую подгруппу вошли пациенты, которым была назначена терапия глюкокортикоидами (метилпреднизолоном) в связи с недостаточной предшествующей эффективностью любого ГИБП или невозможностью назначения ГИБП в текущую госпитализацию (подгруппа PN; $n = 8$). В подгруппе PN преобладали пациенты с более высокой тяжестью заболевания в связи с рефрактерным к стандартной терапии течением РА; количество пациентов с высокой активностью заболевания по DAS28 среди них составляло 7 (87,5 %) человек против 2 (25 %) в подгруппе RIT ($p = 0,041$). До поступления в стационар все пациенты получали длительную базисную терапию (более 6 месяцев), включающую как минимум один из иммуносупрессантов (метотрексат (9 пациентов), лефлуномид (4 пациента) или сульфасалазин (2 пациента)), а также, при тяжёлом течении, дополнительно получали метилпреднизолон (2 пациента).

Проточная цитофлуориметрия: пробоподготовка клеток к исследованию

Забор крови проводился натощак из локтевой вены в стерильных условиях по 9 мл в вакуумные пробирки с антикоагулянтом K3-EDTA (3-замещенной калиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты) «Vacuette K3-EDTA» (GreinerBio-One GmbH, Австрия). Далее выполнялся общий анализ крови с подсчётом общего количества лейкоцитов и аликвотирование необходимого объёма крови, содержащего 1 млн лейкоцитов, в цитометрические пробирки.

Оценка уровня экспрессии рецепторов проводилась на Т-лимфоцитах, В-лимфоцитах, моноцитах, Т-регуляторных клетках. При пробоподготовке образцов для проведения анализа на проточном цитометре проводилось внесение десятикратно разведённого в натрий-фосфатном буфере (PBS, phosphate buffered saline) лизирующего буфера BDFACSLysingSolution (кат. номер 349202; BD, США), согласно инструкции производителя,

в десятикратном объёме по отношению к объёму пробы. Инкубация происходила в течение 15 минут при комнатной температуре. Далее вносили PBS в объёме 1 мл на пробу, центрифугировали при 1500 об./мин в течение 10 минут. Удаляли надосадочную жидкость, вносили 100 мкл PBS. Инкубацию проводили в пробирках для проточной цитометрии в PBS с человеческим IgG (ФГУП «НПО «Микроген», Россия) в конечной концентрации 3 мг/мл в течение 20 минут в темноте при комнатной температуре для блокировки Fc-рецепторов и уменьшения неспецифического связывания. Внесение моноклональных антител с флуорохромами для идентификации субпопуляций иммунокомпетентных клеток проводилось в объёме, указанном производителем для окраски 1 млн клеток. Использовались следующие антитела: anti-human CD3 APC/Cy7, anti-human CD19 PeCy7, anti-human CD14 PerCP, anti-human CD4 PeCy7, anti-human CD25 FITC, anti-human CD127 (IL-7R α) APC/Cy7. Анализ экспрессии рецепторов TNF проводили с использованием моноклональных антител: anti-humanTNFR1-PE, anti-humanTNFR2-PE, (R&D Systems, США), anti-humanTNFR1-APC (R&D Systems, США), anti-humanTNFR2-APC (R&D Systems, США).

Проточная цитофлуориметрия: оценка экспрессии и ко-экспрессии рецепторов к TNF- α и оценка функциональной активности клеток

Оценка фенотипических характеристик проводилась методом проточной цитометрии (цитофлуориметры FACSVerse (BD, США) и Attune NxT (ThermoFisher, США)). Обработка данных и расчёт показателей интенсивности флуоресценции производились с использованием программного обеспечения FACS Diva (BD, США). Для создания калибровочной кривой и перевода значений интенсивности флуоресценции клеток, экспрессирующих соответствующий маркер, в абсолютные показатели количества рецепторов использовался набор BD QuantiBRITE PE (BD Biosciences, США). Для одновременного определения процента ко-экспрессирующих клеток и подсчёта количества рецепторов к TNF- α 1-го и 2-го типов на клетках производилось двойное мечение парных образцов. Каждый образец был разде-

ТАБЛИЦА 1
ДЕМОГРАФИЧЕСКАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ С РА
И ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ

Параметры	Здоровые доноры ($n = 21$)	Пациенты с РА ($n = 16$)	p
Возраст (лет), Ме (IQR)	55 (45–60)	55 (45–60)	0,751
Мужчины, n (%)	4 (19 %)	3 (18,75 %)	> 0,999
Активность заболевания до лечения, n (%)			
высокая (DAS28 > 5,1)	–	9 (56,25 %)	
умеренная	–	5 (31,25 %)	–
низкая (DAS28 < 3,2)	–	2 (12,5 %)	

TABLE 1
DEMOGRAPHIC AND CLINICAL CHARACTERISTICS
OF PATIENTS WITH RA AND HEALTHY INDIVIDUALS

лён на две пробирки, окрашенные соответственно TNFR1-PE + TNFR2-APC или TNFR2-PE + TNFR1-APC. После цитометрического анализа количество рецепторов 1-го типа рассчитывалось в пробирках с TNFR1-PE + TNFR2-APC, а число рецепторов 2-го типа – в пробирках с TNFR2-PE + TNFR1-APC. Процент клеток, экспрессирующих 1-й или 2-й типы рецептора, в каждой фракции определялась как среднее между двумя образцами.

Статистическая обработка

Статистический анализ данных проводили с помощью программы Statistica 7.0 (StatSoft Inc., США). Для сравнения независимых выборок и расчёта статистической значимости использовался критерий Краскела – Уоллиса по рангам с многократным сравнением медианных значений (при сравнении идентичных показателей для разных субпопуляций и выявлении различий между подгруппами

испытуемых). Для оценки взаимосвязей между исследуемыми параметрами активности и тяжести заболевания и показателями ко-экспрессии рецепторов был произведён анализ корреляционных взаимосвязей с использованием коэффициента корреляций Пирсона (при $p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании уровня экспрессии и ко-экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF- α на иммунокомпетентных клетках больных ревматоидным артритом до и после терапии в стационаре и сравнении их показателей с параметрами клеток здоровых доноров был установлен ряд значимых тенденций и ассоциаций (табл. 2). В популяции Т-лимфоцитов CD3+ у больных РА на исходном уровне обнаружено повышение ко-

ТАБЛИЦА 2

ПОКАЗАТЕЛИ ЭКСПРЕССИИ И КО-ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ НА ОСНОВНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОВ С РА ДО И ПОСЛЕ ТЕРАПИИ В СТАЦИОНАРЕ ПО СРАВНЕНИЮ СО ЗДОРОВЫМИ ДОНОРАМИ, МЕ (IQR)

TABLE 2

PARAMETERS OF RECEPTORS EXPRESSION AND CO-EXPRESSION ON THE MAIN POPULATIONS OF IMMUNOCOMPETENT CELLS IN PATIENTS WITH RA BEFORE AND AFTER INPATIENT THERAPY COMPARED WITH HEALTHY INDIVIDUALS, ME (IQR)

Популяция и параметры экспрессии	Здоровые доноры (n = 21)	Пациенты с РА, до терапии (n = 16)	Пациенты с РА, после терапии (n = 16)
CD3+ Т-клетки			
% TNFR1+ клеток	0,8 (0,2–7,2)	26 (15,5–32,4)	67 (51,1–73,1)*; #
% TNFR2+ клеток	31,4 (24,8–39,6)	48,8 (30,8–54,9)	27 (17,9–33,8)#
Число TNFR1 на клетках	830 (583–1461)	569 (495–923)	335 (270–408)*; #
Число TNFR2 на клетках	851 (684–917)	1703 (1384–2339)*	1463 (1055–1828)*
Т-регуляторные клетки			
% TNFR1+ клеток	1,8 (0,9–11,6)	31,4 (18,7–62,4)*	22,4 (17,8–44,3)*
% TNFR2+ клеток	94 (90–98,1)	88,6 (63,4–95,1)	90,4 (83–92,5)
Число TNFR1 на клетках	3032 (1205–12667)	1560 (463–3282)	270 (256–287)*; #
Число TNFR2 на клетках	1347 (1211–2638)	7484 (3336–12321)	1517 (1331–3717)#
CD19+ Т-клетки			
% TNFR1+ клеток	7,1 (4,7–24,1)	36,5 (24,5–43,9)*	67,8 (46,4–83,8)*; #
% TNFR2+ клеток	95,6 (81,3–96,3)	49 (34,9–63,6)*	14,6 (10,5–26,9)*; #
Число TNFR1 на клетках	1657 (688–2578)	852 (593–1649)	460 (303–619)*; #
Число TNFR2 на клетках	6133 (3467–7664)	2333 (1483–3321)*	1570 (1077–2610)*
Моноциты			
% TNFR1+ клеток	43,7 (21,5–50,7)	48 (31–87,3)	79,8 (62,7–91)
% TNFR2+ клеток	82,4 (70–95,5)	78,9 (61,9–91,5)	68,2 (43,9–86,3)#
Число TNFR1 на клетках	1705 (1220–2540)	1950 (1560–4806)	597 (446–628)*; #
Число TNFR2 на клетках	3539 (2430–6461)	5788 (3114–10222)	3706 (2642–4475)

Примечание. * – статистически значимые ($p < 0,05$) различия по сравнению со здоровыми донорами, тест Краскела – Уоллиса; # – статистически значимые ($p < 0,05$) различия по сравнению с пациентами до терапии, парный тест Вилкоксона.

личества молекул рецепторов 2-го типа, а после терапии регистрировались разнонаправленные эффекты на процент клеток (по повышению числа клеток с экспрессией TNFR1 и снижению числа клеток с экспрессией TNFR2). Для Т-регуляторных клеток изменения до коррекции базисной терапии обнаружены только по проценту клеток TNFR1+, а эффективная терапия с улучшением клинических симптомов оказала влияние на число рецепторов 1-го и 2-го типов, но не на количество клеток с этими рецепторами. CD19 В-лимфоциты у больных РА до терапии отличались от клеток здоровых доноров по числу клеток с экспрессией R1 и R2, причём процент TNFR1 был выше по сравнению со здоровыми, а процент TNFR2 –

ниже. Улучшение клинических симптомов после коррекции базисной терапии привело к ещё большему повышению числа TNFR1 экспрессирующих клеток и ещё более выраженному снижению процента TNFR2+ клеток, а также значимо упало число молекул рецепторов 1-го типа. Моноциты больных РА исходно не отличались от таковых у здоровых доноров, а терапия приводила к снижению процента клеток с экспрессией 2-го типа рецептора и снижению числа рецепторов 1-го типа.

Обнаруженные разнонаправленные изменения подтвердили ассоциацию системы мембраносвязанных рецепторов TNF-α как с патогенетическим процессом при РА, так и с ответом на терапию при улучшении

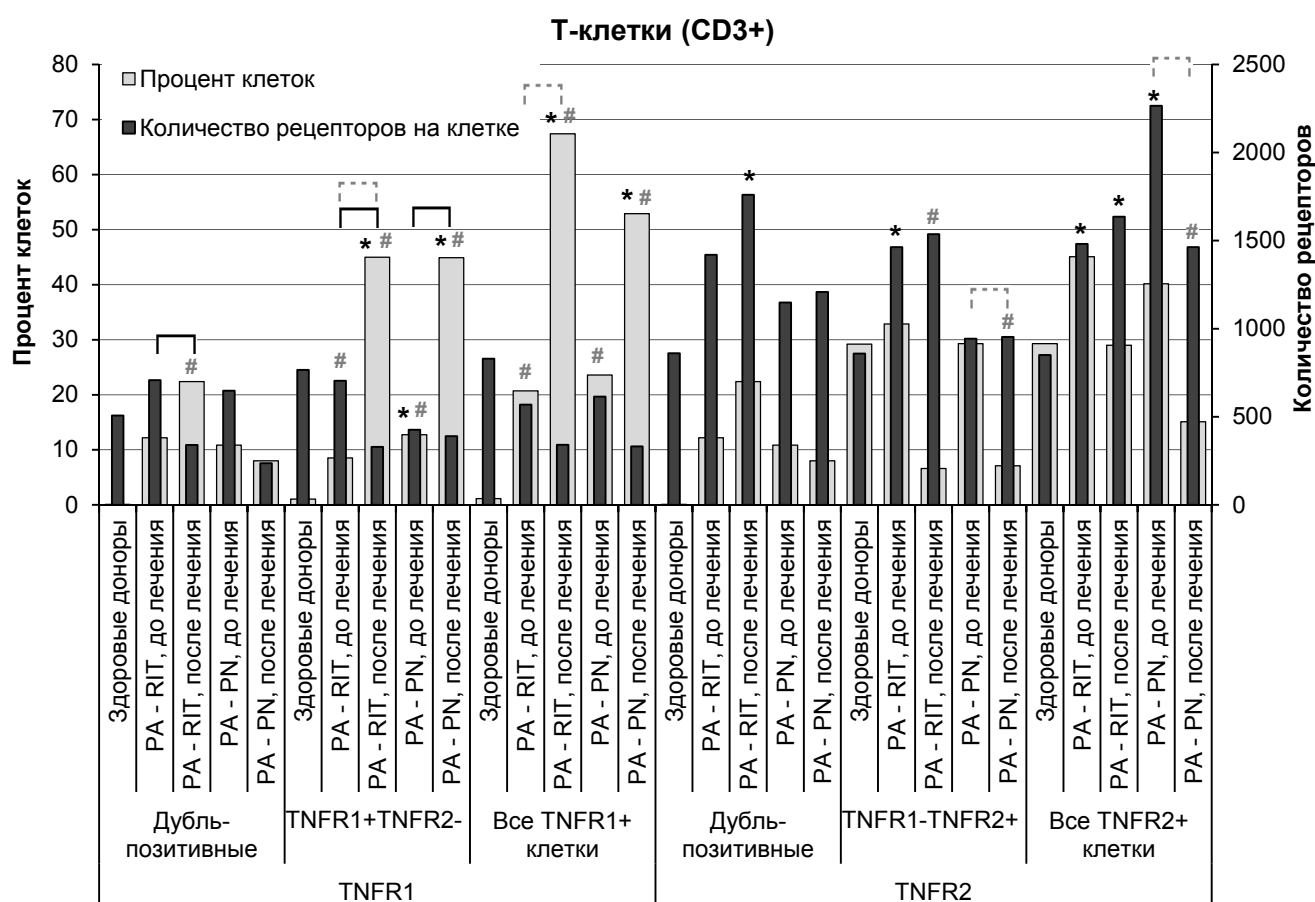


РИС. 1.

Показатели уровня экспрессии и ко-экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF на Т-клетках, выделенных у пациентов с ревматоидным артритом (n = 16), до и после прохождения в стационаре курса эффективной терапии по сравнению с аналогичными показателями здоровых доноров (n = 21): сплошные линии – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям числа рецепторов до и после терапии внутри группы; пунктирные линии – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям процента клеток до и после терапии внутри группы; * – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям числа рецепторов по сравнению с показателями здоровых доноров; # – статистически значимые (p < 0,05) различия по показателям процента клеток по сравнению с показателями здоровых доноров

FIG. 1.

Parameters of expression and co-expression of TNF type 1 and 2 receptors on T cells isolated from patients with rheumatoid arthritis (n = 16) before and after the course of inpatient effective therapy compared with healthy individuals (n = 21): solid lines – statistically significant (p < 0.05) differences of the number of receptors before and after therapy within the group; dotted lines – statistically significant (p < 0.05) differences of the cell percentage before and after therapy within the group; * – statistically significant (p < 0.05) differences of the number of receptors compared to healthy donors; # – statistically significant (p < 0.05) differences of the cell percentage compared to healthy donors

клинических симптомов. Однако ряд изменений в экспрессии рецепторов позволил предположить, что ответ на терапию может зависеть от вида проводимого лечения. На основании данного предположения группа пациентов с эффективным ответом на терапию была разделена по видам проводимого лечения на группу с терапией метилпреднизолоном и группу с терапией ГИБП ритуксимабом, который представляет из себя антитела к CD20 В-лимфоцитам. При оценке уровня экспрессии рецепторов TNF-α в данных подгруппах были получены различия как по проценту, так и по числу молекул рецепторов TNF-α (рис. 1–4).

Для общей популяции Т-лимфоцитов показаны изменения в системе рецептора 1-го типа при терапии метилпреднизолоном и ритуксимабом, которые привели к снижению общего числа рецептора на клетках данной субпопуляции, при одновременном увеличении процентного содержания клеток с экспрессией TNFR1. Для популяции Т-лимфоцитов, экспрессирующих рецептор TNF 2-го типа, были обнаружены изменения только после проведенной терапии метилпреднизолоном в относительном количестве клеток с экспрессией рецепторов данного типа. В целом больные РА характеризовались большим уровнем содержания

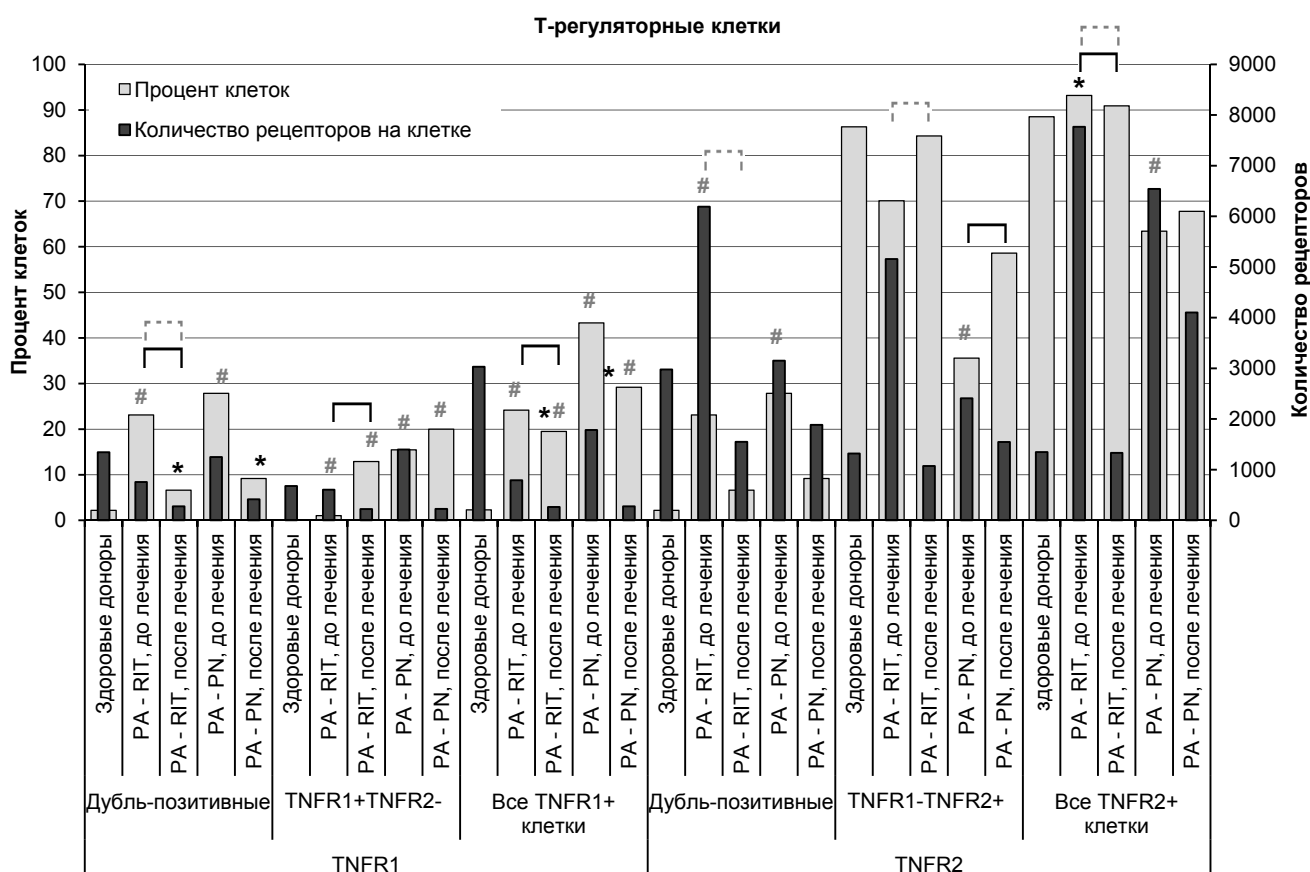


РИС. 2.

Показатели уровня экспрессии и ко-экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF на Т-регуляторных клетках, выделенных у пациентов с ревматоидным артритом ($n = 16$), до и после прохождения в стационаре курса эффективной терапии по сравнению с аналогичными показателями здоровых доноров ($n = 21$): сплошные линии – статистически значимые ($p < 0,05$) различия по показателям числа рецепторов до и после терапии внутри группы; пунктирные линии – статистически значимые ($p < 0,05$) различия по показателям процента клеток до и после терапии внутри группы; * – статистически значимые ($p < 0,05$) различия по показателям числа рецепторов по сравнению с показателями здоровых доноров; # – статистически значимые ($p < 0,05$) различия по показателям процента клеток по сравнению с показателями здоровых доноров

FIG. 2.

Parameters of expression and co-expression of TNF type 1 and 2 receptors on regulatory T cells isolated from patients with rheumatoid arthritis ($n = 16$) before and after the course of inpatient effective therapy compared with similar indicators of healthy individuals ($n = 21$): solid lines – statistically significant ($p < 0.05$) differences of the number of receptors before and after therapy within the group; dotted lines – statistically significant ($p < 0.05$) differences of the cell percentage before and after therapy within the group; * – statistically significant ($p < 0.05$) differences of the number of receptors compared to healthy donors; # – statistically significant ($p < 0.05$) differences of the cell percentage compared to healthy donors

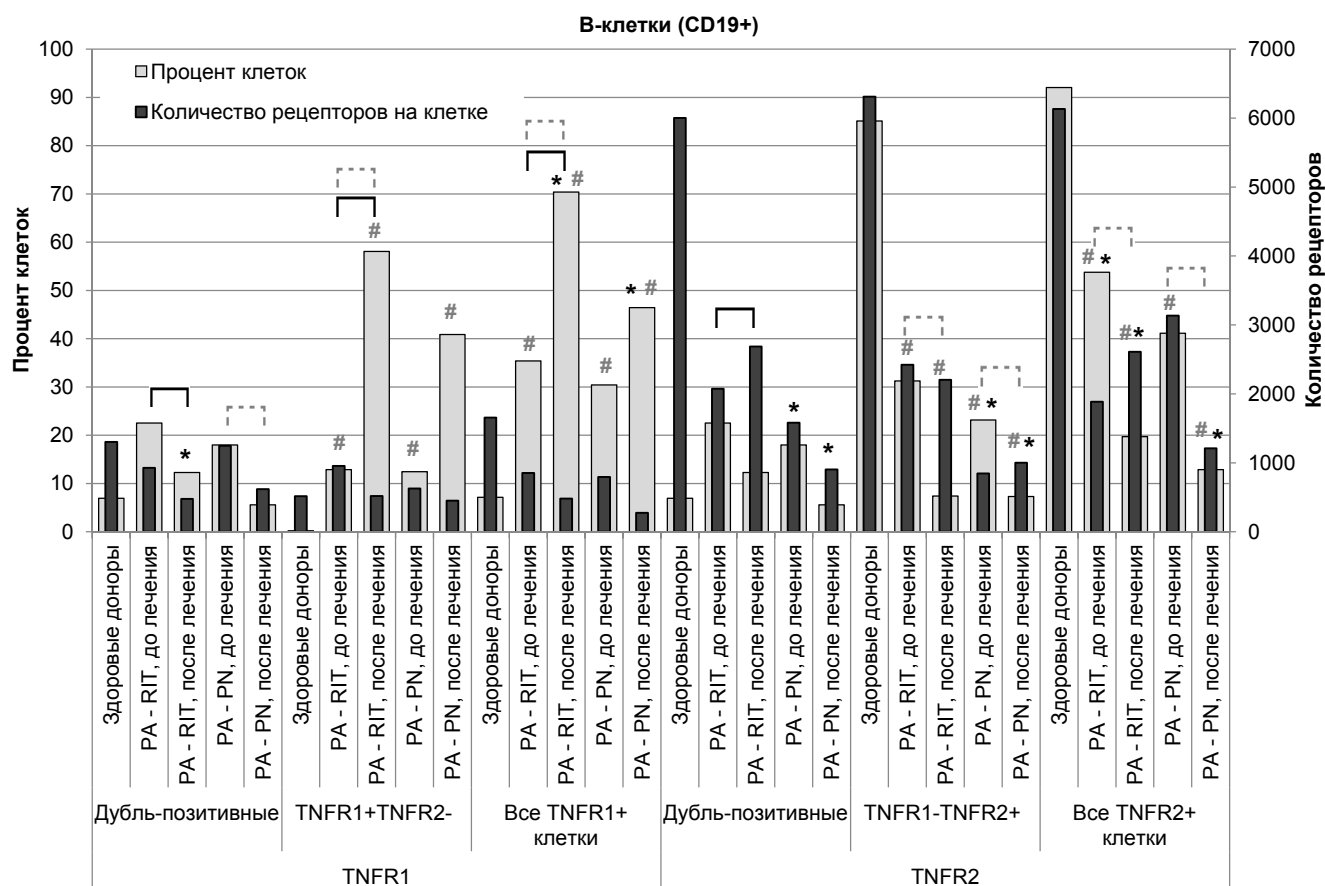


РИС. 3.

Показатели уровня экспрессии и ко-экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF на В-клетках, выделенных у пациентов с ревматоидным артритом ($n = 16$), до и после прохождения в стационаре курса эффективной терапии по сравнению с аналогичными показателями здоровых доноров ($n = 21$): сплошные линии – статистически значимые ($p < 0,05$) различия по показателям числа рецепторов до и после терапии внутри группы; пунктирные линии – статистически значимые ($p < 0,05$) различия по показателям процента клеток до и после терапии внутри группы; * – статистически значимые ($p < 0,05$) различия по показателям числа рецепторов по сравнению с показателями здоровых доноров; # – статистически значимые ($p < 0,05$) различия по показателям процента клеток по сравнению с показателями здоровых доноров

FIG. 3.

Parameters of expression and co-expression of TNF type 1 and 2 receptors on B cells isolated from patients with rheumatoid arthritis ($n = 16$) before and after the course of inpatient effective therapy compared with similar indicators of healthy individuals ($n = 21$): solid lines – statistically significant ($p < 0.05$) differences of the number of receptors before and after therapy within the group; dotted lines – statistically significant ($p < 0.05$) differences of the cell percentage before and after therapy within the group; * – statistically significant ($p < 0.05$) differences of the number of receptors compared to healthy donors; # – statistically significant ($p < 0.05$) differences of the cell percentage compared to healthy donors

клеток с экспрессией рецептора TNF 1-го типа на клетках данной субпопуляции.

Для Т-регуляторных клеток по процентному содержанию клеток, экспрессирующих рецепторы к TNF- α , после терапии был продемонстрирован общий тренд на снижение всех фракций TNFR1+ и TNFR2+ как по процентному содержанию, так и по числу экспрессируемых молекул рецепторов на мембранах Т-регуляторных клеток. Также показано, что все пациенты с РА имели более высокий процент клеток, экспрессирующих рецептор TNF 1-го типа, по сравнению со здоровыми донорами.

Популяция В-лимфоцитов на фоне проводимой терапии ревматоидного артрита также показала статистически значимые изменения в системе мембраносвязанных рецепторов TNF. Так, общей тенденцией для обоих видов проводимого лечения было повышение процентного содержания клеток, экспрессирующих TNFR1, и снижение процента клеток, экспрессирующих TNFR2. При этом эффективная терапия ритуксимабом также привела к статистически значимому снижению числа рецепторов TNF 1-го типа, а терапия метилпреднизолоном – к тенденции по снижению числа рецепторов 2-го типа на В-лимфоцитах. Интересным представляется то,

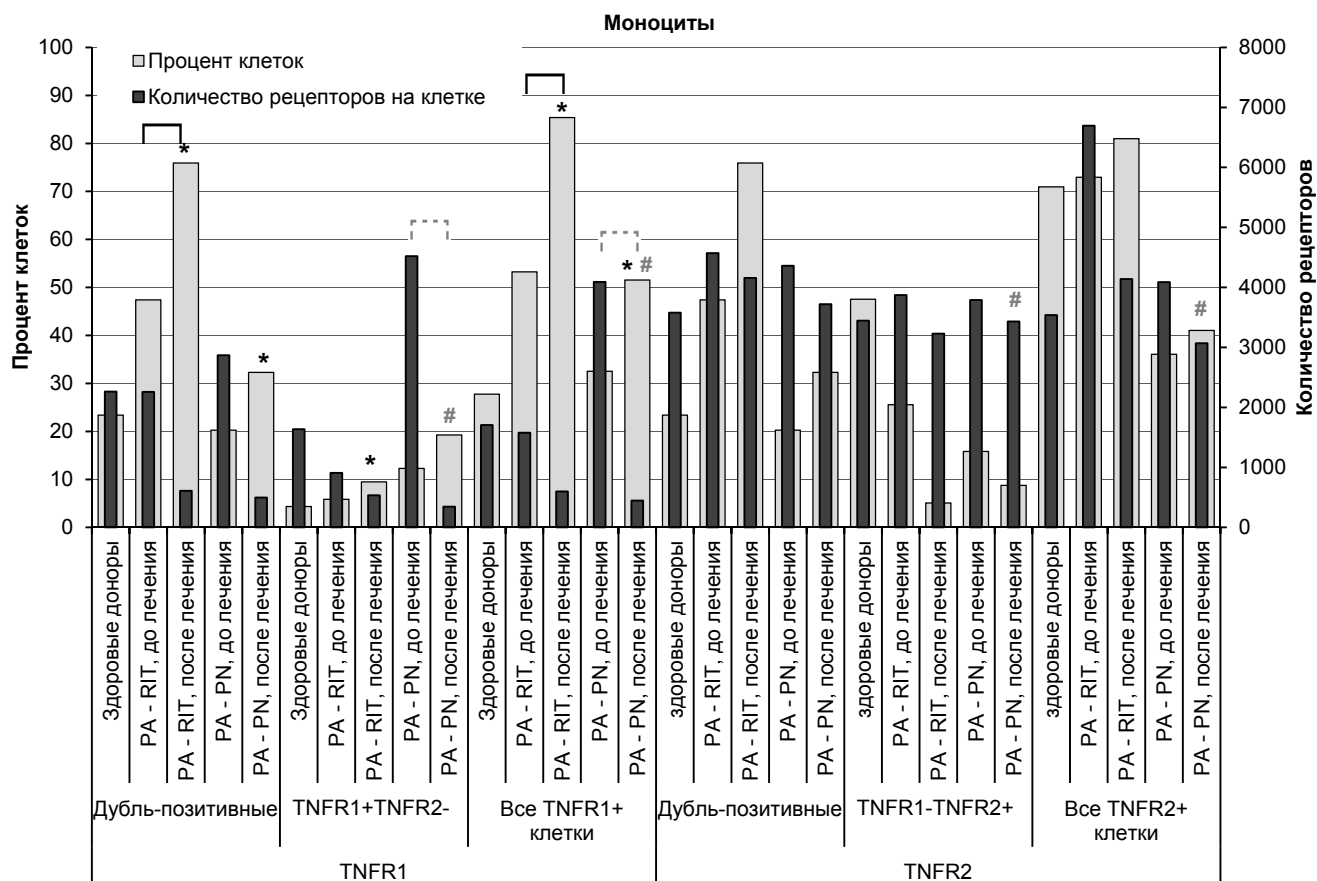


РИС. 4.

Показатели уровня экспрессии и ко-экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF на моноцитах, выделенных у пациентов с ревматоидным артритом ($n = 16$), до и после прохождения в стационаре курса эффективной терапии по сравнению с аналогичными показателями здоровых доноров ($n = 21$): сплошные линии – статистически значимые ($p < 0,05$) различия по показателям числа рецепторов до и после терапии внутри группы; пунктирные линии – статистически значимые ($p < 0,05$) различия по показателям процента клеток до и после терапии внутри группы; * – статистически значимые ($p < 0,05$) различия по показателям числа рецепторов по сравнению с показателями здоровых доноров; # – статистически значимые ($p < 0,05$) различия по показателям процента клеток по сравнению с показателями здоровых доноров

что популяция дубль-позитивных клеток, экспрессирующих оба типа рецептора TNF, показала отличия от общих показателей экспрессии рецепторов. Для рецептора 1-го типа в этой популяции терапия ритуксимабом приводила к снижению числа рецепторов, терапия преднизолоном – к снижению процентного содержания клеток; для 2-го типа рецептора в дубль-позитивной популяции терапия ритуксимабом привела к увеличению числа молекул рецепторов TNFR2.

По показателям экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF- α на моноцитах наблюдалась общая тенденция к увеличению процента клеток, экспрессиру-

FIG. 4.

Parameters of expression and co-expression of TNF type 1 and 2 receptors on monocytes isolated from patients with rheumatoid arthritis ($n = 16$) before and after the course of inpatient effective therapy compared with similar indicators of healthy individuals ($n = 21$): solid lines – statistically significant ($p < 0.05$) differences of the number of receptors before and after therapy within the group; dotted lines – statistically significant ($p < 0.05$) differences of the cell percentage before and after therapy within the group; * – statistically significant ($p < 0.05$) differences of the number of receptors compared to healthy donors; # – statistically significant ($p < 0.05$) differences of the cell percentage compared to healthy donors

ющих 1-й и 2-й типы рецептора, после проводимой терапии, за исключением показателя общего количества клеток, экспрессирующих TNFR2. При этом по плотности экспрессии рецепторов оба вида терапии приводили к статистически значимому снижению количества TNFR1 на моноцитах и тенденции к снижению уровня экспрессии TNFR2. При этом изменения после терапии были более выраженными для группы, получавшей ритуксимаб, что может быть связано с изначально более высоким уровнем экспрессии рецепторов в ней.

При исследовании ассоциаций между параметрами экспрессии и ко-экспрессии рецепторов и пока-

зателями тяжести заболевания в общей группе пациентов с РА было установлено, что активность заболевания по DAS28 ассоциирована с числом рецепторов 1-го типа на CD14-клетках ($r = 0,66$; $p = 0,005$) и процентом дубль-позитивных клеток среди В-лимфоцитов ($r = -0,49$; $p = 0,05$). Рентгенологическая стадия заболевания была ассоциирована как с числом рецепторов 2-го типа на В-лимфоцитах ($r = -0,48$; $p = 0,05$), так и с числом рецепторов 1-го типа на них же ($r = -0,67$; $p = 0,024$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные подтверждают ранее предложенную нами гипотезу о роли баланса в экспрессии рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF α в формировании ответа на цитокин в норме и при иммунопатологических процессах. Выявленные изменения в паттернах экспрессии рецепторов TNFR1 и TNFR2 обуславливают различия в изменении реакций клеток на медиатор при ревматоидном артрите, в том числе и при назначении и коррекции базовой терапии, что приводит к различиям в профилях индивидуальной эффективности и безопасности препаратов. Данные изменения не только обусловлены отличиями в показателях общего числа клеток, экспрессирующих рецепторы к иммуномодулирующим факторам, но и в значительной мере зависят от параметров одновременной экспрессии рецепторов разных типов и показателей плотности экспрессии рецепторов, то есть от количества молекул рецепторов, которые будут формировать ответ отдельных субпопуляций. Исследование продемонстрировало актуальность оценки экспрессии рецепторов на дубль-позитивных TNFR1+TNFR2+ клетках для прогнозирования характера и типа реагирования клеток на медиатор, что выражается в ассоциированности как с показателями активности и тяжести заболевания до проводимой в стационаре терапии, так и с уровнем ответа на терапию и эффективностью снижения высокой активности заболевания при терапии генно-инженерными биологическими препаратами.

При ревматоидном артрите как хроническом системном воспалительном заболевании с деструкцией суставов наиболее многочисленной и гетерогенной группой клеток, участвующей в поддержании активных патогенетических процессов, являются CD4 + Т-клетки (в основном клетки Th1 и Th17) и фибробласты, такие как синовиоциты, макрофаги и В-клетки [13]. Важный вклад в хронизацию заболевания и формирование условий для обострений вносят также другие клетки, такие как дендритные клетки, нейтрофилы, тучные клетки и моноциты [14]. Для иммуномодулирующего цитокина TNF показана возможность регуляции функций всех этих типов клеток, за счёт чего он является одним из центральных факторов патогенеза данного заболевания [10, 15, 16], и изучение рецепторов TNF- α как факторов, обеспечивающих передачу сигнала от цитокина к клеткам, представляется наиболее актуальным на основных субпопуляциях иммунокомпетентных клеток.

Моноциты при РА взаимодействуют с другими клетками, инициируя при распространении ревматоидного процесса с помощью положительной обратной связи продукцию провоспалительных цитокинов, таких как TNF, IL-1 β и IL-6 [17]. При этом моноциты из кровотока рекрутируются в синовиальную оболочку сустава посредством хемотаксиса, активно участвуя в патологическом процессе, что обуславливает важность оценки функции моноцитов периферической крови. Обнаруженные в нашем исследовании изменения по снижению количества рецепторов 1-го типа при одновременном повышении числа клеток, несущих эти рецепторы, говорят о значимом изменении способности данной популяции клеток отвечать на цитокин на фоне эффективной терапии метилпреднизолоном и ритуксимабом. Предполагается что снижение после курса ритуксимаба среднего числа рецепторов как в общей популяции, так и среди дубль-позитивных клеток приводит к менее выраженному ответу моноцитов на медиатор TNF, в том числе, вероятно, к снижению патогенетической продукции провоспалительных факторов. При этом у больных на терапии преднизолоном эти результаты видны лишь в виде тенденции, но не являются значимыми. Более выраженный ответ по изменению экспрессии, обнаруженный в ответ на терапию ритуксимабом, по сравнению с ответом на преднизолон может быть связан с тем, что изначально больные в подгруппе RIT имели более высокие уровни экспрессии рецепторов к TNF в связи с длительным рефрактерным к стандартной терапии течением заболевания.

Двумя наиболее значительными проявлениями дисфункции Т-лимфоцитов при ревматоидном артрите являются постоянная активация Т-клеток, приводящая к аномальному состоянию поддержания пролиферации и формированию «резистентности к апоптозу» [18], что может быть одной из причин выживания аберрантных клеток при РА. В нормальных условиях Т-регуляторные клетки диктуют состояние иммунной толерантности, однако при РА встречается дисфункция Т-регуляторных клеток, которая, по всей вероятности, может быть частично нивелирована при эффективной терапии РА, что клинически будет проявляться улучшением состояния пациентов [19]. В нашей работе показано, что Т-регуляторные клетки пациентов после ответа на терапию ритуксимабом статистически значимо снизили как процент клеток, экспрессирующих рецепторы TNF 1-го и 2-го типов, так и число молекул на этих клетках. Это свидетельствует о более выраженном эффекте терапии ГИБП на данную популяцию по сравнению с популяцией моноцитов, у которых произошло компенсаторное повышение процента клеток с экспрессией рецепторов к цитокину. Стоит также отметить, что наиболее выраженные изменения коснулись популяции с экспрессией обоих типов рецепторов. Снижение реактивности популяции Т-регуляторных клеток на патогенный TNF было ассоциировано с улучшением течения заболевания и ответом на терапию. Полученные данные подтверждают данные по активному участию субпопуляции Т-регуляторных клеток в патогенезе РА и по-

звolyают предположить, что высокое содержание среди них TNFR1+ клеток является одним из механизмов, обеспечивающих восстановление функции Т-регуляторных клеток на фоне терапии.

Поскольку пролиферация Т-клеток также нарушена при РА [20], в нашей работе мы оценили общую популяцию CD3+ клеток по уровню экспрессии мембраносвязанных рецепторов 1-го и 2-го типов к TNF, достаточный уровень экспрессии которых необходим для регуляции процессов нормальной и патологической пролиферации. Общие тенденции изменения экспрессии были схожими с популяцией моноцитов. В ответ на терапию ритуксимабом снижалось количество рецепторов 1-го типа, и при этом повышалось относительное число клеток TNFR1 в данной популяции. Полученные данные говорят о том, что Т-лимфоциты также значимо меняют экспрессию комплекса рецепторов TNF под воздействием ГИБП. В-клетки, образующиеся при контакте с аутоантигенами, могут способствовать аутоиммунитету различными способами: 1) представление антигена аутореактивным Т-клеткам; 2) продукция аутоантител с образованием антигена/антитела и активацией комплемента или фагоцитоза; 3) генерация цитокинов, стимулирующих пути Th1 или Th17; 4) ингибирование регуляторных Т- и В-клеток [21, 22]. В нашем исследовании по оценке рецепторной системы TNF для популяции В-лимфоцитов CD19+ были показаны наиболее значимые различия между видами коррекции базисной терапии при РА. На В-лимфоцитах у больных, получающих терапию ритуксимабом, обнаружено статистически значимое снижение количества молекул TNFR1 и увеличение относительного числа клеток с этим типом рецептора и одновременно увеличение числа экспрессируемых TNFR2 и снижение процента клеток с экспрессией 2-го типа рецептора TNF. В то же время у пациентов с терапией метилпреднизолоном показано только снижение относительного числа клеток с экспрессией 1-го и 2-го типов рецепторов TNF. Высокий процент дубль-позитивных клеток среди В-лимфоцитов при высокой плотности рецепторов как 1-го, так и 2-го типа на них в условиях повышенного содержания цитокина, характерного для пациентов с ревматоидным артритом, обладал протективным эффектом в отношении деструктивных изменений, выявляемых рентгенологически. Напротив, низкая плотность рецепторов 1-го типа на моноцитах была ассоциирована с более лёгким течением заболевания, что демонстрирует различия в чувствительности клеток к действию цитокина в условиях длительного воспалительного процесса. Это подтверждает важную роль данной субпопуляции в формировании воспалительного микроокружения при ревматоидном артрите.

Наиболее интересным представляется комплексная оценка данных, которая показывает, что фракцией, в которой при патологии и сопутствующих воздействиях на пациента происходят наиболее выраженные изменения по параметрам экспрессии рецепторов, в каждой субпопуляции является фракция дубль-позитивных клеток. Данный компенсаторный механизм объясняется тем, что баланс между проапоптотическим и провоспа-

лительными сигнальными путями обусловлен не только наличием того или иного рецептора на поверхности клеток, но и их соотношением на клетках, в том числе за счёт передачи сигнала между двумя типами рецептора [6]. Также можно отметить, что большинство изменений в системе рецепторов относилось к рецептору TNF 1-го типа, который отвечает за провоспалительные и апоптотические пути гибели клеток [4], что, соответственно, подтверждает эффективность терапии, поскольку общий тренд изменений включает снижение числа молекул на клетках. Мы предполагаем, что данные изменения влияют на общую реактивность клеток в ответ на TNF, что подтверждается экспериментальными исследованиями [23]. Субпопуляциями, отличающимися от общих трендов изменений, были Т-регуляторные клетки, у которых, помимо числа рецепторов, также снижалось и количество клеток, несущих рецепторы 1-го типа, что может свидетельствовать о более эффективном воздействии ритуксимаба именно на популяцию Т-рег. В популяции В-лимфоцитов наблюдалось повышение относительного числа клеток с экспрессией рецептора TNFR2, что согласуется с данными об участии аутореактивных клонов в патогенетическом процессе. При сравнении динамики изменения ко-экспрессии и плотности экспрессии рецепторов после разных типов терапий было показано, что изменения в экспрессии рецепторов 1-го типа носят однонаправленный характер для всех типов клеток (приближение к показателям здоровых доноров на Т- и В-клетках и компенсаторное гиперизменение на Т-регуляторных клетках). Однако для рецепторов 2-го типа, напротив, только Т-регуляторные клетки продемонстрировали тренд на восстановление после эффективной терапии уровня экспрессии TNFR2, аналогичного показателям здоровых доноров, при обоих типах терапии, в то время как для остальных популяций не было единого тренда. Данные изменения обусловлены не только различными противовоспалительными механизмами, инициируемыми гормональной и ГИБП-терапией, но и предшествующей историей длительного рефрактерного течения заболевания в подгруппе, получавшей метилпреднизолон. Ограничениями данного исследования можно считать различия в исходном уровне активности заболевания между группами с терапией преднизолоном и ритуксимабом, что делает невозможным проведение сравнения между этими двумя группами, однако полученные данные позволили провести сравнительный анализ эффективности терапии и сравнение со здоровыми донорами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённой комплексной оценки показателей ко-экспрессии и количественной экспрессии мембраносвязанных рецепторов TNF были получены данные об изменениях этих показателей при ревматоидном артрите и их ассоциированности с ответом на терапию. Полученные данные указывают на различный вклад рецепторов TNF-α в функционирование популя-

ций иммунокомпетентных клеток при патологии и позволяют выявить отдельные субпопуляции, индивидуально реагирующие на проводимую терапию как объект для использования подходов таргетной модуляции экспрессии рецепторов к цитокину для контроля провоспалительных и аутоиммунных процессов. Оценка данных параметров может являться перспективной для понимания механизмов регуляции иммунного ответа клеток, а также стать дополнительным критерием диагностики иммуноопосредованных заболеваний и терапевтической мишенью для создания новых подходов в лечении.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках темы госзадания «Изучение показателей экспрессии рецепторов цитокинов и их лигандов в формировании функциональных свойств и типа реагирования клеточных популяций различного генеза в норме и при патологии» (номер гос. регистрации в ЕГИСУ НИОКТР 122011800353-4).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Lee A, Qiao Y, Grigoriev G, Chen J, Park-Min KH, Park SH, et al. Tumor necrosis factor α induces sustained signaling and a prolonged and unrelenting inflammatory response in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum.* 2013; 65(4): 928-938. doi: 10.1002/art.37853
2. Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol.* 2008; 214(2): 149-160. doi: 10.1002/path.2287
3. Bouwmeester T, Bauch A, Ruffner H, Angrand PO, Bergamini G, Coughton K, et al. A physical and functional map of the human TNF- α /NF- κ B signal transduction pathway. *Nat Cell Biol.* 2004; 6(2): 97-105. doi: 10.1038/ncb1086
4. Yang S, Wang J, Brand DD, Zheng SG. Role of TNF-TNF receptor 2 signal in regulatory T cells and its therapeutic implications. *Front Immunol.* 2018; 9: 784. doi: 10.3389/fimmu.2018.00784
5. Probert L. TNF and its receptors in the CNS: The essential, the desirable and the deleterious effects. *Neurosci.* 2015; 302: 2-22. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.06.038
6. Medler J, Wajant H. Tumor necrosis factor receptor-2 (TNFR2): An overview of an emerging drug target. *Expert Opin Ther Targets.* 2019; 23(4): 295-307. doi: 10.1080/14728222.2019.1586886
7. Brenner D, Blaser H, Mak TW. Regulation of tumour necrosis factor signalling: Live or let die. *Nat Rev Immunol.* 2015; 15(6): 362-374. doi: 10.1038/nri3834
8. Fischer R, Kontermann RE, Pfizenmaier K. Selective targeting of TNF receptors as a novel therapeutic approach. *Front Cell Dev Biol.* 2020; 8: 401. doi: 10.3389/fcell.2020.00401
9. Gaudal N, Kaas-Hansen BS, Guski L, Hubeck-Gaudal T, Welton NJ, Jürgens G. Different original and biosimilar TNF inhibitors similarly reduce joint destruction in rheumatoid arthritis – A network meta-analysis of 36 randomized controlled trials. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(18): 4350. doi: 10.3390/ijms20184350
10. Firestein GS, Zvaifler NJ. How important are T cells in chronic rheumatoid synovitis? *Arthritis Rheum.* 1990; 33(6): 768-773. doi: 10.1002/art.1780330602
11. Sennikov SV, Alshevskaya AA, Zhukova J, Belomestnova I, Karaulov AV, Lopatnikova JA. Expression density of receptors as a potent regulator of cell function and property in health and pathology. *Int Arch Allergy Immunol.* 2019; 178(2): 182-191. doi: 10.1159/000494387
12. Lutz MB, Schnare M, Menges M, Rössner S, Rölinghoff M, Schuler G, et al. Differential functions of IL-4 receptor types I and II for dendritic cell maturation and IL-12 production and their dependency on GM-CSF. *J Immunol.* 2002; 169(7): 3574-3580. doi: 10.4049/jimmunol.169.7.3574
13. Yang P, Qian FY, Zhang MF, Xu AL, Wang X, Jiang BP, Zhou LL. Th17 cell pathogenicity and plasticity in rheumatoid arthritis. *J Leukoc Biol.* 2019; 106(6): 1233-1240. doi: 10.1002/JLB.4RU0619-197R
14. Zhang F, Wei K, Slowikowski K, Fonseka CY, Rao DA, Kelly S, et al. Defining inflammatory cell states in rheumatoid arthritis joint synovial tissues by integrating single-cell transcriptomics and mass cytometry. *Nat Immunol.* 2019; 20(7): 928-942. doi: 10.1038/s41590-019-0378-1
15. Pala O, Diaz A, Blomberg BB, Frasca D. B lymphocytes in rheumatoid arthritis and the effects of anti-TNF- α agents on B lymphocytes: A review of the literature. *Clin Ther.* 2018; 40(6): 1034-1045. doi: 10.1016/j.clinthera.2018.04.016
16. Mateen S, Zafar A, Moin S, Khan AQ, Zubair S. Understanding the role of cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta.* 2016; 455: 161-171. doi: 10.1016/j.cca.2016.02.010
17. Rana AK, Li Y, Dang Q, Yang F. Monocytes in rheumatoid arthritis: Circulating precursors of macrophages and osteoclasts and, their heterogeneity and plasticity role in RA pathogenesis. *Int Immunopharmacol.* 2018; 65: 348-359. doi: 10.1016/j.intimp.2018.10.016
18. Malemud CJ. Defective T-cell apoptosis and T-regulatory cell dysfunction in rheumatoid arthritis. *Cells.* 2018; 7(12): 223. doi: 10.3390/cells7120223
19. Cribbs AP, Kennedy A, Penn H, Amjadi P, Green P, Read JE, et al. Methotrexate restores regulatory T cell function through demethylation of the FoxP3 upstream enhancer in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2015; 67(5): 1182-1192. doi: 10.1002/art.39031
20. Rao DA, Gurish MF, Marshall JL, Slowikowski K, Fonseka CY, Liu Y, et al. Pathologically expanded peripheral T helper cell subset drives B cells in rheumatoid arthritis. *Nature.* 2017; 542(7639): 110-114. doi: 10.1038/nature20810
21. Luu VP, Vazquez MI, Zlotnik A. B cells participate in tolerance and autoimmunity through cytokine production. *Autoimmunity.* 2014; 47(1): 1-12. doi: 10.3109/08916934.2013.856006
22. Taylor SA, Assis DN, Mack CL. The contribution of B cells in autoimmune liver diseases. *Semin Liver Dis.* 2019; 39(4): 422-431. doi: 10.1055/s-0039-1688751
23. Alshevskaya A, Koneva O, Belomestnova I, Lopatnikova J, Evsegneeva I, Zhukova J, et al. Ligand-regulated expression of TNF receptors 1 and 2 determines receptor-mediated functional responses. *Int Arch Allergy Immunol.* 2021; 182(11): 1077-1088. doi: 10.1159/000516352

Сведения об авторах

Альшеевская Алина Анатольевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: alkkina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7307-4524>

Жукова Юлия Владимировна – кандидат медицинских наук, лаборант-исследователь, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: zhukova1982@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2287-0918>

Лопатникова Юлия Анатольевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: lopantikova_j_a@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0089-5054>

Киреев Федор Дмитриевич – младший научный сотрудник, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: f.kireev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4735-7579>

Шкаруба Надежда Сергеевна – кандидат медицинских наук, врач-ревматолог, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: sen-nadezhda@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7676-6166>

Чумасова Оксана Александровна – кандидат медицинских наук, врач-ревматолог, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: chumoks@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3797-6392>

Шевченко Юлия Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: shevcen@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8773-0599>

Ильина Надежда Александровна – врач-ревматолог, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: nadya5481@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2766-8284>

Сизиков Алексей Эдуардович – кандидат медицинских наук, заведующий отделением ревматологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: depaidici@online.nsk.su, <https://orcid.org/0000-0002-7213-7482>

Сенников Сергей Витальевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: sennikovsv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7366-7768>

Information about the authors

Alina A. Alshevskaya – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: alkkina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7307-4524>

Julia V. Zhukova – Cand. Sc. (Med.), Clinical Research Assistant, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: zhukova1982@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2287-0918>

Julia A. Lopatnikova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: lopantikova_j_a@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0089-5054>

Fedor D. Kireev – Junior Research Officer, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: f.kireev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4735-7579>

Nadezhda S. Shkaruba – Cand. Sc. (Med.), Rheumatologist, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: sen-nadezhda@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7676-6166>

Oksana A. Chumasova – Cand. Sc. (Med.), Rheumatologist, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: chumoks@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3797-6392>

Julia A. Shevchenko – Cand. Sc. (Biol.), senior researcher, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: shevcen@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8773-0599>

Nadezhda A. Ilina – Rheumatologist, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: nadya5481@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2766-8284>

Aleksey E. Sizikov – Cand. Sc. (Med.), Head of the Rheumatology Department, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: depaidici@online.nsk.su, <https://orcid.org/0000-0002-7213-7482>

Sergey V. Sennikov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Molecular Immunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: sennikovsv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7366-7768>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА НАИВНЫХ CD4⁺T-ЛИМФОЦИТОВ И CD4⁺T-КЛЕТОК ПАМЯТИ В ПОКОЕ И ПРИ ПРОЛИФЕРАЦИИ

Власова В.В.¹,
Сайдакова Е.В.^{1,2},
Королевская Л.Б.¹,
Шмагель Н.Г.¹,
Шмагель К.В.¹

¹ Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН –
филиал ФГБУН «Пермский федеральный
исследовательский центр» УрО РАН
(614081, г. Пермь, ул. Голева, 13, Россия)

² ФГАОУ ВО «Пермский государственный
национальный исследовательский
университет» (614068, г. Пермь,
ул. Букирева, 15, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Власова Виолетта Викторовна,
e-mail: violetbaudelaire73@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Пролиферация CD4⁺T-клеток памяти является основой ускоренного иммунного ответа при повторной стимуляции. Свойства CD4⁺T-клеток памяти, позволяющие им делиться быстрее наивных CD4⁺T-лимфоцитов, остаются малоизвестными. Пролиферативный потенциал клеток в значительной степени определяется состоянием их метаболизма. Сведения о метаболических особенностях пролиферирующих CD4⁺T-лимфоцитов памяти остаются ограниченными.

Цель исследования. Сравнить особенности метаболизма наивных CD4⁺T-лимфоцитов и CD4⁺T-клеток памяти в состоянии покоя и пролиферации.

Методы. Мононуклеарные клетки периферической крови анализировали методом проточной цитофлуориметрии. Пролиферирующие клетки идентифицировали по экспрессии CD71. Поглощение глюкозы и жирных кислот клетками оценивали с использованием флуоресцентных аналогов глюкозы (2-NBDG) и пальмитата (BODIPY-FL-C16) соответственно. Экспрессию транспортера глутамин анализировали, окрашивая клетки анти-ASCT2 антителами. Массу и заряд митохондрий определяли с использованием MitoTracker Green и MitoTracker Orange соответственно.

Результаты. В состоянии покоя CD4⁺T-клетки памяти потребляли больше глюкозы и пальмитата, чем наивные CD4⁺T-лимфоциты ($p < 0,001$). При переходе к пролиферации уровень потребления данных субстратов в обеих субпопуляциях усиливался ($p < 0,001$). Делящиеся наивные CD4⁺T-лимфоциты превосходили клетки памяти по поглощению глюкозы и пальмитата ($p < 0,001$). При переходе к пролиферации возросла масса митохондрий в наивных CD4⁺T-лимфоцитах ($p < 0,001$) и клетках памяти ($p < 0,05$). В наивных CD4⁺T-лимфоцитах, но не в клетках памяти увеличение массы органелл сопровождалось ростом заряда их мембраны ($p < 0,001$).

Заключение. В CD4⁺T-лимфоцитах памяти изменение метаболизма при пролиферации носит умеренный характер и в малой степени влияет на активность митохондрий. Пониженные биоэнергетические затраты могут способствовать ускоренной пролиферации CD4⁺T-клеток памяти при вторичном иммунном ответе.

Ключевые слова: CD4⁺T-лимфоциты, T-клетки памяти, наивные T-клетки, глюкоза, жирные кислоты, глутамин, митохондрии, пролиферация

Для цитирования: Власова В.В., Сайдакова Е.В., Королевская Л.Б., Шмагель Н.Г., Шмагель К.В. Особенности метаболизма наивных CD4⁺T-лимфоцитов и CD4⁺T-клеток памяти в покое и при пролиферации. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 167-178. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.18

Статья поступила: 02.06.2022

Статья принята: 13.09.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

METABOLIC FEATURES OF NAIVE AND MEMORY CD4⁺T CELLS IN QUIESCENCE AND DURING PROLIFERATION

Vlasova V.V.¹,
Saidakova E.V.^{1,2},
Korolevskaya L.B.¹,
Shmagel N.G.¹,
Shmagel K.V.¹

¹ Institute of Ecology and Genetics
of Microorganisms, Perm Federal
Research Center of the Ural Branch
of the Russian Academy of Sciences
(Goleva str. 13, Perm 614081,
Russian Federation)

² Perm State University (Bukireva str.
15, Perm 614068, Russian Federation)

Corresponding author:

Violetta V. Vlasova,
e-mail: violetbaudelaire73@gmail.com

ABSTRACT

Background. Memory CD4⁺T cells proliferation is the basis for accelerated secondary immune response. The characteristics of memory CD4⁺T cells providing their faster division compared to naive CD4⁺T lymphocytes are poorly understood. T cells proliferative ability is determined by their metabolism. The metabolic features of proliferating memory CD4⁺T cells remain elusive.

The aim. To compare the metabolic features of naive and memory CD4⁺T cells in quiescence and during proliferation.

Methods. Peripheral blood mononuclear cells were analyzed using flow cytometry. Dividing cells were identified by CD71 expression. Cellular glucose and fatty acid uptake was assessed using fluorescent glucose (2-NBDG) and palmitate (BODIPY-FL-C16) analogs, respectively. Glutamine transporter expression was analyzed by staining the cells with anti-ASCT2 antibodies. Mitochondrial mass and membrane potential were measured using MitoTracker Green and MitoTracker Orange, respectively.

Results. Quiescent memory CD4⁺T cells exhibited elevated levels of glucose and palmitate uptake when compared to naive CD4⁺T lymphocytes ($p < 0.001$). Both subsets had increased substrate consumption when proceeding to proliferation ($p < 0.001$). When dividing, naive CD4⁺T cells consumed more glucose and palmitate than memory CD4⁺T cell ($p < 0.001$). Proliferation caused an increase in mitochondrial mass in naive ($p < 0.001$) and memory CD4⁺T lymphocytes ($p < 0.05$). In memory CD4⁺T cells, unlike naive CD4⁺T lymphocytes, an increase in mitochondrial mass wasn't accompanied by an increase in membrane potential.

Conclusion. In memory CD4⁺T cells, compared to naive CD4⁺T lymphocytes, the metabolic change induced by proliferation is moderate and affects the mitochondrial activity to a lesser extent. Lower bioenergetic expenses of memory CD4⁺T cells can contribute to their rapid proliferation during secondary immune response.

Key words: CD4⁺ T lymphocytes, memory T cells, naive T cells, glucose, fatty acids, glutamine, mitochondria, proliferation

Received: 02.06.2022

Accepted: 13.09.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Vlasova V.V., Saidakova E.V., Korolevskaya L.B., Shmagel N.G., Shmagel K.V. Metabolic features of naive and memory CD4⁺T cells in quiescence and during proliferation. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 167-178. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.18

ОБОСНОВАНИЕ

Пролиферация Т-лимфоцитов играет ключевую роль в адаптивном иммунитете. При проникновении антигена в организм число специфических к нему клеток слишком мало для реализации эффективного иммунного ответа [1]. Лимфоциты, распознавшие презентированный им чужеродный пептид, преодолевают данное ограничение путём активного деления [2]. За пролиферацией лимфоцитов следует фаза контракции, в результате которой основная часть антигенспецифических клеток погибает, оставляя немногочисленный пул долгоживущих клеток памяти. Такие лимфоциты имеют низкий порог активации и способны к ускоренному делению при повторном взаимодействии с чужеродным пептидом [3]. Активная пролиферация клеток памяти при вторичном иммунном ответе является одним из важнейших свойств адаптивной иммунной системы и лежит в основе создания вакцин.

Деление клетки тесно связано с изменением её метаболизма. Так, при пролиферации большинство клеток переключаются на «аэробный гликолиз», характеризующийся формированием лактата из пировиноградной кислоты в присутствии кислорода [4]. Активация данного метаболического пути способствует образованию субстратов для биосинтеза липидов, аминокислот, гексозаминов и нуклеотидов, необходимых для продуктивного деления [5]. Переход к аэробному гликолизу в делящихся клетках сопровождается повышением поглощения глюкозы [4]. Большинство пролиферирующих клеток также увеличивают потребление глутаминовой кислоты, являющейся основным источником азота при *de novo* синтезе нуклеотидов [6]. Регуляторные CD4⁺Т-лимфоциты усиливают транспорт экзогенных жирных кислот, участвующих в биосинтезе липидов [7]. Кроме того, в делящихся клетках усиливается функция митохондрий [8]. Данные органеллы играют важную роль в биосинтезе аминокислот и нуклеотидов [9], а также в регуляции содержания циклинов D1, E и B1 при прогрессии делящейся клетки через различные фазы клеточного цикла [10, 11]. Важно отметить, что протекающие метаболические изменения имеют комплексный характер и зависят от типа клеток, вступающих в пролиферацию.

CD4⁺Т-лимфоциты являются основными регуляторами иммунного ответа: участвуют в активации макрофагов [12] и CD8⁺Т-лимфоцитов [13], экспансии В-клеток и переключении классов иммуноглобулинов [14]. Кроме того, CD4⁺Т-лимфоциты продуцируют разнообразные цитокины и хемокины [15], а также подавляют активность клеток иммунной системы [16]. Метаболизм CD4⁺Т-лимфоцитов динамичен и неразрывно связан с их функциональным состоянием [17], что позволяет управлять функциями CD4⁺Т-клеток путём регуляции их обменных процессов. Так, ингибиторы ферментов, участвующих в окислении жирных кислот, снижают супрессорную функцию регуляторных CD4⁺Т-клеток, в частности, их способность подавлять пролиферацию CD8⁺Т-лимфоцитов [18]. Возможность регуляции деления CD4⁺Т-клеток путём изменения их метаболизма может иметь существенный терапевтический потенциал для борьбы с аутоиммунными и

инфекционными заболеваниями, а также для повышения эффективности вакцинации. При этом немного известно о том, какие обменные процессы характерны для пролиферирующих CD4⁺Т-лимфоцитов в здоровом организме.

Результаты современных исследований позволили установить некоторые закономерности изменения обменных процессов при переходе покоящихся наивных CD4⁺Т-клеток к делению [19, 20]. Первое исследование, посвящённое особенностям обменных процессов активированных CD4⁺Т-клеток памяти, было опубликовано в 2019 г. [21]. Авторы показали, что в CD4⁺Т-лимфоцитах памяти стимуляция Т-клеточного рецептора приводит к более слабому повышению уровня аэробного гликолиза, чем в наивных клетках. Кроме того, в отличие от наивных CD4⁺Т-лимфоцитов, активация клеток памяти не сопровождалась увеличением интенсивности окислительного фосфорилирования. Тем не менее, результаты другого исследования [22] не обнаружили подобных отличий между субпопуляциями. В целом представленные на текущий момент сведения немногочисленны и отчасти противоречивы, а проведённые исследования ограничиваются системами *in vitro*. Вопрос о том, чем метаболизм пролиферирующих CD4⁺Т-клеток памяти отличается от такового наивных клеток, требует дальнейшего изучения.

Целью настоящей работы была оценка метаболических характеристик покоящихся и пролиферирующих наивных CD4⁺Т-лимфоцитов и CD4⁺Т-клеток памяти здоровых людей.

МЕТОДЫ

Участники исследования. План исследования был утверждён этическим комитетом (рег. № IRB00008964). Были обследованы относительно здоровые добровольцы ($n = 22$), каждый из которых предоставил письменное информированное согласие на участие в исследовании. Критерием включения в исследование являлось отсутствие: признаков респираторной инфекции в течение 14 дней до забора крови; поверхностного антигена вируса гепатита В и антител к вирусам гепатита С и иммунодефицита человека в периферической крови; болезней печени, почек, сердечно-сосудистой системы. Средний возраст обследованных добровольцев составил 42 года (34–50 лет). Доля женщин среди участников исследования составила 50 %.

Получение биоматериала. Забор крови осуществлялся натошак из локтевой вены в пробирки типа «Vacutainer», содержащие этилендиаминтетрауксусную кислоту. Мононуклеарные клетки выделяли путём центрифугирования в градиенте плотности Диаколл (1,077 г/мл; Диаэм, Россия). Образцы подвергали контролируемому замораживанию до –80 °С в течение суток в среде, содержащей 90 % инактивированной теплом эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) (Biowest, Колумбия) и 10 % диметилсульфоксида (AppliChem, Германия), и помещали в жидкий азот для длительного хранения. Перед проведением исследования клетки размораживали при +37 °С, отмывали в 10 мл полной питательной среды (10 % ЭТС, 100 ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл

стрептомицина (Sigma, США) в RPMI-1640, затем в 10 мл фосфатно-солевого буферного раствора Дульбекко (DPBS, Dulbecco's phosphate buffered saline; Gibco, США).

Проточная цитометрия. Анализ мононуклеарных клеток периферической крови проводили на проточных цитофлюориметрах Fortessa (Becton Dickinson, США) и CytoFLEX S (Beckman Coulter, США). Жизнеспособные клетки выделяли по отсутствию окрашивания витальным красителем LIVE/DEAD® Fixable Aqua Dead Cell Stain

Kit (Invitrogen, США) или Zombie UV Fixable Viability Kit (Biolegend, США). При определении CD4⁺T-лимфоцитов и оценке их субпопуляционного состава использовали анти-CD3-AF700 (Becton Dickinson, США), анти-CD4-Qdot605, анти-CD45R0-APC-eFluor780 (Invitrogen, США), анти-CD3-PE-Dazzle594, анти-CD4-PE-Fire780 и анти-CD45RA-BV650 (Biolegend, США) антитела. Определяли наивные CD4⁺T-клетки (CD3⁺CD4⁺CD45RA⁺/CD3⁺CD4⁺CD45R0⁻) и клетки памяти (CD3⁺CD4⁺CD45RA⁻/CD3⁺CD4⁺CD45R0⁺; рис. 1).

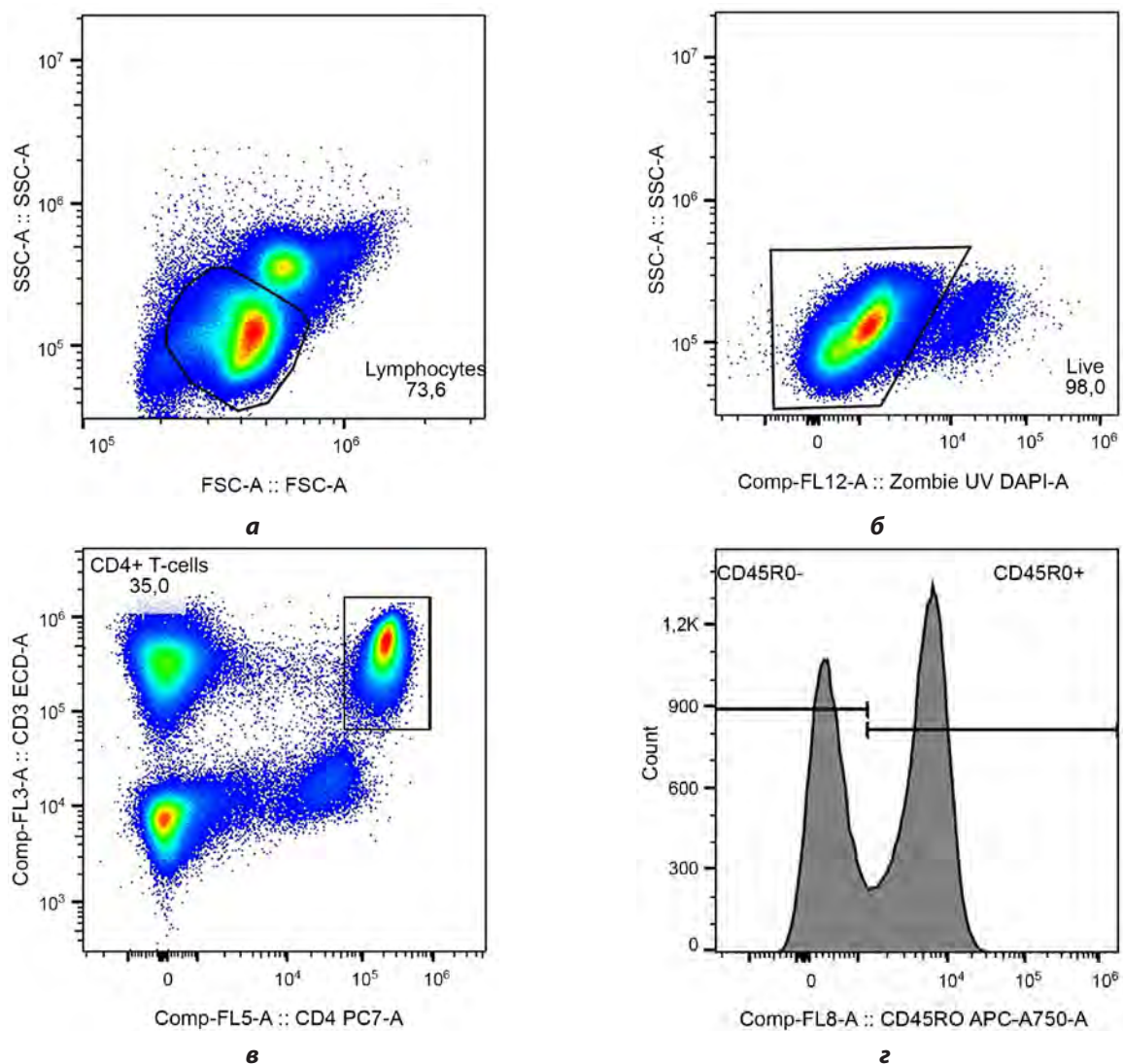


РИС. 1.

Логика гейтирования мононуклеарных клеток периферической крови при определении субпопуляционного состава CD4⁺T-лимфоцитов: **а** – гейтирование лимфоцитов по параметрам светорассеяния (Lymphocytes); **б** – выделение жизнеспособных клеток (Live); **в** – гейтирование CD4⁺T-лимфоцитов (CD4⁺ T cells); **г** – определение наивных (CD45R0⁻) CD4⁺T-клеток и клеток памяти (CD45R0⁺). По оси абсцисс: **а** – интенсивность прямого светорассеяния (FSC-A); **б, в, г** – интенсивность флуоресценции клеток, окрашенных витальным красителем Zombie UV, анти-CD4 и анти-CD45R0 антителами соответственно. По оси ординат: **а, б** – интенсивность бокового светорассеяния (SSC-A); **в** – интенсивность флуоресценции клеток, окрашенных анти-CD3 антителами; **г** – число событий

FIG. 1.

The gating strategy used to identify CD4⁺ T cell subsets in peripheral blood mononuclear cells: **a** – gating of lymphocytes based on forward and side scatter (Lymphocytes); **б** – gating of viable cells (Live); **в** – gating of CD4⁺ T cells; **г** – gating of naive (CD45R0⁻) and memory (CD45R0⁺) CD4⁺ T cells. The abscissa axis: **a** – fluorescence intensity for forward scatter (FSC-A); **б, в, г** – fluorescence intensity of lymphocytes stained with Zombie UV vital dye, anti-CD4 antibodies or anti-CD45R0 antibodies, respectively. The ordinate axis: **а, б** – fluorescence intensity for side scatter (SSC-A); **в** – fluorescence intensity of lymphocytes stained with anti-CD3 antibodies; **г** – events count

Анализ цитофлуориметрических данных осуществляли с применением программы FlowJo v. 10.0 (FlowJo LLC, США).

Определение пролиферирующих клеток. Применение функциональных тестов для исследования метаболизма CD4⁺T-лимфоцитов исключает возможность использования таких широко распространённых маркеров пролиферации, как Ki-67 и PCNA (proliferating cell nuclear antigen), требующих фиксации и пермеабиллизации клеток на этапе пробоподготовки. Ранее в культуре живых CD4⁺T-клеток S.A. Younes и соавт. показали, что экспрессия рецептора трансферрина 1 (CD71) на их поверхности прямо связана с содержанием белка Ki-67 в ядрах [23]. Таким образом, CD71 может применяться в качестве альтернативы Ki-67 при идентификации пролиферирующих CD4⁺T-лимфоцитов в нагрузочных тестах. В настоящем исследовании для определения делящихся CD4⁺T-клеток использовались анти-CD71-BV421 (Becton Dickinson, США) и анти-CD71-AlexaFluor700 (Invitrogen, США) антитела.

Измерение потребления глюкозы. Клетки, окрашенные поверхностными антителами и витальным красителем Zombie UV, инкубировали в среде, содержащей 80 мкМ 2-NBDG (Abcam, Великобритания) при +37°C в течение 15 мин. Затем двукратно вносили DPBS, содержащий 1 % бычьего сывороточного альбумина (Bovine Serum Albumin – BSA; Sigma-Aldrich, США), и осаждали клетки центрифугированием (1000g, 3 мин). Образцы ресуспендировали в 100 мкл DPBS и инкубировали в течение 5 мин при температуре +4°C перед цитометрическим анализом.

Измерение потребления жирных кислот. К клеткам, окрашенным поверхностными антителами и витальным красителем Zombie UV, вносили раствор 1 % BSA (bovine serum albumin, бычий сывороточный альбумин) в DPBS, содержащий BODIPY FL C16 (Invitrogen, США) в конечной концентрации 50 нМ. Образцы инкубировали в течение 15 мин при комнатной температуре, затем дважды отмывали центрифугированием (1000 g, 3 мин) в растворе 1 % BSA в DPBS. Перед измерением клетки ресуспендировали в 100 мкл DPBS.

Определение уровня экспрессии транспортера глутамин. Клетки, окрашенные поверхностными антителами и витальным красителем Zombie UV, фиксировали/пермеабиллизировали с использованием набора True-Nuclear Transcription Factor Buffer Set (BioLegend, США), согласно инструкции производителя. Обработанные клетки инкубировали в 100 мкл пермеабиллизующего буфера, содержащего первичные анти-ASCT2 антитела (Abcam, Великобритания), в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем образцы окрашивали вторичными анти-IgG-AlexaFluor405 антителами (Abcam, Великобритания) в течение 30 мин при комнатной температуре. В пробы вносили раствор 1 % BSA в DPBS, центрифугировали образцы (400 g, 5 мин) и ресуспендировали клетки в 100 мкл DPBS перед измерением флуоресценции.

Оценка массы и трансмембранного потенциала митохондрий. В образцы клеток вносили митохондриальные красители MitoTracker™ Green FM и MitoTracker™

Orange CM-H₂TMRos (Invitrogen, США) в конечных концентрациях 25 нМ и 500 нМ соответственно. После инкубирования при +37 °C в течение 30 мин клетки осаждали центрифугированием (1000 g, 3 мин) и ресуспендировали в DPBS, содержащем 2 % ЭТС. Далее в образцы вносили поверхностные фенотипические антитела и витальный краситель Aqua Dead Cell Stain и инкубировали в течение 20 мин при комнатной температуре. Затем клетки осаждали центрифугированием и ресуспендировали в растворе 2 % ЭТС в DPBS для последующего измерения. Изменение средней интенсивности флуоресценции (ΔMFI) митохондриальных красителей в пролиферирующих клетках рассчитывали по формуле:

$$\Delta MFI = \frac{MFI(CD71^+) \cdot 100\%}{MFI(CD71^-)} - 100\%$$

где: CD71⁺ – делящиеся CD4⁺T-лимфоциты; CD71[–] – покоящиеся CD4⁺T-клетки.

Статистическая обработка данных. В выборках рассчитывали медиану, интерквартильный размах и 10–90%-е интервалы. Статистическую значимость различий между группами устанавливали с помощью U-критерия Манна – Уитни и W-критерия Уилкоксона. Статистические расчёты и построение графиков осуществляли с использованием программного обеспечения Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Субпопуляционный состав CD4⁺T-лимфоцитов.

Оценка относительного и абсолютного числа CD4⁺T-лимфоцитов среди наивных клеток и клеток памяти не выявила существенных отличий между субпопуляциями (рис. 2). Однако доля CD71-позитивных элементов среди CD4⁺T-клеток памяти была значительно выше, чем среди наивных клеток ($p < 0,001$).

Потребление глюкозы. Установлено, что в покое CD4⁺T-лимфоциты активно потребляют глюкозу. Доля клеток, поглощающих её флуоресцентный аналог 2-NBDG, в среднем составила 80,6 % (61,7–85,7 %) в общей популяции. Данный показатель был сопоставим в субпопуляциях наивных клеток (79,4 % (48,1–88,0 %)) и клеток памяти (88,8 % (74,3–93,6 %)). В то же время покоящиеся CD4⁺T-лимфоциты памяти при их сравнении с наивными клетками поглощали значительно больше глюкозы, о чём свидетельствовала повышенная средняя интенсивность флуоресценции данных клеток после инкубации в присутствии 2-NBDG ($p < 0,001$; рис. 3а).

При переходе к пролиферации уровень поглощения глюкозы CD4⁺T-клетками существенно возрос ($p < 0,001$; рис. 3б). Более того, наивные CD4⁺T-лимфоциты, характеризующиеся относительно низким потреблением глюкозы в покое, при вступлении в пролиферацию поглощали значительно больше субстрата, чем делящиеся клетки памяти ($p < 0,001$; рис. 3а).

Потребление жирных кислот. Дальнейший анализ показал, что покоящиеся CD4⁺T-лимфоциты используют экзогенные жирные кислоты в качестве одного из метаболических субстратов. Однако доля клеток, потре-

бляющих пальмитиновую кислоту, конъюгированную с BODIPY, составляла лишь 7,3 % (4,5–10,1 %). Относительное количество BODIPY-позитивных элементов в пуле наивных CD4⁺T-лимфоцитов (6,7 % (4,3–9,5 %)) и CD4⁺T-клеток памяти (9,6 % (7,8–11,3 %)) было сопоставимым. Переход к пролиферации также не привёл к увеличению доли CD4⁺T-лимфоцитов, потребляющих пальмитиновую кислоту в исследуемых субпопуляциях.

Оценка интенсивности флуоресценции BODIPY FL C16 показала, что среди покоящихся CD4⁺T-лимфоцитов

клетки памяти поглощают больше пальмитиновой кислоты, чем наивные клетки ($p < 0,001$; рис. 4а). Кроме того, в обеих субпопуляциях BODIPY-позитивных CD4⁺T-клеток потребление жирных кислот усиливалось при переходе к пролиферации ($p < 0,001$; рис. 4б). Как и в случае с глюкозой, делящиеся наивные CD4⁺T-лимфоциты, несмотря на относительно низкий уровень поглощения субстрата в покое, потребляли пальмитиновую кислоту активнее, чем пролиферирующие клетки памяти ($p < 0,001$; рис. 4а).

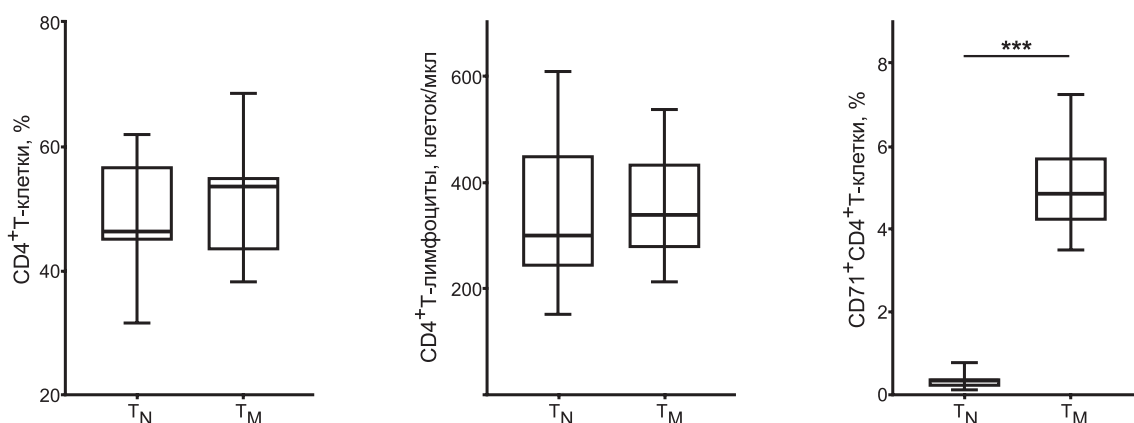


РИС. 2.

Размер субпопуляций CD4⁺T-лимфоцитов и доля пролиферирующих элементов среди наивных CD4⁺T-клеток и клеток памяти: T_N – наивные клетки; T_M – клетки памяти; *** – $p < 0,001$ (U-критерий Манна – Уитни). Представлены медианы (горизонтальные линии), интерквартильные размахи (прямоугольники) и 10–90%-е интервалы (вертикальные отрезки)

FIG. 2.

The size of naive and memory CD4⁺T lymphocyte subsets and the frequency of proliferating CD4⁺T cells: T_N – naive CD4⁺T cells; T_M – memory CD4⁺T cells; *** – $p < 0,001$ (Mann – Whitney U-test). The data is shown as medians (horizontal lines), interquartile ranges (boxes) and 10–90% intervals (whiskers)

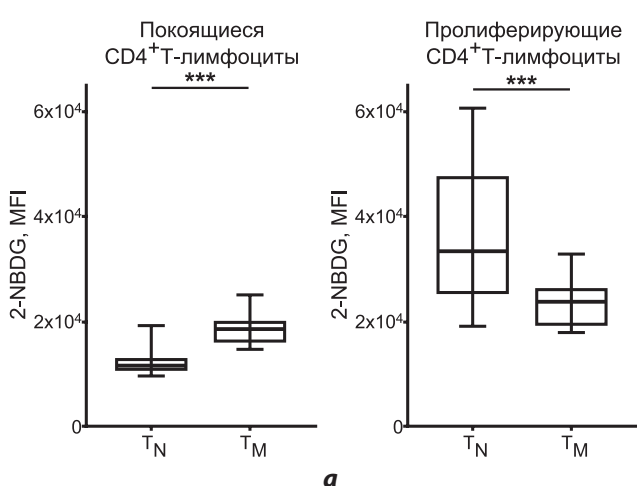


РИС. 3.

Потребление глюкозы наивными CD4⁺T-лимфоцитами и CD4⁺T-клетками памяти: **а** – средняя интенсивность флуоресценции (MFI) 2-NBDG в наивных CD4⁺T-лимфоцитах (T_N) и CD4⁺T-клетках памяти (T_M). Представлены медианы (горизонтальные линии), интерквартильные размахи (прямоугольники) и 10–90%-е интервалы (вертикальные отрезки); *** – $p < 0,001$ (U-критерий Манна – Уитни). **б** – средняя интенсивность флуоресценции 2-NBDG в покоящихся (CD71[−]) и пролиферирующих (CD71⁺) CD4⁺T-лимфоцитах. Линии соединяют показатели одного донора; *** – $p < 0,001$ (W-критерий Уилкоксона)

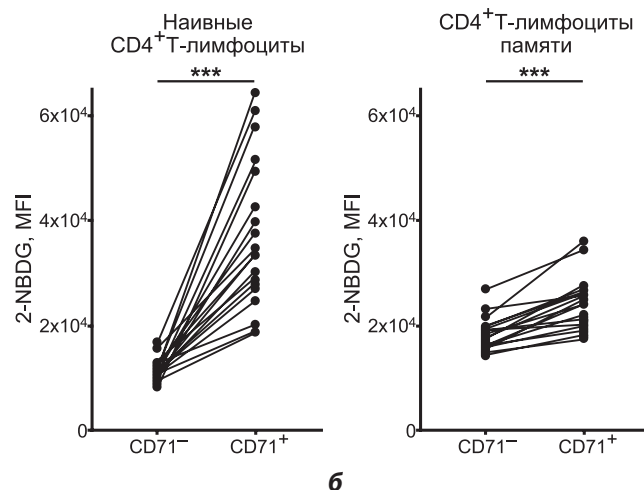


FIG. 3.

The levels of glucose uptake by naive and memory CD4⁺T cells: **а** – mean fluorescence intensity (MFI) of 2-NBDG in naive (T_N) and memory (T_M) CD4⁺T cells. The data is shown as medians (horizontal lines), interquartile ranges (boxes) and 10–90% intervals (whiskers); *** – $p < 0,001$ (Mann – Whitney U-test). **б** – MFI of 2-NBDG in quiescent (CD71[−]) and cycling (CD71⁺) CD4⁺T cells. The lines connect the values of the same donor; *** – $p < 0,001$ (Wilcoxon W-test)

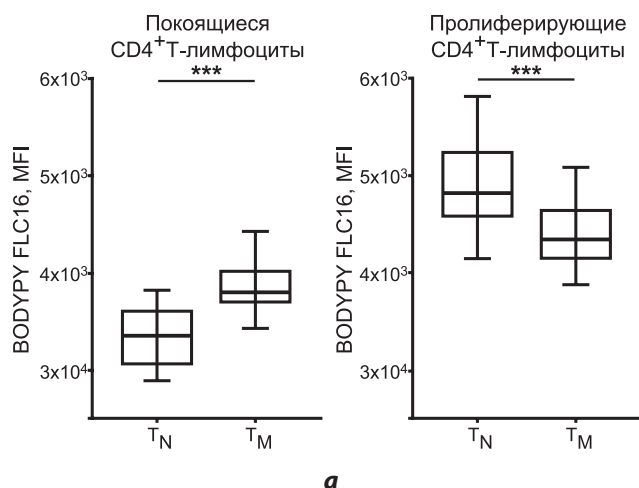


РИС. 4.

Уровень поглощения жирных кислот в субпопуляции BODIPY-позитивных наивных $CD4^+$ T-лимфоцитов и $CD4^+$ T-клеток памяти: **а** – средняя интенсивность флуоресценции (MFI) BODIPY FL C16 в наивных $CD4^+$ T-лимфоцитах (T_N) и $CD4^+$ T-клетках памяти (T_M). Представлены медианы (горизонтальные линии) интерквартильные размахи (прямоугольники) и 10–90%-е интервалы (вертикальные отрезки); *** – $p < 0,001$ (U-критерий Манна – Уитни). **б** – средняя интенсивность флуоресценции BODIPY FL C16 в покое ($CD71^-$) и пролиферирующих ($CD71^+$) $CD4^+$ T-лимфоцитах. Линии соединяют показатели одного донора; *** – $p < 0,001$ (W-критерий Уилкоксона)

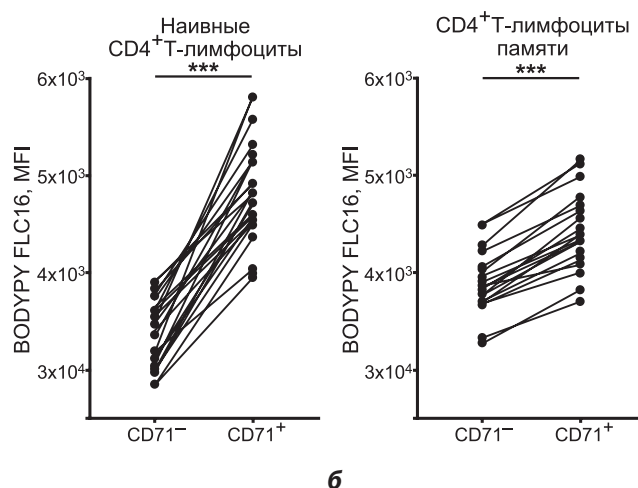


FIG. 4.

The levels of fatty acids uptake in naive and memory $CD4^+$ T cells: **a** – mean fluorescence intensity (MFI) of BODIPY FL C16 in naive (T_N) and memory (T_M) $CD4^+$ T cells. The data is shown as medians (horizontal lines), interquartile ranges (boxes) and 10–90% intervals (whiskers); *** – $p < 0.001$ (Mann – Whitney U-test). **b** – MFI of BODIPY FL C16 in quiescent ($CD71^-$) and cycling ($CD71^+$) $CD4^+$ T cells. The lines connect the values of the same donor; *** – $p < 0,001$ (Wilcoxon W-test)

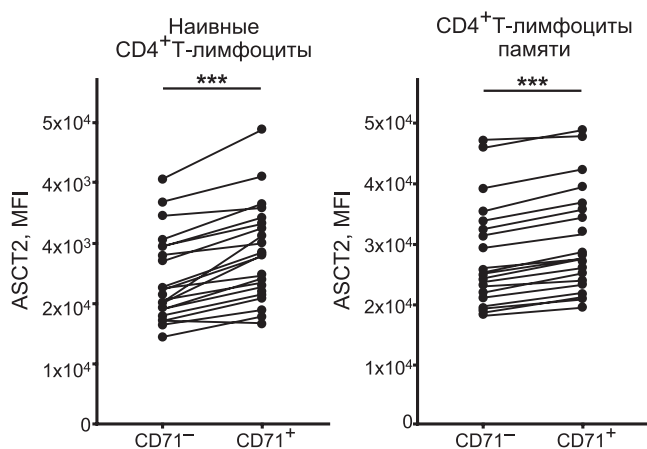


РИС. 5.

Экспрессия транспортера глутаминовой кислоты в покое ($CD71^-$) и пролиферирующих ($CD71^+$) $CD4^+$ T-лимфоцитах: по оси ординат – средняя интенсивность флуоресценции (MFI); линии соединяют показатели одного донора; *** – $p < 0,001$ (W-критерий Уилкоксона)

FIG. 5.

The expression of glutamine transporter (ASCT2) on the surface of quiescent ($CD71^-$) and cycling ($CD71^+$) $CD4^+$ T-cells: the ordinate axis – mean fluorescence intensity (MFI); the lines connect the values of the same donor; *** – $p < 0,001$ (Wilcoxon W-test)

Экспрессия транспортера глутаминовой кислоты. В ходе исследования было установлено, что все

$CD4^+$ T-лимфоциты экспрессируют на поверхности транспортер глутамин ASCT2. При этом в покое наивные $CD4^+$ T-лимфоциты и клетки памяти не отличались по содержанию ASCT2. Вместе с тем при пролиферации плотность экспрессии транспортера увеличивалась в обеих субпопуляциях $CD4^+$ T-лимфоцитов ($p < 0,001$; рис. 5). Сравнение экспрессии ASCT2 в делящихся наивных $CD4^+$ T-клетках и клетках памяти не выявило статистически значимых отличий между субпопуляциями.

Масса и заряд мембраны митохондрий. В обеих субпопуляциях $CD4^+$ T-лимфоцитов при переходе из покоего состояния к пролиферации увеличивается масса митохондрий, что проявляется в усилении яркости свечения клеток, содержащих MitoTracker Green (рис. 6а). При этом рост массы митохондрий в делящихся наивных $CD4^+$ T-клетках и клетках памяти происходил с одинаковой интенсивностью, поскольку коэффициент прироста флуоресценции MitoTracker Green в исследуемых субпопуляциях существенно не отличался (рис. 6в).

Заряд мембраны митохондрий в разных субпопуляциях $CD4^+$ T-лимфоцитов, напротив, изменялся неодинаково. Так, общий заряд митохондрий увеличивался при делении наивных $CD4^+$ T-клеток, но не клеток памяти (рис. 6б). В соответствии с этим коэффициент прироста флуоресценции MitoTracker Orange при переходе покоевых наивных $CD4^+$ T-лимфоцитов к пролиферации значительно превышал аналогичный показатель в клетках памяти (рис. 6г).

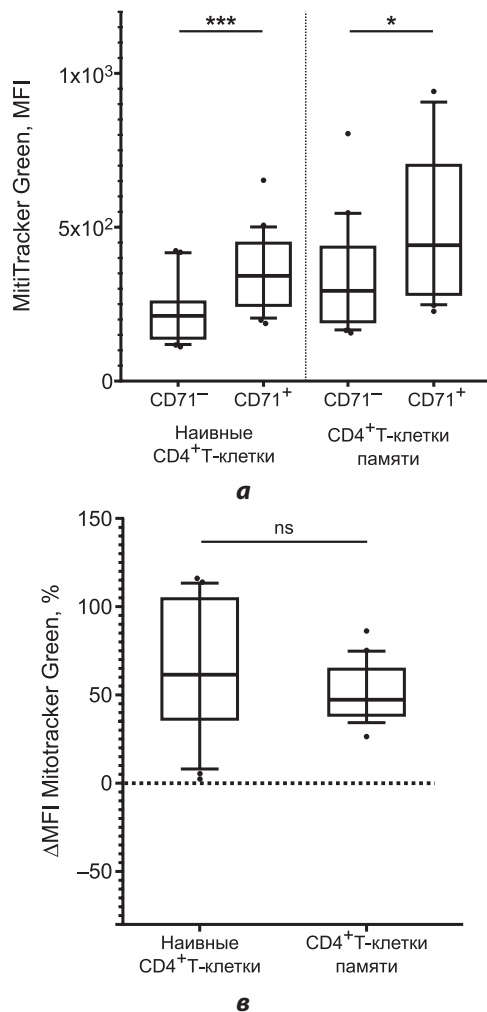


РИС. 6.

Изменение массы и заряда мембраны митохондрий CD4⁺T-лимфоцитов при переходе из покоего состояния к пролиферации: **а, б** – средняя интенсивность флуоресценции (MFI) MitoTracker Green FM и MitoTracker Orange CM-H₂TMRos в покоем (CD71⁻) и пролиферирующем (CD71⁺) CD4⁺T-лимфоцитах; **в, г** – изменение средней интенсивности флуоресценции (ΔMFI) красителей MitoTracker Green FM и MitoTracker Orange CM-H₂TMRos при переходе CD4⁺T-клеток к пролиферации. Представлены медианы (горизонтальные линии), интерквартильные размахи (прямоугольники) и 10–90%-е интервалы (вертикальные отрезки); * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$; ns – нет статистически значимых отличий (U-критерий Манна – Уитни)

В совокупности полученные в настоящей работе данные демонстрируют следующее. Покоящиеся CD4⁺T-клетки памяти характеризуются повышенной метаболической активностью и потребляют значительно больше глюкозы и пальмитиновой кислоты, чем naive клетки в аналогичных условиях. При этом глюкоза поглощается большинством CD4⁺T-лимфоцитов, в то время как доля клеток, захватывающих экзогенные жирные кислоты, в обеих субпопуляциях невелика. Пролиферация CD4⁺T-лимфоцитов сопровождается перестройкой обменных процессов, проявляющейся увеличением

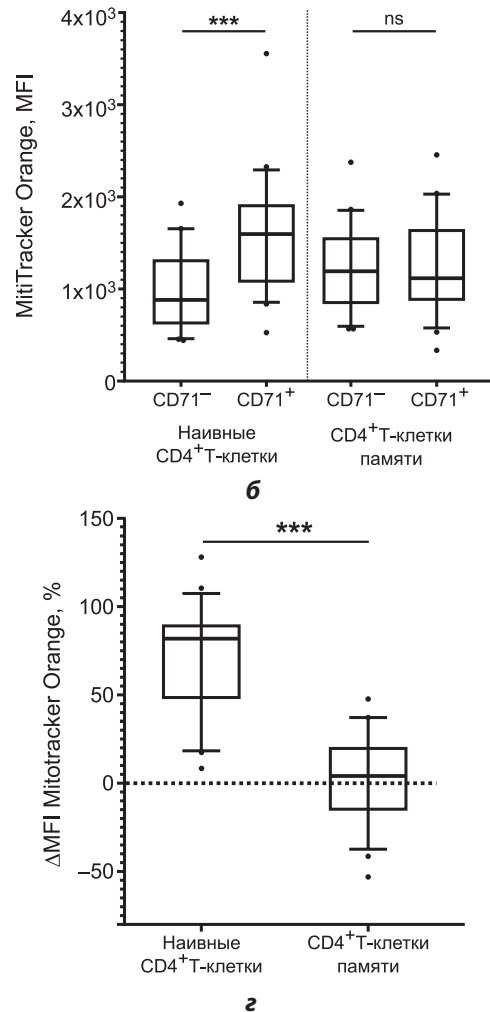


FIG. 6.

The change in mitochondrial mass and mitochondrial membrane potential induced by proliferation of naive and memory CD4⁺T-cells: **a, б** – mean fluorescence intensity (MFI) of MitoTracker Green FM and MitoTracker Orange CM-H₂TMRos in quiescent (CD71⁻) and cycling (CD71⁺) CD4⁺T cells; **в, г** – the change in MFI (ΔMFI) of MitoTracker Green FM and MitoTracker Orange CM-H₂TMRos induced by proliferation. The data is shown as medians (horizontal lines), interquartile ranges (boxes) and 10–90% intervals (whiskers); * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$; ns – not significant (Mann – Whitney U-test)

потребления глюкозы и пальмитата, а также повышением экспрессии транспортера глутамата. В naive CD4⁺T-клетках перестройка метаболизма, связанная с делением, приводит к значительному усилению потребления глюкозы и пальмитиновой кислоты, а также к существенному увеличению суммарного заряда мембраны митохондрий. В то же время изменение метаболизма CD4⁺T-лимфоцитов памяти, вызванное пролиферацией, носит более умеренный характер и значительно не влияет на энергетическую функцию митохондрий. Таким образом, ускоренная пролиферация CD4⁺T-клеток памяти

ти при вторичном иммунном ответе может быть связана с меньшими, в сравнении с наивными клетками, биоэнергетическими затратами.

ОБСУЖДЕНИЕ

Особенностью данной работы является использование нового подхода к исследованию метаболизма живых делящихся CD4⁺T-клеток. Большинство Т-лимфоцитов в периферической крови человека находятся в покое, как показало настоящее исследование: доля пролиферирующих клеток составляет менее 1 % в субпопуляции наивных CD4⁺T-лимфоцитов и около 5 % среди клеток памяти. В связи с этим изучение особенностей функционирования делящихся CD4⁺T-клеток в условиях *ex vivo* требует использования специфических маркеров пролиферации. Наиболее распространённым среди них является белок Ki-67, экспрессируемый в ядрах клеток только в течение активных фаз клеточного цикла. Тем не менее, определение Ki-67 требует фиксации и пермеабелизации образцов, поэтому данный маркер не нашёл широкого применения при изучении метаболизма пролиферирующих CD4⁺T-лимфоцитов. Вместо этого, большинство исследователей стимулировали покоещиеся клетки *in vitro*, чтобы увеличить число делящихся CD4⁺T-лимфоцитов в популяции и исключить необходимость фенотипирования [21, 22]. Исследование, проведённое S.A. Younes и соавт. в 2018 году, показало, что делящиеся клетки в популяции живых CD4⁺T-лимфоцитов можно определять с использованием поверхностных маркеров [23]. Так, мы установили, что наличие белка Ki-67 в ядре пролиферирующих CD4⁺T-клеток связано с экспрессией молекулы CD71 на их поверхности ($r = 0,985$; $p < 0,001$). Используя данный маркер в настоящей работе, мы впервые изучили особенности обменных процессов CD4⁺T-лимфоцитов, пролиферирующих *in vivo*. Кроме того, сочетание CD71 с другими фенотипическими антителами впервые дало возможность исследовать метаболические свойства делящихся наивных CD4⁺T-лимфоцитов и CD4⁺T-клеток памяти одновременно.

Одним из основных результатов проведённого исследования является установление того факта, что при делении CD4⁺T-лимфоциты памяти в сравнении с наивными клетками потребляют меньше глюкозы. Ранее метаболизм глюкозы в наивных CD4⁺T-клетках и клетках памяти сравнивали только в активированных клетках, стимулированных *in vitro* [21]. При этом авторы оценивали продукцию лактата, то есть интенсивность окисления глюкозы в процессе аэробного гликолиза. В результате было установлено, что CD4⁺T-лимфоциты памяти в сравнении с наивными клетками меньше увеличивают активность аэробного гликолиза при стимуляции через Т-клеточный рецептор. Однако существенной разницы между продукцией лактата в активированных наивных CD4⁺T-клетках и клетках памяти установлено не было. Возможно, обнаруженное нами увеличение потребления глюкозы в пролиферирующих наивных CD4⁺T-лимфоцитах *ex vivo* связано с другими метаболическими путями.

Помимо этого, в ходе настоящего исследования было установлено, что небольшая часть CD4⁺T-клеток способна потреблять экзогенные жирные кислоты. В литературе относительно субпопуляционной принадлежности данных клеток нет единого мнения. Ранее было показано, что инкубация активированных CD4⁺T-клеток в среде, содержащей жирные кислоты, приводит к увеличению доли регуляторных CD4⁺T-лимфоцитов в популяции [24]. Этот факт позволяет предположить, что BODIPY-позитивные CD4⁺T-клетки могут относиться к регуляторным Т-лимфоцитам. Тем не менее, I. Pacella и соавт. продемонстрировали, что уровень поглощения флуоресцентного аналога пальмитата в регуляторных и конвенциональных CD4⁺T-лимфоцитах существенно не отличается [25]. Таким образом, роль экзогенных жирных кислот в жизнедеятельности различных субпопуляций CD4⁺T-клеток требует дальнейшего изучения.

Следующим этапом данной работы была оценка изменения состояния митохондрий при переходе CD4⁺T-лимфоцитов из покоящегося состояния к пролиферации. С этой целью мы проанализировали коэффициенты прироста массы и заряда мембраны митохондрий, т. е. проценты изменения средней интенсивности флуоресценции соответствующих красителей MitoTracker Green и MitoTracker Orange CM-H₂TMRos в делящихся CD4⁺T-клетках. Анализ данных показателей позволил установить, что и в наивных CD4⁺T-лимфоцитах, и в CD4⁺T-клетках памяти при пролиферации возрастает масса митохондрий. Вместе с тем, только в наивных элементах увеличение массы сопровождается повышением суммарного заряда мембраны митохондрий, в то время как в популяции CD4⁺T-лимфоцитов памяти заряд мембраны митохондрий в CD71-негативных и CD71-позитивных клетках был сопоставим.

Приведённые выше данные могут иметь два вероятных объяснения. Первое предполагает, что в CD4⁺T-клетках памяти митохондрии не испытывают значительных нагрузок при переходе из покоящегося состояния к пролиферации, в связи с чем их трансмембранный потенциал существенно не изменяется. Однако данная гипотеза кажется маловероятной с учётом важной роли митохондрий в регуляции клеточного цикла [11, 26]. Другим объяснением может служить то, что митохондрии CD4⁺T-лимфоцитов памяти в покоящемся состоянии адаптированы к нагрузкам, связанным с пролиферацией. Ранее было показано, что CD8⁺T-клетки памяти обладают биоэнергетическим преимуществом по отношению к наивным клеткам и отличаются повышенной резервной дыхательной ёмкостью митохондрий [27]. Авторы также установили, что эти особенности обуславливают способность CD8⁺T-лимфоцитов памяти быстрее вступать в иммунный ответ при повторной встрече с антигеном. Полученные нами данные демонстрируют, что схожие адаптации могут быть свойственны, в том числе, CD4⁺T-клеткам памяти.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе настоящего исследования было установлено, что CD4⁺T-лимфоциты памяти, способные быстрее

реагировать на вновь распознанный антиген, обладают рядом метаболических особенностей. При пролиферации такие клетки в меньшей степени усиливают потребление метаболических субстратов и, в отличие от наивных CD4⁺Т-лимфоцитов, не увеличивают заряд мембраны митохондрий. Возможная связь между метаболизмом CD4⁺Т-клеток и эффективностью вторичного иммунного ответа подчёркивает важность дальнейшего изучения обменных процессов CD4⁺Т-лимфоцитов памяти. Настоящая работа является одной из первых в данном направлении и указывает на то, что значительную роль в пролиферации CD4⁺Т-клеток памяти может играть состояние митохондрий.

Полученные данные позволяют предположить, что митохондрии Т-лимфоцитов памяти могут стать перспективной мишенью для разработки новых иммунотерапевтических стратегий. Ранее методы лечения, направленные на регуляцию обменных процессов в Т-клетках, показали свою эффективность при терапии ревматоидного артрита [28], сахарного диабета [29] и аутоиммунного лимфопролиферативного синдрома [30]. Дальнейшие исследования в области метаболизма CD4⁺Т-клеток памяти могут открыть новые перспективы для решения других задач современной иммунологии, в частности – улучшения поствакцинального иммунитета.

Соблюдение этических норм

Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием людей, соответствуют этическим стандартам национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации 1964 г. и её последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из включённых в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Burnet FM. A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection. *CA Cancer J Clin*. 1976; 26(2): 119-121. doi: 10.3322/canjclin.26.2.119
2. Heinzl S, Marchingo JM, Horton MB, Hodgkin PD. The regulation of lymphocyte activation and proliferation. *Curr Opin Immunol*. 2018; 51: 32-38. doi: 10.1016/j.coi.2018.01.002
3. Rogers PR, Dubey C, Swain SL. Qualitative changes accompany memory T cell generation: Faster, more effective responses at lower doses of antigen. *J Immunol*. 2000; 164(5): 2338-2346. doi: 10.4049/jimmunol.164.5.2338
4. Abdel-Haleem AM, Lewis NE, Jamshidi N, Mineta K, Gao X, Gojobori T. The emerging facets of non-cancerous Warburg effect. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017; 8: 279. doi: 10.3389/fendo.2017.00279
5. DeBerardinis RJ, Lum JJ, Hatzivassiliou G, Thompson CB. The biology of cancer: Metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab*. 2008; 7(1): 11-20. doi: 10.1016/j.cmet.2007.10.002
6. Shah AM, Wang Z, Ma J. Glutamine metabolism and its role in immunity, a comprehensive review. *Animals (Basel)*. 2020; 10(2): 326. doi: 10.3390/ani10020326
7. Yao CH, Fowle-Grider R, Mahieu NG, Liu GY, Chen YJ, Wang R, et al. Exogenous fatty acids are the preferred source of membrane lipids in proliferating fibroblasts. *Cell Chem Biol*. 2016; 23(4): 483-493. doi: 10.1016/j.chembiol.2016.03.007
8. Frezza C, Gottlieb E. Mitochondria in cancer: Not just innocent bystanders. *Semin Cancer Biol*. 2009; 19(1): 4-11. doi: 10.1016/j.semcancer.2008.11.008
9. Spinelli JB, Haigis MC. The multifaceted contributions of mitochondria to cellular metabolism. *Nat Cell Biol*. 2018; 20(7): 745-754. doi: 10.1038/s41556-018-0124-1
10. Spurlock B, Tullet J, Hartman JL, Mitra K. Interplay of mitochondrial fission-fusion with cell cycle regulation: Possible impacts on stem cell and organismal aging. *Exp Gerontol*. 2020; 135: 110919. doi: 10.1016/j.exger.2020.110919
11. Xiong W, Jiao Y, Huang W, Ma M, Yu M, Cui Q, et al. Regulation of the cell cycle via mitochondrial gene expression and energy metabolism in HeLa cells. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2012; 44(4): 347-358. doi: 10.1093/abbs/gms006
12. Cantor J, Haskins K. Recruitment and activation of macrophages by pathogenic CD4 T cells in type 1 diabetes: Evidence for involvement of CCR8 and CCL1. *J Immunol*. 2007; 179(9): 5760-5767. doi: 10.4049/jimmunol.179.9.5760
13. Borst J, Ahrends T, Bąbała N, Melief CJM, Kastenmüller W. CD4+ T cell help in cancer immunology and immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2018; 18(10): 635-647. doi: 10.1038/s41577-018-0044-0
14. MacLeod MKL, David A, McKee AS, Crawford F, Kappler JW, Marrack P. Memory CD4 T cells that express CXCR5 provide accelerated help to B cells. *J Immunol*. 2011; 186(5): 2889-2896. doi: 10.4049/jimmunol.1002955
15. Zhu J, Paul WE. CD4 T cells: Fates, functions, and faults. *Blood*. 2008; 112(5): 1557-1569. doi: 10.1182/blood-2008-05-078154
16. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol*. 1995; 155(3): 1151-1164.
17. Buck MD, O'Sullivan D, Pearce EL. T cell metabolism drives immunity. *J Exp Med*. 2015; 212(9): 1345-1360. doi: 10.1084/jem.20151159
18. Beier UH, Angelin A, Akimova T, Wang L, Liu Y, Xiao H, et al. Essential role of mitochondrial energy metabolism in Foxp3+ T-regulatory cell function and allograft survival. *FASEB J*. 2015; 29(6): 2315-2326. doi: 10.1096/fj.14-268409
19. Ricciardi S, Manfrini N, Alfieri R, Calamita P, Crosti MC, Gallo S, et al. The translational machinery of human CD4 + T Cells is poised for activation and controls the switch from quiescence to metabolic remodeling. *Cell Metab*. 2018; 28(6): 895-906.e5. doi: 10.1016/j.cmet.2018.08.009
20. Ron-Harel N, Santos D, Ghergurovich JM, Sage PT, Reddy A, Lovitch SB, et al. Mitochondrial biogenesis and proteome remodeling promote one-carbon metabolism for T cell activation. *Cell Metab*. 2016; 24(1): 104-117. doi: 10.1016/j.cmet.2016.06.007
21. Jones N, Vincent EE, Cronin JG, Panetti S, Chambers M, Holm SR, et al. Akt and STAT5 mediate naïve human CD4+ T-cell

early metabolic response to TCR stimulation. *Nat Commun.* 2019; 10(1): 2042. doi: 10.1038/s41467-019-10023-4

22. Clerc I, Moussa DA, Vahlas Z, Tardito S, Oburoglu L, Hope TJ, et al. Entry of glucose- and glutamine-derived carbons into the citric acid cycle supports early steps of HIV-1 infection in CD4 T cells. *Nat Metab.* 2019; 1(7): 717-730. doi: 10.1038/s42255-019-0084-1

23. Younes SA, Talla A, Pereira Ribeiro S, Saidakova EV, Korolevskaya LB, Shmagel KV, et al. Cycling CD4+ T cells in HIV-infected immune nonresponders have mitochondrial dysfunction. *J Clin Invest.* 2018; 128(11): 5083-5094. doi: 10.1172/JCI120245

24. Michalek RD, Gerriets VA, Jacobs SR, Macintyre AN, MacIver NJ, Mason EF, et al. Cutting edge: Distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4+ T cell subsets. *J Immunol.* 2011; 186(6): 3299-3303. doi: 10.4049/jimmunol.1003613

25. Pacella I, Procaccini C, Focaccetti C, Miacci S, Timperi E, Faicchia D, et al. Fatty acid metabolism complements glycolysis in the selective regulatory T cell expansion during tumor growth. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2018; 115(28): E6546-E6555. doi: 10.1073/pnas.1720113115

26. Mitra K, Wunder C, Roysam B, Lin G, Lippincott-Schwartz J. A hyperfused mitochondrial state achieved at G1-S regulates cyclin E buildup and entry into S phase. *Proc Natl Acad Sci.* 2009; 106(29): 11960-11965. doi: 10.1073/pnas.0904875106

27. van der Windt GJW, O'Sullivan D, Everts B, Huang SCC, Buck MD, Curtis JD, et al. CD8 memory T cells have a bioenergetic advantage that underlies their rapid recall ability. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013; 110(35): 14336-14341. doi: 10.1073/pnas.1221740110

28. Четина Е.В., Демидова Н.В., Маркова Г.А. Метаболические аспекты прогнозирования достижения ремиссии по базальной экспрессии генов в крови у больных ревматоидным артритом при терапии метотрексатом. *Современная ревматология.* 2019; 13(2): 47-54. doi: 10.14412/1996-7012-2019-2-47-54

29. Ширинский И.В., Ширинский В.С. Плейотропные свойства PPAR-α: от экспериментов к клинике. *Медицинская иммунология.* 2021; 23(3): 439-454. doi: 10.15789/1563-0625-PEO-2222

30. Шве́ц О.А., Дерипапа Е.В., Абрамова И.Н., Викторова Е.А., Родина Ю.А., Деордиева Е.А., и др. Эффективность сиролиму́са в терапии аутоиммунного лимфопролиферативного синдрома. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии.* 2018; 17(1): 46-53. doi: 10.24287/1726-1708-2018-17-1-46-53

REFERENCES

1. Burnet FM. A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection. *CA Cancer J Clin.* 1976; 26(2): 119-121. doi: 10.3322/canjclin.26.2.119

2. Heinzel S, Marchingo JM, Horton MB, Hodgkin PD. The regulation of lymphocyte activation and proliferation. *Curr Opin Immunol.* 2018; 51: 32-38. doi: 10.1016/j.coi.2018.01.002

3. Rogers PR, Dubey C, Swain SL. Qualitative changes accompany memory T cell generation: Faster, more effective responses at lower doses of antigen. *J Immunol.* 2000; 164(5): 2338-2346. doi: 10.4049/jimmunol.164.5.2338

4. Abdel-Haleem AM, Lewis NE, Jamshidi N, Mineta K, Gao X, Gojobori T. The emerging facets of non-cancerous Warburg effect. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2017; 8: 279. doi: 10.3389/fendo.2017.00279

5. DeBerardinis RJ, Lum JJ, Hatzivassiliou G, Thompson CB. The biology of cancer: Metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab.* 2008; 7(1): 11-20. doi: 10.1016/j.cmet.2007.10.002

6. Shah AM, Wang Z, Ma J. Glutamine metabolism and its role in immunity, a comprehensive review. *Animals (Basel).* 2020; 10(2): 326. doi: 10.3390/ani10020326

7. Yao CH, Fowle-Grider R, Mahieu NG, Liu GY, Chen YJ, Wang R, et al. Exogenous fatty acids are the preferred source of membrane lipids in proliferating fibroblasts. *Cell Chem Biol.* 2016; 23(4): 483-493. doi: 10.1016/j.chembiol.2016.03.007

8. Frezza C, Gottlieb E. Mitochondria in cancer: Not just innocent bystanders. *Semin Cancer Biol.* 2009; 19(1): 4-11. doi: 10.1016/j.semcancer.2008.11.008

9. Spinelli JB, Haigis MC. The multifaceted contributions of mitochondria to cellular metabolism. *Nat Cell Biol.* 2018; 20(7): 745-754. doi: 10.1038/s41556-018-0124-1

10. Spurlock B, Tullet J, Hartman JL, Mitra K. Interplay of mitochondrial fission-fusion with cell cycle regulation: Possible impacts on stem cell and organismal aging. *Exp Gerontol.* 2020; 135: 110919. doi: 10.1016/j.exger.2020.110919

11. Xiong W, Jiao Y, Huang W, Ma M, Yu M, Cui Q, et al. Regulation of the cell cycle via mitochondrial gene expression and energy metabolism in HeLa cells. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2012; 44(4): 347-358. doi: 10.1093/abbs/gms006

12. Cantor J, Haskins K. Recruitment and activation of macrophages by pathogenic CD4 T cells in type 1 diabetes: Evidence for involvement of CCR8 and CCL1. *J Immunol.* 2007; 179(9): 5760-5767. doi: 10.4049/jimmunol.179.9.5760

13. Borst J, Ahrends T, Bąbała N, Melief CJM, Kastenmüller W. CD4+ T cell help in cancer immunology and immunotherapy. *Nat Rev Immunol.* 2018; 18(10): 635-647. doi: 10.1038/s41577-018-0044-0

14. MacLeod MKL, David A, McKee AS, Crawford F, Kappler JW, Marrack P. Memory CD4 T cells that express CXCR5 provide accelerated help to B cells. *J Immunol.* 2011; 186(5): 2889-2896. doi: 10.4049/jimmunol.1002955

15. Zhu J, Paul WE. CD4 T cells: Fates, functions, and faults. *Blood.* 2008; 112(5): 1557-1569. doi: 10.1182/blood-2008-05-078154

16. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol.* 1995; 155(3): 1151-1164.

17. Buck MD, O'Sullivan D, Pearce EL. T cell metabolism drives immunity. *J Exp Med.* 2015; 212(9): 1345-1360. doi: 10.1084/jem.20151159

18. Beier UH, Angelin A, Akimova T, Wang L, Liu Y, Xiao H, et al. Essential role of mitochondrial energy metabolism in Foxp3+ T-regulatory cell function and allograft survival. *FASEB J.* 2015; 29(6): 2315-2326. doi: 10.1096/fj.14-268409

19. Ricciardi S, Manfrini N, Alferi R, Calamita P, Crosti MC, Gallo S, et al. The translational machinery of human CD4+ T Cells is poised for activation and controls the switch from quiescence to metabolic remodeling. *Cell Metab.* 2018; 28(6): 895-906.e5. doi: 10.1016/j.cmet.2018.08.009

20. Ron-Harel N, Santos D, Ghergurovich JM, Sage PT, Reddy A, Lovitch SB, et al. Mitochondrial biogenesis and proteome remodeling promote one-carbon metabolism for T cell activation. *Cell Metab.* 2016; 24(1): 104-117. doi: 10.1016/j.cmet.2016.06.007

21. Jones N, Vincent EE, Cronin JG, Panetti S, Chambers M, Holm SR, et al. Akt and STAT5 mediate naïve human CD4+ T-cell early metabolic response to TCR stimulation. *Nat Commun.* 2019; 10(1): 2042. doi: 10.1038/s41467-019-10023-4
22. Clerc I, Moussa DA, Vahlas Z, Tardito S, Oburoglu L, Hope TJ, et al. Entry of glucose- and glutamine-derived carbons into the citric acid cycle supports early steps of HIV-1 infection in CD4 T cells. *Nat Metab.* 2019; 1(7): 717-730. doi: 10.1038/s42255-019-0084-1
23. Younes SA, Talla A, Pereira Ribeiro S, Saidakova EV, Korolevskaya LB, Shmagel KV, et al. Cycling CD4+ T cells in HIV-infected immune nonresponders have mitochondrial dysfunction. *J Clin Invest.* 2018; 128(11): 5083-5094. doi: 10.1172/JCI120245
24. Michalek RD, Gerriets VA, Jacobs SR, Macintyre AN, MacIver NJ, Mason EF, et al. Cutting edge: Distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4+ T cell subsets. *J Immunol.* 2011; 186(6): 3299-3303. doi: 10.4049/jimmunol.1003613
25. Pacella I, Procaccini C, Focaccetti C, Miacci S, Timperi E, Faicchia D, et al. Fatty acid metabolism complements glycolysis in the selective regulatory T cell expansion during tumor growth. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018; 115(28): E6546-E6555. doi: 10.1073/pnas.1720113115
26. Mitra K, Wunder C, Roysam B, Lin G, Lippincott-Schwartz J. A hyperfused mitochondrial state achieved at G1-S regulates cyclin E buildup and entry into S phase. *Proc Natl Acad Sci.* 2009; 106(29): 11960-11965. doi: 10.1073/pnas.0904875106
27. van der Windt GJW, O'Sullivan D, Everts B, Huang SCC, Buck MD, Curtis JD, et al. CD8 memory T cells have a bioenergetic advantage that underlies their rapid recall ability. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013; 110(35): 14336-14341. doi: 10.1073/pnas.1221740110
28. Chetina EV, Demidova NV, Markova GA. Metabolic aspects of clinical remission prediction from baseline blood gene expression in patients with rheumatoid arthritis treated with methotrexate. *Modern Rheumatology Journal.* 2019; 13(2): 47-54. (In Russ.). doi: 10.14412/1996-7012-2019-2-47-54
29. Shirinsky IV, Shirinsky VS. Pleiotropic effects of PPAR-α – From benchside to bedside. *Medical Immunology (Russia).* 2021; 23(3): 439-454. (In Russ.). doi: 10.15789/1563-0625-PEO-2222
30. Shvetz OA, Deripapa EV, Abramova IN, Victorova EA, Rodina YuA, Deordieva EA, et al. Sirolimus efficacy in treatment of autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology.* 2018; 17(1): 46-53. (In Russ.). doi: 10.24287/1726-1708-2018-17-1-46-53

Сведения об авторах

Власова Виолетта Викторовна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН, e-mail: violetbaudelaire73@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1656-7277>

Сайдакова Евгения Владимировна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией молекулярной иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН; доцент кафедры микробиологии и иммунологии, ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», e-mail: radimira@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4342-5362>

Королевская Лариса Борисовна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН, e-mail: bioqueen@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9840-7578>

Шмагель Надежда Геннадьевна – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН, e-mail: shmagel_ng@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2763-3620>

Шмагель Константин Владимирович – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН, e-mail: shmagel@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6355-6178>

Information about the authors

Violetta V. Vlasova – Junior Research Officer at the Laboratory of Molecular Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: violetbaudelaire73@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1656-7277>

Evgeniya V. Saidakova – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Molecular Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; Associate Professor at the Department of Microbiology and Immunology, Perm State University, e-mail: radimira@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4342-5362>

Larisa B. Korolevskaya – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: bioqueen@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9840-7578>

Nadezhda G. Shmagel – Dr. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: shmagel_ng@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2763-3620>

Konstantin V. Shmagel – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: shmagel@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6355-6178>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

ПРОДУКЦИЯ ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫХ МОЛЕКУЛ ИНДУЦИРОВАННЫМИ ЭРИТРОБЛАСТАМИ НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

Назаров К.В.,
Перик-Заводский Р.Ю.,
Кузнецова М.С.,
Филиппова Ю.Г.,
Шевченко Ю.А.,
Денисова В.В.,
Силков А.Н.,
Сенников С.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский
институт фундаментальной
и клинической иммунологии»
(630099, г. Новосибирск,
ул. Ядринцевская, 14, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Шевченко Юлия Александровна,
e-mail: shevcen@ngs.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Эритробласты костного мозга продуцируют широкий спектр цитокинов с противоположными биологическими эффектами. Это может быть связано с изменением спектра продукции иммунорегуляторных медиаторов в ходе дифференцировки и небольшими качественными и количественными различиями в спектре продуцируемых цитокинов на каждой стадии дифференцировки, которые могут иметь важное значение для регуляции гемо- и иммунопоэза.

Цель исследования. Изучить спектр продукции медиаторов эритробластами на разных этапах дифференцировки.

Методы. Из CD34+ клеток костного мозга здоровых доноров получали эритробласты в присутствии рекомбинантных цитокинов. Оценку фенотипа проводили с помощью проточной цитометрии по эритроидным (CD45, CD71, CD235a, CD44) и лимфоидным маркерам (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19). Блокировку дифференцировки эритробластов на разных этапах осуществляли с помощью специфических блокирующих моноклональных антител к меланокортиновым рецепторам (MCR, melanocortin receptors) 1-го, 2-го, 5-го типов. Анализ цитокинов в кондиционных средах эритробластов проводили с использованием панели Bio-Plex Pro Human Cytokine 48-Plex Screening Panel (Bio-Rad Laboratories, США). Продукцию цитокинов анализировали с помощью онлайн-инструмента CytokineExplore.

Результаты. Полученные эритробласты по маркеру CD45 делятся на позитивную и негативную популяции, несут маркеры эритроидных клеток CD71, CD235a и не экспрессируют линейные маркеры лимфоидных клеток. При блокировке MCR 1-го типа преобладают полихроматофильные эритробласты, при блокировке MCR 2-го типа – базофильные эритробласты, а при блокировке MCR 5-го типа накапливаются ортохроматофильные эритробласты. По продукции цитокинов показано, что при использовании любого из блокирующих антител мы получаем клетки, отличающиеся качественно и количественно по ряду медиаторов от исходной популяции индуцированных эритробластов.

Заключение. Таким образом, мы показали качественные и количественные различия в продукции медиаторов эритробластами в зависимости от стадии дифференцировки, что может приводить к отличающимся регуляторным эффектам.

Ключевые слова: костный мозг, эритробласты, меланокортиновые рецепторы, цитокины, дифференцировка, иммуномодулирующие функции

Для цитирования: Назаров К.В., Перик-Заводский Р.Ю., Кузнецова М.С., Филиппова Ю.Г., Шевченко Ю.А., Денисова В.В., Силков А.Н., Сенников С.В. Продукция иммунорегуляторных молекул индуцированными эритробластами на различных стадиях дифференцировки. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 179-187. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.19

Статья поступила: 02.06.2022

Статья принята: 07.09.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

PRODUCTION OF IMMUNOREGULATORY MOLECULES BY INDUCED ERYTHROBLASTS AT VARIOUS STAGES OF CELL DIFFERENTIATION

Nazarov K.V.,
Perik-Zavodsky R.Yu.,
Kuznetsova M.S.,
Philippova Yu.G.,
Shevchenko Yu.A.,
Denisova V.V.,
Silkov A.N.,
Sennikov S.V.

Research Institute of Fundamental
and Clinical Immunology
(Yadrintsevskaia str. 14, Novosibirsk
630099, Russian Federation)

Corresponding author:
Yulia A. Shevchenko,
e-mail: shevcen@ngs.ru

ABSTRACT

Introduction. Bone marrow erythroblasts produce a wide range of cytokines with opposite biological effects. This may be due to a change in the spectrum of production of immunoregulatory mediators during differentiation and small qualitative and quantitative differences in the spectrum of cytokines produced at each stage of differentiation, which may be important for the regulation of hemo- and immunopoiesis.

The aim. To study the spectrum of production of mediators by erythroblasts at different stages of differentiation.

Methods. Erythroblasts were obtained from CD34+ bone marrow cells of healthy donors in the presence of recombinant cytokines. Phenotype assessment was performed using flow cytometry for erythroid (CD45, CD71, CD235a, CD44) and lymphoid markers (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19). Blocking of erythroblast differentiation at different stages was carried out using specific blocking monoclonal antibodies to melanocortin receptors (MCR) of types 1, 2 and 5. Cytokine analysis in conditioned erythroblast media was performed using the Bio-Plex Pro Human Cytokine 48-Plex Screening Panel (Bio-Rad Laboratories, USA). Cytokine production was analyzed using the CytokineExplore online tool.

Results. The resulting erythroblasts are divided into positive and negative populations according to the CD45 marker, carry markers of erythroid cells CD71, CD235a and do not express linear markers of lymphoid cells. In type 1 MCR blockage, polychromatophilic erythroblasts predominate, in type 2 MCR blockage, basophilic erythroblasts predominate, and in type 5 MCR blockage, orthochromatophilic erythroblasts accumulate. According to the production of cytokines, it was shown that when using any of the blocking antibodies, we obtain cells that differ qualitatively and quantitatively in a number of mediators from the initial population of induced erythroblasts.

Conclusion. Thus, we have shown qualitative and quantitative differences in the production of mediators by erythroblasts depending on the stage of differentiation, which can lead to different regulatory effects.

Key words: bone marrow, erythroblasts, melanocortin receptors, cytokines, differentiation, immunomodulatory functions

For citation: Nazarov K.V., Perik-Zavodsky R.Yu., Kuznetsova M.S., Philippova Yu.G., Shevchenko Yu.A., Denisova V.V., Silkov A.N., Sennikov S.V. Production of immunoregulatory molecules by induced erythroblasts at various stages of cell differentiation. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 179-187. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.19

Received: 02.06.2022
Accepted: 07.09.2022
Published: 08.12.2022

ВВЕДЕНИЕ

Основная функция эритроцитов заключается в транспорте кислорода; для незрелых ядросодержащих эритроидных клеток в последние годы описаны выраженные иммуномодулирующие функции [1]. Способность ядросодержащих эритроидных клеток ингибировать пролиферацию В-клеток и гуморальный иммунный ответ у мышей и у человека была показана в работах A.J. Macario и соавт. (1981) и И.Г. Цырловой (1991) [2, 3]. Одним из возможных механизмов регуляторного воздействия, опосредованного эритроидными клетками в норме и при патологии, является секреция растворимых факторов. Эритроидные клетки костного мозга человека способны продуцировать интерлейкин (IL, interleukin) 1 β , IL-2, IL-4, IL-6, интерферон (IFN, interferon) γ , фактор некроза опухоли α (TNF- α , tumor necrosis factor α), трансформирующий фактор роста β (TGF- β , transforming growth factor β) и IL-10. Поскольку эритроидные клетки продуцируют цитокины с противоположными биологическими эффектами, то была выдвинута гипотеза, что спектр продукции цитокинов может зависеть от стадии развития эритроидной клетки [4–9]. Пропиомеланокортин и его производные (меланокортиновая система) являются регуляторами жизненно важных процессов гомеостаза и репродукции в организме человека [10]. В исследовании 2015 г. было показано наличие меланокортиновых рецепторов 1-го, 2-го и 5-го типов на эритробластах, которые запускают разные сигнальные пути в зависимости от стадии развития, что может влиять на их иммунорегуляторный потенциал. С помощью рецепторов 1-го и 2-го типов регулируется проведение сигнала от эритропоэтина, а активность рецептора 5-го типа нужна для конечных стадий дифференцировки эритробластов. Присутствие адренотропного гормона в культуральной среде во время культивирования эритробластов приводит к истощению ядросодержащих эритроидных клеток [11]. Таким образом, селективное подавление активности рецепторов к меланокортину может приводить к блоку эритроидной дифференцировки на разных этапах созревания эритроидных клеток, что позволяет изучить особенности их иммунорегуляторного потенциала на разных этапах дифференцировки. Мы предположили, что данную модель подавления активности рецепторов к меланокортинам можно применить для селекции функционально полноценных эритробластов на определенных стадиях развития и изучить особенности их иммунорегуляторного потенциала в будущем.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Доноры

Забор костного мозга здоровых взрослых доноров был одобрен локальным этическим комитетом ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» на заседании № 129 от 17.02.2021 и проводился после подписания донором информированного согласия и сдачи общеклинических анализов (общий анализ крови, электрокардиограмма, отрицательный тест

на COVID-19). Средний возраст здоровых доноров костного мозга составлял $27,33 \pm 6,34$ года; в выборке представлены 3 мужчины и 3 женщины. Костный мозг был получен с помощью трепан-биопсии из подвздошной кости. Мононуклеарные клетки (МНК) выделяли стандартным методом на градиенте фиколла-урографина. Для этого костный мозг разбавляли раствором Дюльбекко (Биолот, Россия) в соотношении 1:1, наслаивали на фиколл:урографин (Панэко, Россия) в соотношении фиколл:костный мозг, равном 1:3, и центрифугировали в течение 25 мин при 1300 об./мин. Клетки интерфазного кольца собирали и два раза отмывали раствором Дюльбекко.

Культивирование клеток

Из полученных МНК с помощью позитивной магнитной селекции выделяли с помощью набора CD34 MicroBeadkit Ultra Pure (Miltenyi Biotec, Германия) CD34+ клетки, которые далее были использованы для получения эритроидных клеток различных стадий дифференцировки. CD34+ клетки (1×10^5 кл./мл) культивировали в бессывороточной среде X-VIVO 15 (Lonza, Швейцария) с добавлением 25 нг/мл rh SCF (BioLegend, США), 50 нг/мл rh TPO (BioLegend, США), 50 нг/мл Flt3 ligand (Gibco, США), 100-кратной ростовой добавки селенит натрия-инсулин-трансферрин (Биолот, Россия) в течение 7 дней (фаза экспансии).

На следующем пассаже происходила дифференцировка клеток. Для этого клетки (2×10^5 кл./мл) культивировали с добавлением 3 МЕ/мл эритропоэтина (ФГУП «Государственный научноисследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА, Россия), 25 нг/мл SCF (BioLegend, США), 10 нг/мл rhIL-3 (BioLegend, США) и 10 нг/мл rh IL-6 (BioLegend, США) в течение 3 дней. Третий пассаж для созревания клеток проводили при культивировании 1×10^5 кл./мл в среде с добавлением эритропоэтина. Для получения эритробластов на различных стадиях дифференцировки в культуру были добавлены нейтрализующие антитела для меланокортиновых рецепторов анти-MC2R nAb (2,5 мкг/мл) (Invitrogen, США) для накопления эритробластов на базофильной стадии, анти-MC1R nAb (1,25 мкг/мл) (Abcam, Великобритания) – для накопления на полихроматофильной стадии, анти-MC5R nAb (1 мкг/мл) (Invitrogen, США) – для накопления на ортохроматофильной стадии [11].

Проточная цитофлуориметрия

Полученные клетки были проанализированы с помощью проточной цитофлуориметрии с использованием маркеров CD45, CD71 и CD235a (BioLegend, США). Для определения маркеров лимфоидных клеток были использованы антитела к маркерам CD3, CD4, CD8, CD16, CD19 (BioLegend, США). Для распределения по фазам развития эритроидных клеток был использован маркер CD44.

Анализ экспрессии цитокинов

Анализ цитокинов в кондиционных средах эритробластов после инкубации с антителами к меланокортиновым рецепторам проводили с использованием панели Bio-Plex Pro Human Cytokine 48-Plex Screening Panel (Bio-Rad Laboratories, США). Содержимое каждой лунки анализировали с помощью Bio-Plex 100 System (Bio-Rad Laboratories, США) для количественного определения каждой конкретной реакции на основе цвета гранул и интенсивности флу-

оресцентного сигнала. Полученные данные были окончательно обработаны с помощью программного обеспечения Bio-Plex Manager, версия 6.1 (Bio-Rad Laboratories, США) в соответствии с пятипараметрической аппроксимацией кривой и преобразованы в пикограммы на миллилитр.

Продукцию цитокинов анализировали с помощью онлайн-инструмента CytokineExplore (<http://al-saleh.cc/exabx.com/apps/cytokineexplore>). Статистическая обработка результатов для выявления различий между группами проводилась при помощи программы GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., США). Для статистической проверки значимости различий между экспериментальными группами использовали критерий Фридмана с поправкой на множественные сравнения Dunn's. Статистически значимыми считаются результаты при $p < 0,05$. Данные представлены в виде медианы и размаха квартилей.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Фенотипическая характеристика индуцированных эритроидных клеток

Фенотип полученных эритроидных клеток определяли с помощью маркеров CD45, CD71, CD235a. Показано, что полученные эритробласты по маркеру CD45 делятся на позитивную и негативную популяции (табл. 1). При этом как CD45-позитивные, так и CD45-негативные экспрессируют маркеры эритроидных клеток CD71, CD235a.

ТАБЛИЦА 1
СОДЕРЖАНИЕ CD45-ПОЗИТИВНЫХ И CD45-НЕГАТИВНЫХ ЭРИТРОИДНЫХ КЛЕТОК, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ CD34+ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА

Эритроидные клетки	Контроль	Anti-MCR-1	Anti-MCR-2	Anti-MCR-5
CD45-позитивные эритроидные клетки	24,27 ± 13,07	31,31 ± 12,08	31,31 ± 10,28	29,06 ± 15,66
CD45-негативные эритроидные клетки	52,59 ± 10,02	46,62 ± 9,99	48,31 ± 10,1	47,72 ± 7,61

Примечание. Данные представлены в виде среднего и ошибки среднего ($n = 6$). При этом как CD45-позитивные, так и CD45-негативные экспрессируют маркеры эритроидных клеток CD71, CD235a.

ТАБЛИЦА 2
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЭРИТРОБЛАСТОВ ПО СТАДИЯМ РАЗВИТИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРА CD44 СРЕДИ ЕСТЕСТВЕННЫХ ЭРИТРОБЛАСТОВ И ЭРИТРОБЛАСТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ CD34+ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА, ПОСЛЕ ОБРАБОТКИ НЕЙТРАЛИЗУЮЩИМИ АНТИТЕЛАМИ К МЕЛАНКОРТИНОВЫМ РЕЦЕПТОРАМ

Эритробласты	D A				D B			
	Контроль	Anti-MCR-1	Anti-MCR-2	Anti-MCR-5	Контроль	Anti-MCR-1	Anti-MCR-2	Anti-MCR-5
Ортохроматофильные	27,391	5,510	9,096	37,4	21,841	17,346	20,045	44,876
Полихроматофильные	45,435	62,431	37,329	33,505	42,578	48,540	31,933	35,804
Базофильные	24,130	31,935	53,435	26,976	33,757	32,576	46,621	17,731

Примечание. Приведены примеры распределения эритробластов для двух доноров: D A – мужчина, 26 лет; D B – женщина, 40 лет.

Для определения возможности развития лимфоидного роста из CD34+ клеток мы определили экспрессию маркеров CD3, CD4, CD8, CD16, CD19. Показано, что полученные эритроидные клетки не экспрессируют линейные маркеры лимфоидных клеток. Для распределения по фазам развития эритроидных клеток был использован маркер CD44, который демонстрирует прогрессивное и резкое снижение от проэритробластов к ретикулоцитам [12].

Показано, что при использовании блокирующих антител к меланокортиновым рецепторам 1-го типа преобладают полихроматофильные эритробласты, при использовании блокирующих антител к меланокортиновым рецепторам 2-го типа накапливаются базофильные эритробласты, а при использовании блокирующих антител к меланокортиновым рецепторам 5-го типа – ортохроматофильные эритробласты (табл. 2).

Анализ продукции цитокинов

Продукция цитокинов в культуральных средах эритробластов была исследована с помощью панели Bio-Plex Pro™ Human Cytokine Screening, 48-Plex (Bio-Rad Laboratories, США). Для выявления различий между продукцией цитокинов двумя группами эритробластов были использованы PLSD-анализ (частичный дискриминантный анализ методом наименьших квадратов) и график важности переменных при анализе двух групп, PCA (принцип главных компонент) – при анализе трёх и более групп [13]. Было показано, что точки данных, соответствующие исследуемым типам эритробластов, перекрываются, что говорит

TABLE 1
CONTENT OF CD45-POSITIVE AND CD45-NEGATIVE ERYTHROID CELLS DERIVED FROM BONE MARROW CD34+ CELLS

TABLE 2
DISTRIBUTION OF ERYTHROBLASTS BY STAGES OF DEVELOPMENT DEPENDING ON THE EXPRESSION OF THE CD44 MARKER AMONG NATURAL ERYTHROBLASTS AND ERYTHROBLASTS OBTAINED FROM BONE MARROW CD34+ CELLS AFTER TREATMENT WITH NEUTRALIZING ANTIBODIES TO MELANOCORTIN RECEPTORS

об их сходном цитокиновом профиле и единой природе полученных в экспериментальных условиях эритробластов (рис. 1). Затем мы провели попарное сравнение групп эритробластов для выявления индивидуальных различий и построили PLSDA-графики для всех типов эритробластов. Показано, что все типы эритробластов, полученных под действием антител к меланокортиновым рецепторам, отличаются от индуцированных эритробластов контрольной группы и между собой, т. е. при использовании любого из блокирующих антител мы получаем клетки, отличающиеся от исходной популяции индуцированных эритробластов (рис. 2). Эритробласты, полученные из CD34+ клеток костного мозга, секретируют все исследуемые цитокины (CTACK (cutaneous T-cell attracting chemokine), eotaxin, основной фактор роста фибробластов (basic FGF, basic fibroblast growth factor), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF, granulocyte colony stimulating factor), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF, granulocyte-macrophage colony stimulating factor), GRO- α , фактор роста гепатоцитов (HGF, hepatocyte growth factor), IFN- α 2, IFN- γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-2R α , IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-12 (p40), IL-13, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IP-10, LIF, MCP (monocyte chemoattractant protein) 1, MCP-3, макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF, macrophage colony stimulating factor), MIF (macrophage migration inhibitory factor), MIG (monokine induced by interferon- γ), MIP (macrophage inflammatory protein) 1 α , фактор роста нервов β (β -NGF nerve growth factor β), PDGF-BB (platelet derived growth factor BB), RANTES (regulated upon activation,

normal T cell expressed and presumably secreted), SCF (stem cell factor), SCGF- β (stem cell growth factor β), SDF-1 α (stromal cell-derived factor 1 α), TNF- α , TNF- β , TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF, vascular endothelial growth factor)).

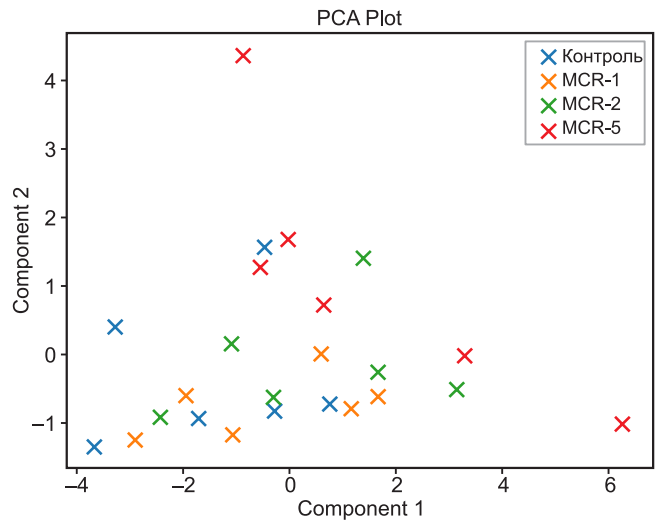


РИС. 1.

График PCA данных по продукции цитокинов для индуцированных эритробластов костного мозга, полученных под действием антител к меланокортиновым рецепторам

FIG. 1.

PCA plot of cytokine production data for induced bone marrow erythroblasts treated with anti-melanocortin receptor antibodies

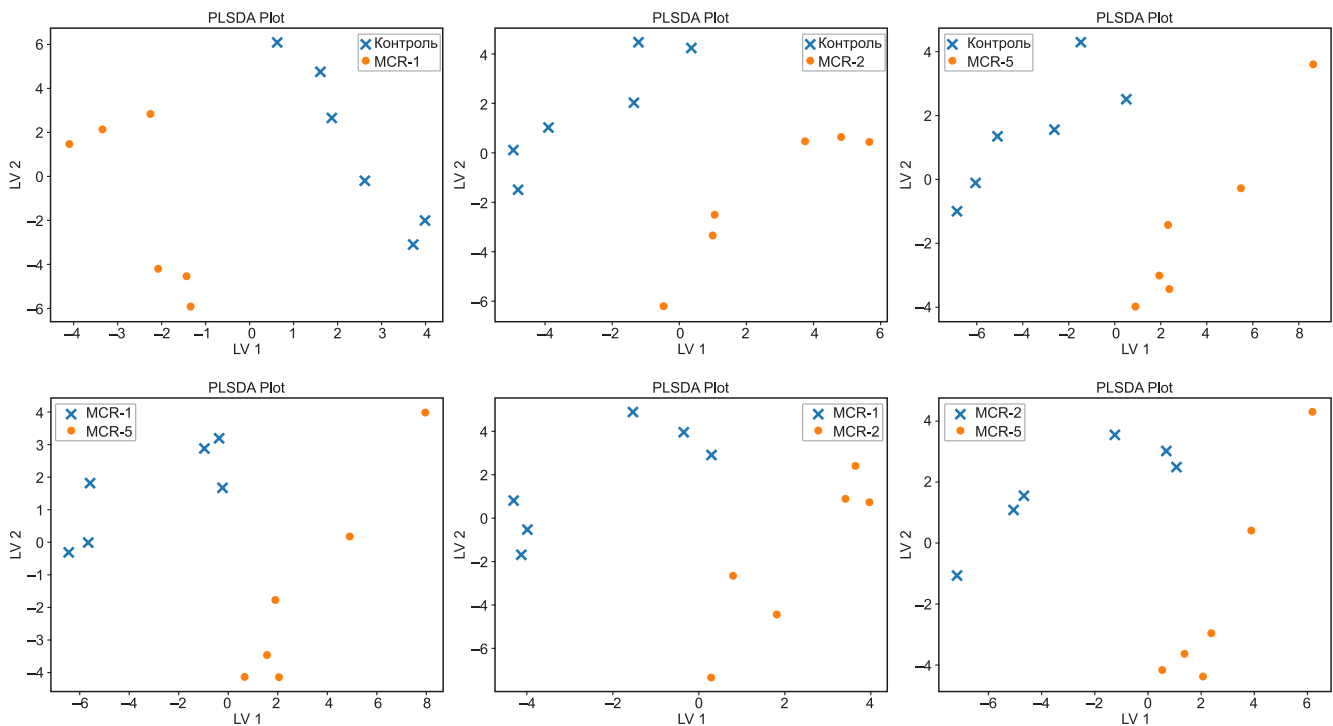


РИС. 2.

График PLSD сравнения отдельных групп по продукции цитокинов для индуцированных эритробластов костного мозга, полученных под действием антител к меланокортиновым рецепторам

FIG. 2.

PLSD plot of comparison of individual groups by cytokine production for induced bone marrow erythroblasts produced by anti-melanocortin receptor antibodies

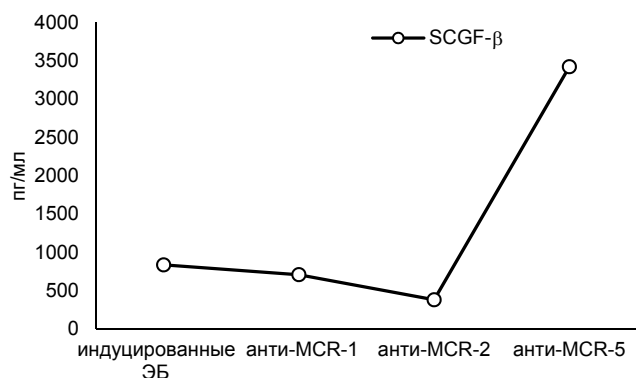
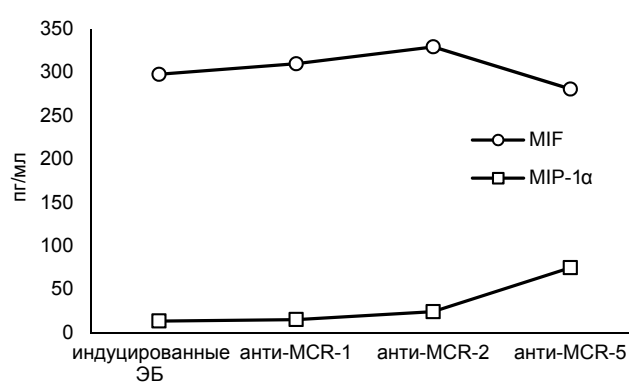
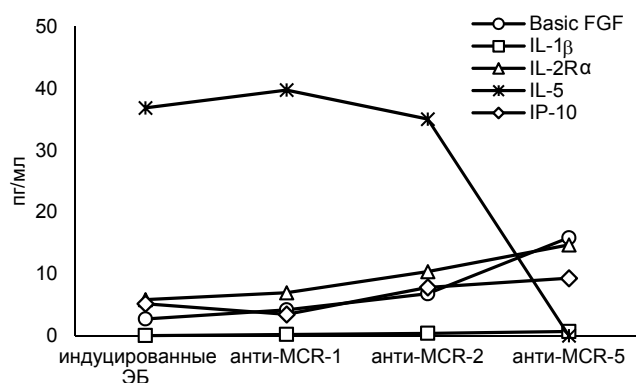


РИС. 3.

Динамика изменения продукции цитокинов разными типами индуцированных эритробластов костного мозга, полученных под действием антител к меланокортиновым рецепторам

FIG. 3.

Dynamics of changes in the production of cytokines by different types of induced bone marrow erythroblasts obtained under the action of antibodies to melanocortin receptors

ТАБЛИЦА 3

СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СУПЕРНАТАНТАХ КУЛЬТУР ЭРИТРОБЛАСТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ CD34+ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА И ОБРАБОТАННЫХ АНТИТЕЛАМИ К МЕЛАНКОРТИНОВЫМ РЕЦЕПТОРАМ (n = 6)

TABLE 3

THE CONTENT OF CYTOKINES IN THE SUPERNATANTS OF CULTURES OF ERYTHROBLASTS OBTAINED FROM BONE MARROW CD34+ CELLS AND TREATED WITH ANTIBODIES TO MELANOCORTIN RECEPTORS (n = 6)

Цитокины	Контроль	Anti-MCR-1	Anti-MCR-2	Anti-MCR-5
Basic FGF	0 [0; 7,128]	0 [0; 11,76]	0,915 [0; 19,24]	13,36 [8,528; 26,79]*
IL-1β	0 [0; 0,05]	0 [0; 0,4875]	0 [0; 1,145]	0,495 [0,2925; 1,188]*
IL-2Rα	5,55 [4,105; 6,92]	7,08 [4,75; 8,93]	9,705 [7,425; 13,36]	13,58 [10,46; 19,78]*
IL-5	39,48 [18,47; 53,12]	40,86 [26,63; 47,65]	36,7 [26,3; 41,52]	0 [0; 0]*; #
IP-10	5,7 [2,64; 8,05]	3,87 [0; 6,045]	7,18 [5,493; 10,68]	8,79 [7,638; 10,95]#
MIG	5,205 [0,6075; 8,928]	8,37 [5,658; 12,57]	10,49 [4,193; 14,07]	15,17 [13,24; 18,73]*
MIP-1α	8,51 [5,658; 22,61]	8,675 [4,35; 31,37]	14,35 [9,188; 47,21]	34,28 [28,15; 125,4]*; #
SCGF-β	553,5 [0; 1579]	318,3 [0; 1523]	3,91 [0; 830,9]	2346 [1660; 4672]§

Примечание. Различия статистически значимы: * – по сравнению с контрольной группой; # – по сравнению с группой Anti-MCR-1; § – по сравнению с группой Anti-MCR-2.

Мы сравнили продукцию цитокинов всеми типами эритробластов после обработки антителами к меланокортиновым рецепторам. Статистически значимые различия по продукции цитокинов были получены для basic FGF, IL-1β, IL-2Rα, IL-5, IP-10, MIG, MIP-1α, SCGF-β (табл. 3, рис. 3).

Таким образом, по продукции цитокинов большинство статистически значимых различий обнаружено между контрольной группой эритробластов и эритробластами после блокировки меланокортиновых рецепторов 5-го типа.

ОБСУЖДЕНИЕ

Процесс дифференцировки эритроидных предшественников сопровождается уменьшением размеров клеток, усилением конденсации хроматина, прогрессирующей гемоглобинизацией и заметными изменениями в мембранной организации [12]. Каждое клеточное деление при эритропоэзе сопровождается дифференцировкой, поэтому дочерние клетки структурно и функционально отличаются от материнской клетки, производными ко-

торой они являются. Таким образом, для детального понимания эритропоэза крайне важно получить клетки на всех стадиях развития [14]. Культивирование из CD34+ предшественников *in vitro* является процессом, который позволяет получить различные стадии дифференцировки эритробластов под действием эритропоэтина (EPO), SCF и IL-3 [15]. Для получения и характеристики эритробластов различных стадий развития мы применили метод подавления активности рецепторов к меланокортину с целью изучения особенностей продукции иммунорегуляторных медиаторов на разных этапах дифференцировки. Для дифференцировки эритроидных клеток по стадиям развития мы использовали маркер CD44, который является молекулой адгезии с максимальным высоким содержанием в про-эритробластах и снижением во время эритроидной дифференцировки до очень низкого уровня в ортохроматофильных эритробластах [12]. Для примера показано распределение клеток по стадиям развития у двух доноров костного мозга. Добавление блокирующих антител к меланокортиновым рецепторам изменяет картину распределения эритробластов по сравнению с необработанными клетками. Антитела к MCR-1 приводят к накоплению полихроматофильных эритробластов, добавление антител к MCR-2 приводит к преобладанию базофильных эритробластов, а добавление антител к MCR-5 – к преобладанию ортохроматофильных эритробластов. Анализ фенотипа и продукции цитокинов после применения антител к меланокортиновым рецепторам показал, что данное воздействие не влияет на линейную дифференцировку эритробластов, однако каждая блокировка приводит к появлению популяции, которая отличается по продукции иммунорегуляторных факторов от других индуцированных популяций. При оценке профиля экспрессии цитокинов эритроидными клетками мы выявили ряд цитокинов, продукция которых статистически значимо отличается между группами эритробластов полученных после применения нейтрализующих антител к меланокортиновым рецепторам. Эти факторы оказывают различное влияние на другие типы клеток. Basic FGF вовлечён в различные биологические процессы, включая клеточную пролиферацию, выживание, метаболизм, морфогенез, дифференцировку, эмбриональное развитие, ангиогенез, репарацию тканей и регенерацию [16]. IL-1 функционирует как ключевой провоспалительный «аварийный» сигнал, который непосредственно ускоряет клеточное деление и миелоидную дифференцировку гемопоэтических стволовых клеток [17], действует как усилитель иммунных реакций [18]. IP-10 (хемокин CXCL10) участвует в хемоаттракции макрофагов, моноцитов и активированных Т-клеток и естественных клеток-киллеров (NK, natural killer cells), модуляции развития и функций Т-клеток, ингибировании образования колоний *in vitro* с помощью ранних клеток-предшественников костного мозга человека [19]. Хемокин MIG (CXCL9) регулирует миграцию, дифференцировку и активацию цитотоксических лимфоцитов, NK-клеток, NKT-клеток и макрофагов [20]. MIP-1α был идентифицирован как ингибитор стволовых клеток (SCI, stem cells inhibitor), который может ингибировать пролиферацию гемопоэтических клеток-предшественников как *in vitro*, так и *in vivo* [21]. SCGF-β поддер-

живает рост примитивных гемопоэтических клеток-предшественников и присутствует в циркулирующих опухолевых клетках [22]. При этом эритробласты, обработанные антителами к MCR-5, не продуцируют IL-5, который стимулирует образование колоний мегакариоцитов, нейтрофилов и макрофагов из культур костного мозга и рост незрелых гемопоэтических предшественников BFU-E [23]. Максимальные различия по продукции цитокинов показаны для эритробластов после обработки антителами к MCR-5. Фенотипически эта популяция клеток представлена более зрелыми формами – ортохроматофильными эритробластами. Предположительно более зрелые формы эритробластов, возможно, оказывают меньшее влияние на развитие гемопоэтических колоний и даже могут ингибировать их рост, но в то же время стимулируют привлечение лимфоидных негемопоэтических клеток. Возможно, более зрелые эритробласты больше ориентированы на формирование и поддержание микроокружения, т. е. играют гомеостатическую роль, помимо иммунорегуляторной.

Таким образом, мы показали качественные и количественные различия эритробластов в зависимости от стадии дифференцировки, что может приводить к отличающимся регуляторным эффектам. Возможность получения эритробластов человека на разных стадиях развития *in vivo* позволяет развивать детальное понимание нормального процесса эритроидной дифференцировки, определять стадий-специфические изменения нарушений эритропоэза при различных заболеваниях, проводить скрининг лекарств, которые способны специфически воздействовать на определённую эритроидную стадию, что в свою очередь может привести к новым терапевтическим подходам для пациентов с изменённым эритропоэзом.

Финансирование

Фенотипирование эритроидных клеток проведено за счёт средств Государственного задания № 122011800108-0.

Определение продукции цитокинов проведено за счёт средств гранта Российского научного фонда № 21-15-00087 (<https://rscf.ru/project/21-15-00087/>).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов

ЛИТЕРАТУРА

1. Elahi S. Neglected cells: Immunomodulatory roles of CD71+ erythroid cells. *Trends Immunol.* 2019; 40(3): 181-185. doi: 10.1016/j.it.2019.01.003
2. Macario AJ, Conway de Macario E, Dugan CB. Erythroblasts can generate immunosuppression *in vivo*. *Medicina (B Aires).* 1981; 41(Suppl): 83-90.
3. Цырлова И.Г. Иммуносупрессорные клетки эритроидного ряда эр-супрессоры и их роль в регуляции иммунитета. *Вестник Академии медицинских наук СССР.* 1991; 12: 34-38.
4. Sennikov SV, Eremina LV, Samarin DM, Avdeev IV, Kozlov VA. Cytokine gene expression in erythroid cells. *Eur Cytokine Netw.* 1996; 7(4): 771-774.

5. Seledtsov VI, Seledtsova GV, Samarin DM, Taraban VY, Sennikov SV, Kozlov VA. Characterization of erythroid cell-derived natural suppressor activity. *Immunobiology*. 1998; 198(4): 361-374. doi: 10.1016/S0171-2985(98)80045-4
6. Sennikov SV, Inzhelevskaya TV, Eremina LV, Kozlov VA. Regulation of functional activity of bone marrow hemopoietic stem cells by erythroid cells in mice. *Bull Exp Biol Med*. 2000; 130(12): 1159-1161.
7. Sennikov SV, Krysov SV, Injelevskaya TV, Silkov AN, Kozlov VA. Production of cytokines by immature erythroid cells derived from human embryonic liver. *Eur Cytokine Netw*. 2001; 12(2): 274-279.
8. Sennikov SV, Injelevskaya TV, Krysov SV, Silkov AN, Kovinev IB, Dyachkova NJ, et al. Production of hemo- and immunoregulatory cytokines by erythroblast antigen+ and glycophorin A+ cells from human bone marrow. *BMC Cell Biol*. 2004; 5(1): 39. doi: 10.1186/1471-2121-5-39
9. Denisova VV, Kulagin AD, Lisukov IA, Kryuchkova IV, Sizikova SA, Sennikov SV, et al. Cytokine-producing activity of bone marrow erythrokaryocytes and its regulation under normal conditions. *Bull Exp Biol Med*. 2007; 143(2): 218-221. doi: 10.1007/s10517-007-0055-5
10. Simamura E, Arikawa T, Ikeda T, Shimada H, Shoji H, Masuta H, et al. Melanocortins contribute to sequential differentiation and enucleation of human erythroblasts via melanocortin receptors 1, 2 and 5. *PLoS One*. 2015; 10(4): e0123232. doi: 10.1371/journal.pone.0123232
11. Toda C, Santoro A, Kim JD, Diano S. POMC neurons: From birth to death. *Annu Rev Physiol*. 2017; 79: 209-236. doi: 10.1146/annurev-physiol-022516-034110
12. Chen K, Liu J, Heck S, Chasis JA, An X, Mohandas N. Resolving the distinct stages in erythroid differentiation based on dynamic changes in membrane protein expression during erythropoiesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106(41): 17413-17418. doi: 10.1073/pnas.0909296106
13. Kassem O, Al-Saleh A, Azizieh F, Dingle K. CytokineExplore: An online tool for statistical analysis of cytokine concentration datasets. *J Inflamm Res*. 2020; 13: 401-410. doi: 10.2147/JIR.S253255
14. Hu J, Liu J, Xue F, Halverson G, Reid M, Guo A, et al. Isolation and functional characterization of human erythroblasts at distinct stages: implications for understanding of normal and disordered erythropoiesis in vivo. *Blood*. 2013; 121(16): 3246-3253. doi: 10.1182/blood-2013-01-476390
15. Chen J, Qiao YD, Li X, Xu JL, Ye QJ, Jiang N, et al. Intratumoral CD45+CD71+ erythroid cells induce immune tolerance and predict tumor recurrence in hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett*. 2021; 499: 85-98. doi: 10.1016/j.canlet.2020.12.003
16. Gadaleta RM, Moschetta A. Metabolic messengers: fibroblast growth factor 15/19. *Nat Metab*. 2019; 1(6): 588-594. doi: 10.1038/s42255-019-0074-3
17. Pietras EM, Mirantes-Barbeito C, Fong S, Loeffler D, Kovtonyuk LV, Zhang S, et al. Chronic interleukin-1 exposure drives haematopoietic stem cells towards precocious myeloid differentiation at the expense of self-renewal. *Nat Cell Biol*. 2016; 18(6): 607-618. doi: 10.1038/ncb3346
18. Dinarello CA. An expanding role for interleukin-1 blockade from gout to cancer. *Mol Med*. 2014; 20(1): S43-S58. doi: 10.2119/molmed.2014.00232
19. Vazirinejad R, Ahmadi Z, Kazemi Arababadi M, Hassan-shahi G, Kennedy D. The biological functions, structure and sources of CXCL10 and its outstanding part in the pathophysiology of mul-

tiple sclerosis. *Neuroimmunomodulation*. 2014; 21(6): 322-330. doi: 10.1159/000357780

20. Tokunaga R, Zhang W, Naseem M, Puccini A, Berger MD, Soni S, et al. CXCL9, CXCL10, CXCL11/CXCR3 axis for immune activation – A target for novel cancer therapy. *Cancer Treat Rev*. 2018; 63: 40-47. doi: 10.1016/j.ctrv.2017.11.007

21. Staversky RJ, Byun DK, Georger MA, Zaffuto BJ, Goodman A, Becker MW, et al. The chemokine CCL3 regulates myeloid differentiation and hematopoietic stem cell numbers. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 14691. doi: 10.1038/s41598-018-32978-y

22. Sukowati CHC, Patti R, Pascut D, Ladju RB, Tarchi P, et al. Serum stem cell growth factor beta for the prediction of therapy response in hepatocellular carcinoma. *Biomed Res Int*. 2018; 2018: 6435482. doi: 10.1155/2018/6435482

23. Dougan M, Dranoff G, Dougan SK. GM-CSF, IL-3, and IL-5 family of cytokines: regulators of inflammation. *Immunity*. 2019; 50(4): 796-811. doi: 10.1016/j.immuni.2019.03.022

REFERENCES

1. Elahi S. Neglected cells: Immunomodulatory roles of CD71+ erythroid cells. *Trends Immunol*. 2019; 40(3): 181-185. doi: 10.1016/j.it.2019.01.003
2. Macario AJ, Conway de Macario E, Dugan CB. Erythroblasts can generate immunosuppression in vivo. *Medicina (B Aires)*. 1981; 41(Suppl): 83-90.
3. Tsyrova IG. Immunosuppressive cells of the erythroid series ER-suppressors and their role in the regulation of immunity. *Vestnik Akademii meditsinskikh nauk SSSR*. 1991; 12: 34-38. (In Russ.).
4. Sennikov SV, Eremina LV, Samarin DM, Avdeev IV, Kozlov VA. Cytokine gene expression in erythroid cells. *Eur Cytokine Netw*. 1996; 7(4): 771-774.
5. Seledtsov VI, Seledtsova GV, Samarin DM, Taraban VY, Sennikov SV, Kozlov VA. Characterization of erythroid cell-derived natural suppressor activity. *Immunobiology*. 1998; 198(4): 361-374. doi: 10.1016/S0171-2985(98)80045-4
6. Sennikov SV, Inzhelevskaya TV, Eremina LV, Kozlov VA. Regulation of functional activity of bone marrow hemopoietic stem cells by erythroid cells in mice. *Bull Exp Biol Med*. 2000; 130(12): 1159-1161.
7. Sennikov SV, Krysov SV, Injelevskaya TV, Silkov AN, Kozlov VA. Production of cytokines by immature erythroid cells derived from human embryonic liver. *Eur Cytokine Netw*. 2001; 12(2): 274-279.
8. Sennikov SV, Injelevskaya TV, Krysov SV, Silkov AN, Kovinev IB, Dyachkova NJ, et al. Production of hemo- and immunoregulatory cytokines by erythroblast antigen+ and glycophorin A+ cells from human bone marrow. *BMC Cell Biol*. 2004; 5(1): 39. doi: 10.1186/1471-2121-5-39
9. Denisova VV, Kulagin AD, Lisukov IA, Kryuchkova IV, Sizikova SA, Sennikov SV, et al. Cytokine-producing activity of bone marrow erythrokaryocytes and its regulation under normal conditions. *Bull Exp Biol Med*. 2007; 143(2): 218-221. doi: 10.1007/s10517-007-0055-5
10. Simamura E, Arikawa T, Ikeda T, Shimada H, Shoji H, Masuta H, et al. Melanocortins contribute to sequential differentiation and enucleation of human erythroblasts via melanocortin receptors 1, 2 and 5. *PLoS One*. 2015; 10(4): e0123232. doi: 10.1371/journal.pone.0123232
11. Toda C, Santoro A, Kim JD, Diano S. POMC neurons: From birth to death. *Annu Rev Physiol*. 2017; 79: 209-236. doi: 10.1146/annurev-physiol-022516-034110

12. Chen K, Liu J, Heck S, Chasis JA, An X, Mohandas N. Resolving the distinct stages in erythroid differentiation based on dynamic changes in membrane protein expression during erythropoiesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106(41): 17413-17418. doi: 10.1073/pnas.0909296106
13. Kassem O, Al-Saleh A, Azizieh F, Dingle K. CytokineExplore: An online tool for statistical analysis of cytokine concentration datasets. *J Inflamm Res*. 2020; 13: 401-410. doi: 10.2147/JIR.S253255
14. Hu J, Liu J, Xue F, Halverson G, Reid M, Guo A, et al. Isolation and functional characterization of human erythroblasts at distinct stages: implications for understanding of normal and disordered erythropoiesis in vivo. *Blood*. 2013; 121(16): 3246-3253. doi: 10.1182/blood-2013-01-476390
15. Chen J, Qiao YD, Li X, Xu JL, Ye QJ, Jiang N, et al. Intratumoral CD45+CD71+ erythroid cells induce immune tolerance and predict tumor recurrence in hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett*. 2021; 499: 85-98. doi: 10.1016/j.canlet.2020.12.003
16. Gadaleta RM, Moschetta A. Metabolic messengers: fibroblast growth factor 15/19. *Nat Metab*. 2019; 1(6): 588-594. doi: 10.1038/s42255-019-0074-3
17. Pietras EM, Mirantes-Barbeito C, Fong S, Loeffler D, Kovtonyuk LV, Zhang S, et al. Chronic interleukin-1 exposure drives haematopoietic stem cells towards precocious myeloid differentiation at the expense of self-renewal. *Nat Cell Biol*. 2016; 18(6): 607-618. doi: 10.1038/ncb3346
18. Dinarello CA. An expanding role for interleukin-1 blockade from gout to cancer. *Mol Med*. 2014; 20(1): S43-S58. doi: 10.2119/molmed.2014.00232
19. Vazirinejad R, Ahmadi Z, Kazemi Arababadi M, Hassanshahi G, Kennedy D. The biological functions, structure and sources of CXCL10 and its outstanding part in the pathophysiology of multiple sclerosis. *Neuroimmunomodulation*. 2014; 21(6): 322-330. doi: 10.1159/000357780
20. Tokunaga R, Zhang W, Naseem M, Puccini A, Berger MD, Soni S, et al. CXCL9, CXCL10, CXCL11/CXCR3 axis for immune activation – A target for novel cancer therapy. *Cancer Treat Rev*. 2018; 63: 40-47. doi: 10.1016/j.ctrv.2017.11.007
21. Staversky RJ, Byun DK, Georger MA, Zaffuto BJ, Goodman A, Becker MW, et al. The chemokine CCL3 regulates myeloid differentiation and hematopoietic stem cell numbers. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 14691. doi: 10.1038/s41598-018-32978-y
22. Sukowati CHC, Patti R, Pascut D, Ladju RB, Tarchi P, et al. Serum stem cell growth factor beta for the prediction of therapy response in hepatocellular carcinoma. *Biomed Res Int*. 2018; 2018: 6435482. doi: 10.1155/2018/6435482
23. Dougan M, Dranoff G, Dougan SK. GM-CSF, IL-3, and IL-5 family of cytokines: regulators of inflammation. *Immunity*. 2019; 50(4): 796-811. doi: 10.1016/j.immuni.2019.03.022

Сведения об авторах

Назаров Кирилл Вячеславович – аспирант, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: kirill.lacrimator@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7175-4051>

Перик-Заводский Роман Юрьевич – аспирант, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: zavodskii@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5055-4859>

Кузнецова Мария Сергеевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: maria.kuz17.03@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9834-9328>

Филиппова Юлия Григорьевна – аспирант, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: airyuka@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5229-6814>

Шевченко Юлия Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: shevcen@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8773-0599>

Денисова Вера Васильевна – кандидат медицинских наук, заведующая гематологическим отделением с блоком трансплантации костного мозга клиники иммунопатологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: verden@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1951-2260>

Силков Александр Николаевич – доктор биологических наук, директор, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: exon@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1897-8675>

Сенников Сергей Витальевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: sennikovsv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7366-7768>

Information about the authors

Kirill V. Nazarov – Postgraduate, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: kirill.lacrimator@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7175-4051>

Roman Yu. Perik-Zavodsky – Postgraduate, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: zavodskii@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5055-4859>

Maria S. Kuznetsova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Molecular Immunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: maria.kuz17.03@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9834-9328>

Yuliya G. Philippova – Postgraduate, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: airyuka@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5229-6814>

Yulia A. Shevchenko – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Molecular Immunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: shevcen@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8773-0599>

Vera V. Denisova – Cand. Sc. (Med.), Head of the Hematology Department with a Bone Marrow Transplantation Unit, Clinic of Immune-Associated Diseases, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: verden@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1951-2260>

Alexander N. Silkov – Dr. Sc. (Biol.), Director, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: exon@ngs.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1897-8675>

Sergey V. Sennikov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Molecular Immunology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: sennikovsv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7366-7768>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

ФОРМИРОВАНИЕ КАРДИОПРОТЕКТОРНОГО ЭФФЕКТА ХРОНИЧЕСКОЙ НЕПРЕРЫВНОЙ ГИПОКСИИ У КРЫС ПРИ ИНДУЦИРОВАННОМ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ

Деркачев И.А.

Научно-исследовательский институт кардиологии, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Деркачев Иван Андреевич,
e-mail: vanya.derkachev@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Известно, что адаптация к хронической непрерывной гипоксии приводит к выраженному кардиопротекторному эффекту. Эффективность срочной адаптации к гипоксии снижена при метаболическом синдроме. Однако эффективность формирования инфаркт-лимитирующего эффекта хронической непрерывной гипоксии при метаболическом синдроме является малоизученным фактом.

Цель исследования. Изучить эффективность реализации инфаркт-лимитирующего эффекта хронической непрерывной гипоксии у крыс с метаболическим синдромом.

Методы. Исследование выполнено на 43 крысах линии Вистар. Адаптацию животных к хронической гипоксии выполняли в течение 21 дня в гипоксической камере при 12 % O_2 , 0,3 % CO_2 . Метаболический синдром моделировали путём содержания крыс на высокоуглеводной высокожировой диете (белки 16 %, жиры 21 %, углеводы 46 % (в том числе фруктоза 17 %), холестерин 0,125 %, холиевая кислота 0,5 %) в течение 12 недель с заменой питьевой воды на 20%-й раствор фруктозы. Выполняли коронароокклюзию-реперфузию *in vivo*. Оценивали влияние хронической гипоксии и метаболического синдрома на размер инфаркта.

Результаты. Установлено, что размер инфаркта у крыс, подвергшихся хронической непрерывной гипоксии, был на 38 % меньше, чем у животных контрольной группы. У крыс, содержащихся на высокоуглеводной высокожировой диете, наблюдали ожирение, снижение толерантности к глюкозе, повышение уровня триглицеридов в сыворотке крови, гипертензию. Адаптация к хронической непрерывной гипоксии животных, получавших высокоуглеводную высокожировую диету, улучшала углеводный метаболизм, однако не влияла на выраженность других метаболических нарушений. При этом у крыс с метаболическим синдромом не наблюдали инфаркт-лимитирующий эффект хронической гипоксии.

Заключение. Метаболический синдром устранял инфаркт-лимитирующий эффект хронической непрерывной гипоксии.

Ключевые слова: инфаркт, адаптация к гипоксии, метаболический синдром, ожирение

Статья поступила: 01.06.2022

Статья принята: 04.08.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Деркачев И.А. Формирование кардиопротекторного эффекта хронической непрерывной гипоксии у крыс при индуцированном метаболическом синдроме. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 188-194. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.20

DEVELOPMENT OF CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF CHRONIC CONTINUOUS HYPOXIA IN RATS WITH INDUCED METABOLIC SYNDROME

Derkachev I.A.

Research Institute of Cardiology,
Tomsk National Research Medical
Center, Russian Academy of Science
(Kievskaya str. 111A, Tomsk 634012,
Russian Federation)

Corresponding author:

Ivan A. Derkachev,

e-mail: vanya.derkachev@mail.ru

ABSTRACT

Background. It is known that adaptation to chronic continuous hypoxia leads to a pronounced cardioprotective effect. The efficiency of acute adaptation to hypoxia is reduced in metabolic syndrome. However, the effectiveness of the myocardial infarct size-limiting effect of chronic continuous hypoxia in metabolic syndrome remains an understudied fact.

The aim. To study the effectiveness of the development of the myocardial infarct size-limiting effect of chronic continuous hypoxia in rats with metabolic syndrome.

Materials and methods. The study was carried out on 43 Wistar rats. Adaptation of animals to chronic hypoxia was performed during 21 days in a hypoxic chamber (12 % O₂, 0.3 % CO₂). Metabolic syndrome was modeled by keeping rats on a high-carbohydrate and high-fat diet (proteins 16 %, fats 21 %, carbohydrates 46 % (including fructose 17 %), cholesterol 0.125 %, cholic acid 0.5 %) for 12 weeks with replacement of drinking water with 20% fructose solution. Coronary occlusion-reperfusion was performed in vivo. The effect of chronic hypoxia and metabolic syndrome on myocardial infarct size was assessed.

Results. It was found that myocardial infarct size in rats after chronic continuous hypoxia was 38 % less than in animals of the control group. In rats which were kept on a high-carbohydrate and high-fat diet we observed the obesity, decreased glucose tolerance, increased serum triglycerides level, and hypertension. Adaptation to chronic continuous hypoxia in animals on a high-carbohydrate and high-fat diet improved carbohydrate metabolism, but did not affect the severity of other metabolic disorders. At the same time, the myocardial infarct size-limiting effect of chronic hypoxia was not observed in rats with metabolic syndrome.

Conclusion. Metabolic syndrome eliminated myocardial infarct size-limiting effect of chronic continuous hypoxia.

Key words: infarct, adaptation to hypoxia, metabolic syndrome, obesity

Received: 01.06.2022

Accepted: 04.08.2022

Published: 08.12.2022

For citation: Derkachev I.A. Development of cardioprotective effect of chronic continuous hypoxia in rats with induced metabolic syndrome. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 188-194. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.20

ОБОСНОВАНИЕ

В настоящее время, несмотря на успехи в кардиологии, смертность от острого инфаркта миокарда (ОИМ) не снижается и составляет около 5 % [1, 2]. В России показатель смертности от ОИМ в кардиологических клиниках составляет 6 % [3]. У пациентов с ОИМ и сахарным диабетом внутригоспитальная смертность составляет 8 % [2]. Отсутствие положительной динамики в снижении смертности от ОИМ оставляет актуальным вопрос поиска и исследования новых молекулярных мишеней, механизмов и способов защиты сердца от ишемических-реперфузионных повреждений. Не менее важной остаётся проблема трансляции результатов экспериментальных исследований в клиническую практику. Наличие у пациентов ожирения, нарушений углеводного и липидного обменов, артериальной гипертензии ставит вопрос о целесообразности исследования механизмов и способов кардиопротекции на здоровых животных.

Одним из важных направлений поиска новых способов защиты сердца является изучение молекулярных мишеней и механизмов феномена адаптации к хронической непрерывной гипоксии (ХНГ). Известно, что адаптация к ХНГ формирует длительный инфаркт-лимитирующий эффект, который сохраняется на протяжении пяти недель [4–6] NO-synthase (NOS). Таким образом, изучение природы данного явления способно предоставить перспективы для создания принципиально новых препаратов для профилактики ОИМ и внезапной сердечной смерти.

Возможность формирования повышенной толерантности сердца к ишемии-реперфузии (И/Р) при адаптации к ХНГ остаётся неизученной у животных с нарушением липидного и углеводного обменов, ожирением и гипертензией, которые принято объединять понятием «метаболический синдром» (MetC).

Таким образом, **цель данного исследования** – изучить эффективность реализации инфаркт-лимитирующего эффекта хронической непрерывной гипоксии у крыс с метаболическим синдромом.

МЕТОДЫ

Исследование было выполнено на 43 крысах-самках линии Вистар массой 250–300 г в соответствии с требованиями приказа № 755 от 12.08.1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», приказа № 742 от 13.11.1984 «Об утверждении Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и с соблюдением Хельсинкской конвенции по обращению с лабораторными животными. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 207 от 23.12.2020).

Крыс разделили случайным образом на четыре группы. Животных 1-й и 2-й групп содержали в условиях вивария на стандартной диете со свободным доступом к питьевой воде. Крысы 3-й и 4-й групп в течение 12 недель находились на высокоуглеводной высокожировой диете (ВУВЖД) с заменой питьевой воды на 20%-й раствор

фруктозы. Состав корма для ВУВЖД: белки 16 %, жиры 21 %, углеводы 46 % (в том числе фруктоза 17 %), холестерин 0,125 %, холиевая кислота 0,5 % [7, 8]. После окончания кормления животных в течение 7 дней содержали на стандартной диете и воде с целью устранить осмотический компонент повышения артериального давления, связанный с потреблением фруктозы.

Животных 1-й и 3-й групп (групп нормоксического контроля) содержали в стандартных условиях вивария. Крыс второй группы подвергали воздействию ХНГ в течение 3 недель (12 % O₂, 0,3 % CO₂) с использованием гипоксической камеры и оборудования «Био-Нова-204G4R1» (Био-Нова, Россия) с блоком управления МХ-32. Животных четвертой группы спустя 10 недель ВУВЖД помещали в гипоксическую камеру (12 % O₂, 0,3 % CO₂) и содержали на ВУВЖД ещё две недели. Последнюю неделю адаптации к ХНГ крысы получали стандартную диету и обычную питьевую воду. Адаптированных к гипоксии животных извлекали из гипоксической камеры за 24 ч до начала эксперимента.

Измерение давления проводили за день до эксперимента неинвазивным методом объёмной плетизмографии на хвосте прибором MP35 с системой измерения артериального давления NIBP200A (Biopac System Inc., Goleta, США). Глюкозотолерантный тест (ГТТ) проводили стандартным методом за день до моделирования инфаркта, вычисляли площадь под кривой (AUC, area under curve).

Для моделирования инфаркта миокарда выполняли коронароокклюзию с последующей реперфузией. Животных наркотизировали α-хлоролозой (60 мг/кг, внутривенно) и подключали к аппарату искусственного дыхания. Для выполнения коронароокклюзии вскрывали грудную клетку, сердце освобождали от перикарда и выводили за пределы грудной клетки наружу. Затем накладывали лигатуру на левую коронарную артерию в её верхней части на 45 мин. Реперфузия осуществлялась путём снятия лигатуры. Продолжительность реперфузии составляла 2 ч.

Для определения размера инфаркта сердце извлекали, канюлировали аорту, промывали физиологическим раствором, затем вновь накладывали лигатуру и вводили 5%-й раствор перманганата калия для отделения зоны гипоперфузии от интактного миокарда. После удаления перманганата калия левый желудочек рассекали на срезы толщиной 1 мм, которые окрашивали в 1%-м растворе 2,3,5-трифенилтетразолия при 37 °C в течение 30 мин и фиксировали в течение 24 ч в 10%-м растворе нейтрального формалина. Готовые срезы сканировали (Scanjet G2710), планиметрически определяли размеры зон некроза и зон риска (ишемии) с помощью программы Ellipse 2.02 (ViDiTo, Чешская республика). Величину инфаркта выражали процентным соотношением площади зоны некроза к зоне риска (ЗН/ЗР).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 13.0 (StatSoft Inc., США). Соответствие распределения нормальному закону оценивали по критерию Шапиро – Уилка. Проверку на гомогенность дисперсий производили с использованием критерия Левена. Данные представлены средним значе-

нием и стандартной ошибкой среднего ($M \pm SEM$). Для выявления статистически значимых различий использовали двухфакторный дисперсионный анализ (two way ANOVA) с последующим применением апостериорного критерия Тьюки или критерий Краскела – Уоллиса и апостериорный критерий Данна для парных сравнений. За критический уровень значимости принимали $p = 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

О сформировавшемся метаболическом синдроме у крыс судили по следующим критериям: увеличение массы тела, накопление абдоминального жира, повы-

шение артериального давления, нарушение углеводно-го и липидного обменов.

Установлено, что ВУВЖД приводила к статистически значимому увеличению массы тела крыс относительно контрольной группы. Помимо этого, наблюдали накопление брюшного жира, повышение уровней глюкозы и триглицеридов в крови, а также повышение систолического артериального давления (САД) (табл. 1). ГТТ продемонстрировал нарушение толерантности к глюкозе: AUC в группе животных с МетС была на 11 % выше по сравнению с данным показателем в контрольной группе. Масса сердца и его отделов, диастолическое артериальное давление (ДАД) и содержание холестерина в сыворотке крови в данной группе не отличались от контрольных значений.

ТАБЛИЦА 1

ВЛИЯНИЕ ИНДУЦИРОВАННОГО МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА НА РАЗМЕР ИНФАРКТА, МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРЫС, АДАПТИРОВАННЫХ К ХНГ ($M \pm SEM$)

TABLE 1

INFLUENCE OF INDUCED METABOLIC SYNDROME ON MYOCARDIAL INFARCT SIZE, MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF RATS ADAPTED TO CHRONIC CONTINUOUS HYPOXIA ($M \pm SEM$)

Показатели	Контроль (n = 10)	ХНГ (n = 12)	МетС (n = 11)	МетС + ХНГ (n = 10)
	1	2	3	4
Масса тела, г	265,6 $\pm$ 7,1	263,75 $\pm$ 6,47	301,73 $\pm$ 6,76 $p_1 = 0,0039$ $p_2 = 0,0014$	304,56 $\pm$ 7,47 $p_1 = 0,004$ $p_2 = 0,01$
Масса абдоминального жира, г	8,56 $\pm$ 0,80	9,28 $\pm$ 0,76	17,96 $\pm$ 1,59 $p_1 = 0,001^*$ $p_2 = 0,004^*$	18,62 $\pm$ 2,49 $p_1 = 0,004^*$ $p_2 = 0,01^*$
Масса миокарда, г	1,03 $\pm$ 0,04	1,08 $\pm$ 0,03	1,07 $\pm$ 0,02	1,16 $\pm$ 0,06
Масса правого желудочка, мг	209 $\pm$ 12	316 $\pm$ 13 $p_1 = 0,0017^*$	211 $\pm$ 8	323 $\pm$ 25 $p_1 = 0,003^*$ $p_3 = 0,004^*$
Масса левого желудочка, мг	819 $\pm$ 31	768 $\pm$ 23	857 $\pm$ 18	867 $\pm$ 34
САД, мм рт. ст	128,5 $\pm$ 2,4	128 $\pm$ 2,4	142,5 $\pm$ 3,1 $p_1 = 0,002$ $p_2 = 0,0011$	138,9 $\pm$ 1,9 $p_1 = 0,046$ $p_2 = 0,026$
ДАД, мм рт. ст	93,6 $\pm$ 2,7	94 $\pm$ 3	99,3 $\pm$ 2,8	105,6 $\pm$ 1,8 $p_1 = 0,029$ $p_2 = 0,027$
Глюкоза, мМоль/л	5,29 $\pm$ 0,09	5,11 $\pm$ 0,11	7,78 $\pm$ 0,18 $p_1 = 0,0037^*$ $p_2 < 0,001^*$	7,58 $\pm$ 0,41 $p_1 = 0,01^*$ $p_2 < 0,001^*$
Триглицериды, мМоль/л	1,30 $\pm$ 0,11	1,14 $\pm$ 0,1	1,98 $\pm$ 0,14 $p_1 = 0,0013$ $p_2 < 0,001$	1,84 $\pm$ 0,14 $p_1 = 0,026$ $p_2 = 0,0019$
Холестерин, мМоль/л	3,23 $\pm$ 0,19	3,22 $\pm$ 0,11	3,41 $\pm$ 0,24	3,21 $\pm$ 0,15
ГТТ (AUC), мМоль/л*мин	698 $\pm$ 10	684 $\pm$ 8	795 $\pm$ 17 $p_1 = 0,008^*$ $p_2 < 0,001^*$	694 $\pm$ 19 $p_3 = 0,0027^*$
Размер инфаркта, ЗН/ЗР, %	29,1 $\pm$ 3,2	18,0 $\pm$ 2,0 $p_1 = 0,042$	24,8 $\pm$ 3,1	22,1 $\pm$ 3,3

Примечание. * – тест Краскела – Уоллиса; в остальных случаях – two way ANOVA, апостериорный тест Тьюки.

Не было обнаружено статистически значимых различий размера инфаркта у группы МетС относительно контроля.

Адаптация к ХНГ приводила к гипертрофии правого желудочка по сравнению с группами нормоксического контроля. При моделировании коронароокклюзии-реперфузии размер инфаркта был на 38 % ниже, чем в контрольной группе (табл. 1). Статистически значимых различий биохимических параметров крови, величины артериального давления и показателя толерантности к глюкозе по сравнению с контролем обнаружено не было.

В группе животных, подвергшихся ХНГ на фоне МетС, наблюдали увеличение массы тела и абдоминального жира, а также гипертрофию правого желудочка сердца. Было отмечено повышение САД, ДАД, а также уровня глюкозы и триглицеридов. Помимо этого, наблюдалось снижение толерантности к глюкозе относительно группы МетС. Масса миокарда, левого желудочка и содержание холестерина в сыворотке крови не отличались от значений в контрольной группе. Размер инфаркта был на 12 % ниже по сравнению с группой МетС и на 24 % ниже по сравнению с контролем, однако статистически значимых различий обнаружено не было.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты данного исследования продемонстрировали, что ВУВЖД приводит к увеличению массы тела, ожирению, гипертензии, нарушениям липидного и углеводного обменов, что является признаком сформировавшегося МетС [7].

В данном исследовании мы не обнаружили статистически значимого снижения размера инфаркта миокарда у крыс с МетС. Это согласуется с данными, полученными в экспериментах на самцах крыс Вистар, получавших ВУВЖД, аналогичную используемой в данном исследовании [9]. Т. Thim и соавт. на самцах крыс линии Sprague – Dawley также продемонстрировали, что МетС не влияет на размер инфаркта [10]. В исследовании, проведенном на изолированных сердцах самцов крыс линии Вистар с МетС, также не было обнаружено влияния МетС на размер инфаркта [11]. Однако, по некоторым данным, содержание самцов крыс Вистар на высокоуглеводной диете способствует повышению толерантности сердца к И/Р [12]. Вместе с тем имеются сведения о том, что высокоуглеводная диета снижает устойчивость сердца к И/Р, что проявляется в увеличении размера инфаркта при коронароокклюзии-реперфузии [13]. Таким образом, данные о влиянии МетС на размер инфаркта противоречивы. Вероятно, это может быть связано с протоколом моделирования МетС и может зависеть от линии лабораторных животных.

Адаптация к ХНГ не оказывала влияния на антропометрические показатели тела и биохимические параметры крови крыс, однако наблюдалась выраженная гипертрофия правого желудочка, что является характерным эффектом при адаптации к гипоксии [14, 15]. Помимо этого, у крыс, подвергшихся хронической гипоксии, формиро-

вался выраженный инфаркт-лимитурующий эффект, описанный во многих работах [4, 6, 16, 17] NO-synthase (NOS).

У крыс, адаптированных к ХНГ и содержащихся на ВУВЖД, были выявлены: ожирение; повышение САД и ДАД; повышение уровней глюкозы и триглицеридов в сыворотке; гипертрофия правого желудочка. При этом толерантность к глюкозе была ниже, чем у неадаптированных к гипоксии крыс, что, по данным литературы, наблюдается при адаптации к ХНГ [18]. Очевидно, что ХНГ при ВУВЖД не препятствовала развитию МетС, однако улучшала углеводный метаболизм. Размер инфаркта при коронароокклюзии-реперфузии у крыс с МетС, адаптированных к ХНГ, статистически значимо не отличался от этого показателя в контрольной группе. По всей видимости, инфаркт-лимитурующий эффект ХНГ не проявляется в условиях МетС. Причиной нарушения формирования кардиопротекции может являться ослабление в условиях метаболического синдрома механизма развития микрососудистого русла, происходящее при адаптации к гипоксии под влиянием гипоксия-индуцированных факторов [19, 20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования демонстрируют, что кардиопротекторный эффект хронической непрерывной гипоксии не проявляется у крыс с метаболическим синдромом; причиной отсутствия кардиопротекции могут быть нарушения липидного и углеводного обмена.

Финансирование

В работе было использовано оборудование Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» Томского НИМЦ. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-15-00048). Исследование артериальной гипертензии при метаболическом синдроме выполнялись в рамках гос. задания 122020300042-4.

Выражение признательности

Автор выражает признательность Л.Н. Маслову и Н.В. Нарыжной за обсуждение представленных в статье данных.

Конфликт интересов

Автор данной статьи сообщает об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Megaly M, Pershad A, Glogoza M, Elbadawi A, Omer M, Saad M, et al. Use of intravascular imaging in patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction. *Cardiovasc Revasc Med.* 2021; 30: 59-64. doi: 10.1016/j.carrev.2020.09.032
2. Megaly M, Schmidt CW, Dworak MW, Garberich R, Stanberry L, Sharkey S, et al. Diabetic patients who present with ST-elevation myocardial infarction. *Cardiovasc Revasc Med.* 2022; 38: 89-93. doi: 10.1016/j.carrev.2021.08.003

3. Бессонов И.С., Кузнецов В.А., Горбатенко Е.А., Дьякова А.О., Сапожников С.С. Влияние общего времени ишемии миокарда на результаты лечения пациентов с острым инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST на электрокардиограмме. *Кардиология*. 2021; 61(2): 40-46. doi: 10.18087/cardio.2021.2.n1314
4. Tsubulnikov SY, Maslov LN, Naryzhnaya NV, Ma H, Lishmanov YB, Oeltgen PR, et al. Role of protein kinase C, PI3 kinase, tyrosine kinases, NO-synthase, KATP channels and MPT pore in the signaling pathway of the cardioprotective effect of chronic continuous hypoxia. *Gen Physiol Biophys*. 2018; 37(5): 537-547. doi: 10.4149/gpb_2018013
5. Neckár J, Ostádal B, Kolár F. Myocardial infarct size-limiting effect of chronic hypoxia persists for five weeks of normoxic recovery. *Physiol Res*. 2004; 53(6): 621-628.
6. Нарыжная Н.В., Маслов Л.Н., Деркачев И.А., Фу Ф. О значимости по-синтазы, активных форм кислорода, киназ и катф-каналов в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта адаптации к гипоксии. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2022; 108(4): 414-429. doi: 10.31857/S0869813922040069
7. Logvinov SV, Naryzhnaya NV, Kurbatov BK, Gorbunov AS, Birulina YG, Maslov LN, et al. High carbohydrate high fat diet causes arterial hypertension and histological changes in the aortic wall in aged rats: The involvement of connective tissue growth factors and fibronectin. *Exp Gerontol*. 2021; 154: 111543. doi: 10.1016/j.exger.2021.111543
8. Нарыжная Н.В., Бирюлина Ю.Г., Курбатов Б.К., Сиротина М.С., Маслов Л.Н. Возрастные особенности формирования инсулинорезистентности организма и чувствительности к инсулину адипоцитов у крыс при индуцированном метаболическом синдроме. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2021; 36(3): 119-126. doi: 10.29001/2073-8552-2021-36-3-119-126
9. Нарыжная Н.В., Логвинов С.В., Курбатов Б.К., Мухомедзянов А.В., Сиротина М.А., Чепелев С.Н., и др. Эффективность дистантного ишемического посткондиционирования миокарда у крыс с индуцированным метаболическим синдромом зависит от уровня лептина. *Известия Национальной академии наук Беларуси*. 2022; 19(1): 38-47.
10. Thim T, Bentzon JF, Kristiansen SB, Simonsen U, Andersen HL, Wassermann K, et al. Size of myocardial infarction induced by ischaemia/reperfusion is unaltered in rats with metabolic syndrome. *Clin Sci*. 2006; 110(6): 665-671. doi: 10.1042/CS20050326
11. Mozaffari MS, Schaffer SW. Myocardial ischemic-reperfusion injury in a rat model of metabolic syndrome. *Obesity*. 2008; 16(10): 2253-2258. doi: 10.1038/oby.2008.356
12. Donner D, Headrick JP, Peart JN, du Toit EF. Obesity improves myocardial ischaemic tolerance and RISK signalling in insulin-insensitive rats. *Dis Model Mech*. 2013; 6(2): 457-466. doi: 10.1242/dmm.010959
13. Maarman G, Marais E, Lochner A, du Toit EF. Effect of chronic CPT-1 inhibition on myocardial ischemia-reperfusion injury (I/R) in a model of diet-induced obesity. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2012; 26(3): 205-216. doi: 10.1007/s10557-012-6377-1
14. Нарыжная Н.В., Воронков Н.С., Скрыбина А.А., Бушов Ю.В., Маслов Л.Н. Роль микроРНК, NO-синтаз, киназ, КАТФ-каналов в инфаркт-лимитирующем эффекте адаптации к гипоксии. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2020; 106(1): 3-16. doi: 10.31857/S0869813920010112

15. Нарыжная Н.В., Мухомедзянов А.В., Цибульников С.Ю., Маслов Л.Н. Рецепторный механизм инфаркт-лимитирующего эффекта адаптации к нормобарической гипоксии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19(4): 138-142. doi: 10.20538/1682-0363-2020-4-138-142
16. Лишманов Ю.Б., Нарыжная Н.В., Цибульников С.Ю., Wang H., Маслов Л.Н. Роль АТФ-зависимых К⁺-каналов в инфаркт-лимитирующем действии хронической непрерывной нормобарической гипоксии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2017; 163(1): 28-31. doi: 10.1007/s10517-017-3728-8
17. Naryzhnaya NV, Ma H-J, Maslov LN. The involvement of protein kinases in the cardioprotective effect of chronic hypoxia. *Physiol Res*. 2020; 69(6): 933-945. doi: 10.33549/physiolres.934439
18. Villafuerte FC, Macarlupu JL, Rojas P, Anza C, Gamboa JL. Chronic hypoxia decreases fasting glucose and improves glucose tolerance in obese rats. *FASEB J*. 2012; 26(1): 1150.6-1150.6. doi: 10.1096/fasebj.26.1_supplement.1150.6
19. Semenza GL. Angiogenesis in ischemic and neoplastic disorders. *Annu Rev Med*. 2003; 54: 17-28. doi: 10.1146/annurev.med.54.101601.152418
20. Liu T, Wu Z, Liu J, Lv Y, Li W. Metabolic syndrome and its components reduce coronary collateralization in chronic total occlusion: An observational study. *Cardiovasc Diabetol*. 2021; 20(1): 104. doi: 10.1186/s12933-021-01297-4

REFERENCES

1. Megaly M, Pershad A, Glogoza M, Elbadawi A, Omer M, Saad M, et al. Use of intravascular imaging in patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction. *Cardiovasc Revasc Med*. 2021; 30: 59-64. doi: 10.1016/j.carrev.2020.09.032
2. Megaly M, Schmidt CW, Dworak MW, Garberich R, Stanberry L, Sharkey S, et al. Diabetic patients who present with ST-elevation myocardial infarction. *Cardiovasc Revasc Med*. 2022; 38: 89-93. doi: 10.1016/j.carrev.2021.08.003
3. Bessonov IS, Kuznetsov VA, Gorbatenko EA, Dyakova AO, Sapozhnikov SS. Influence of total ischemic time on clinical outcomes in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Kardiologiya*. 2021; 61(2): 40-46. (In Russ.). doi: 10.18087/cardio.2021.2.n1314
4. Tsubulnikov SY, Maslov LN, Naryzhnaya NV, Ma H, Lishmanov YB, Oeltgen PR, et al. Role of protein kinase C, PI3 kinase, tyrosine kinases, NO-synthase, KATP channels and MPT pore in the signaling pathway of the cardioprotective effect of chronic continuous hypoxia. *Gen Physiol Biophys*. 2018; 37(5): 537-547. doi: 10.4149/gpb_2018013
5. Neckár J, Ostádal B, Kolár F. Myocardial infarct size-limiting effect of chronic hypoxia persists for five weeks of normoxic recovery. *Physiol Res*. 2004; 53(6): 621-628.
6. Naryzhnaya NV, Maslov LN, Derkach IA, Fu F. On the significance of NO-Synthase, reactive oxygen species, kinases and KATP -channels in the development of the infarct-limiting effect of adaptation to hypoxia. *Russian Journal of Physiology*. 2022; 108(4): 414-429. (In Russ.). doi: 10.31857/S0869813922040069
7. Logvinov SV, Naryzhnaya NV, Kurbatov BK, Gorbunov AS, Birulina YG, Maslov LN, et al. High carbohydrate high fat diet causes arterial hypertension and histological changes in the aortic wall in aged rats: The involvement of connective tissue growth factors

and fibronectin. *Exp Gerontol.* 2021; 154: 111543. doi: 10.1016/j.exger.2021.111543

8. Naryzhnaya NV, Birulina YuG, Kurbatov BK, Sirotina MA, Maslov LN. Age-related features of developing insulin resistance and adipocyte sensitivity to insulin in rats with induced metabolic syndrome. *The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine.* 2021; 36(3): 119-126. (In Russ.). doi: 10.29001/2073-8552-2021-36-3-119-126

9. Naryzhnaya NV, Logvinov SV, Kurbatov BK, Mukhomedyanov AV, Sirotina MA, Chepelev SN, et al. The efficiency of remote ischemic postconditioning of the myocardium in rats with induced metabolic syndrome depends on the leptin level. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Medical series.* 2022; 19(1): 38-47. (In Russ.).

10. Thim T, Bentzon JF, Kristiansen SB, Simonsen U, Andersen HL, Wassermann K, et al. Size of myocardial infarction induced by ischaemia/reperfusion is unaltered in rats with metabolic syndrome. *Clin Sci.* 2006; 110(6): 665-671. doi: 10.1042/CS20050326

11. Mozaffari MS, Schaffer SW. Myocardial ischemic-reperfusion injury in a rat model of metabolic syndrome. *Obesity.* 2008; 16(10): 2253-2258. doi: 10.1038/oby.2008.356

12. Donner D, Headrick JP, Peart JN, du Toit EF. Obesity improves myocardial ischaemic tolerance and RISK signalling in insulin-insensitive rats. *Dis Model Mech.* 2013; 6(2): 457-466. doi: 10.1242/dmm.010959

13. Maarman G, Marais E, Lochner A, du Toit EF. Effect of chronic CPT-1 inhibition on myocardial ischemia-reperfusion injury (I/R) in a model of diet-induced obesity. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2012; 26(3): 205-216. doi: 10.1007/s10557-012-6377-1

14. Naryzhnaya NV, Voronkov NS, Skryabina AA, Bushov YuV, Maslov LN. The role of microRNAs, NO synthases, kinases, KATP channels in the infarction-limiting effect of adaptation to hypoxia. *Russian Journal of Physiology.* 2020; 106(1): 3-16. (In Russ.). doi: 10.31857/S0869813920010112

15. Naryzhnaya NV, Mukhomedyanov AV, Tsibulnikov SYu, Maslov LN. Receptor mechanism of infarct-limiting effect of adaptation to normobaric hypoxia. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2020; 19(4): 138-142. (In Russ.). doi: 10.20538/1682-0363-2020-4-138-142

16. Lishmanov YB, Naryzhnaya NV, Tsibulnikov SY, Wang H, Maslov LN. Role of ATP-sensitive K⁺ channels in myocardial infarct size-limiting effect of chronic continuous normobaric hypoxia. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2017; 163(1): 28-31. (In Russ.). doi: 10.1007/s10517-017-3728-8

17. Naryzhnaya NV, Ma H-J, Maslov LN. The involvement of protein kinases in the cardioprotective effect of chronic hypoxia. *Physiol Res.* 2020; 69(6): 933-945. doi: 10.33549/physiolres.934439

18. Villafuerte FC, Macarlupu JL, Rojas P, Anza C, Gamboa JL. Chronic hypoxia decreases fasting glucose and improves glucose tolerance in obese rats. *FASEB J.* 2012; 26(1): 1150.6-1150.6. doi: 10.1096/fasebj.26.1_supplement.1150.6

19. Semenza GL. Angiogenesis in ischemic and neoplastic disorders. *Annu Rev Med.* 2003; 54: 17-28. doi: 10.1146/annurev.med.54.101601.152418

20. Liu T, Wu Z, Liu J, Lv Y, Li W. Metabolic syndrome and its components reduce coronary collateralization in chronic total occlusion: An observational study. *Cardiovasc Diabetol.* 2021; 20(1): 104. doi: 10.1186/s12933-021-01297-4

Сведения об авторе

Деркачев Иван Андреевич – аспирант, младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной кардиологии, Научно-исследовательский институт кардиологии, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», e-mail: vanya.derkachev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1998-0873>

Information about the author

Ivan A. Derkachev – Postgraduate, Junior Research Officer at the Laboratory of Experimental Cardiology, Research Institute of Cardiology, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Science, e-mail: vanya.derkachev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1998-0873>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ГЛУТАТИОНОВОЙ СИСТЕМЫ У ЖЕНЩИН БУРЯТСКОГО ЭТНОСА С ИНСОМНИЕЙ В КЛИМАКТЕРИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ

Лесная А.С.,
Семёнова Н.В.,
Мадаева И.М.,
Колесникова Л.И.

ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Лесная Анастасия Сергеевна,
e-mail: tasi121212@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценить функциональное состояние глутатионовой системы у женщин бурятского этноса с инсомнией в климактерическом периоде.

Методы. В исследовании участвовали 94 женщины в возрасте от 45 до 60 лет в перименопаузе ($n = 44$) и постменопаузе ($n = 50$) с инсомническими нарушениями (основные группы) и без таковых (контроль). Уровень восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона определяли в лизате эритроцитов, концентрацию глутатион-S-трансферазы и активность глутатионредуктазы – в сыворотке крови.

Результаты. У женщин с инсомнией в обеих фазах климактерия установлено повышение уровня GSH ($p < 0.05$) с одновременным увеличением соотношения GSH/GSSG ($p < 0.05$) без каких-либо различий в параметрах глутатион-зависимых ферментов. Сравнительный анализ основных групп показал увеличение соотношения GSH/GSSG ($p < 0.05$) в постменопаузальном периоде по сравнению с перименопаузой.

Заключение. Учитывая активацию глутатионového звена у женщин бурятского этноса с инсомнией в менопаузе, назначение препаратов глутатионového ряда для коррекции у них свободнорадикального гомеостаза не может быть рекомендовано.

Ключевые слова: глутатион, глутатионредуктаза, глутатион-S-трансфераза, инсомния, менопауза, этнос

Статья поступила: 07.07.2022

Статья принята: 12.09.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Лесная А.С., Семёнова Н.В., Мадаева И.М., Колесникова Л.И. Функциональное состояние глутатионовой системы у женщин бурятского этноса с инсомнией в климактерическом периоде. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 195-202. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.21

FUNCTIONAL STATE OF GLUTATHIONE SYSTEM IN MENOPAUSAL WOMEN OF THE BURYAT ETHNIC GROUP WITH INSOMNIA

Lesnaya A.S.,
Semenova N.V.,
Madaeva I.M.,
Kolesnikova L.I.

Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Anastasia S. Lesnaya,
e-mail: tasi121212@mail.ru

ABSTRACT

The aim of the study was to assess the functional state of glutathione system in menopausal women of the Buryat ethnic group with insomnia.

Methods. The study involved 94 women aged 45 to 60 years who were divided into perimenopause ($n = 44$) and postmenopause ($n = 50$) groups. In each period, a control group and an insomniac group were identified. The reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione levels in erythrocyte lysate, the glutathione-S-transferase π concentration and glutathione reductase activity in blood serum were determined.

Results. An increase of the GSH level ($p < 0.05$) and GSH/GSSG ratio ($p < 0.05$) both in perimenopausal and postmenopausal women with insomnia were found as compared to controls. There were no differences in the glutathione-dependent enzymes parameters. Comparative analysis of the main groups showed an increase GSH/GSSG ratio ($p < 0.05$) in the postmenopausal period compared with perimenopause.

Conclusion. The study results demonstrate the glutathione link activation in Buryat menopausal women with insomnia. In this regard, the appointment of glutathione preparations for the correction of free radical homeostasis in these groups of women cannot be recommended.

Key words: glutathione, glutathione reductase, glutathione-S-transferase, insomnia, menopause, ethnicity

Received: 07.07.2022
Accepted: 12.09.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Lesnaya A.S., Semenova N.V., Madaeva I.M., Kolesnikova L.I. Functional state of glutathione system in menopausal women of the Buryat ethnic group with insomnia. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 195-202. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.21

ВВЕДЕНИЕ

У каждого человека в течение жизни происходит смена функциональных состояний репродуктивной системы, которые выделяют в отдельные физиологические периоды. У женщин основополагающим этапом гериатрических изменений в репродуктивной системе и в организме в целом является период климактерия, который сопровождается интенсификацией процессов свободнорадикального окисления, в связи с чем является фактором риска развития окислительного и карбонильного стрессов [1, 2]. Отличительной чертой климактерического периода являются гормонально-метаболические изменения, в результате чего могут сформироваться сердечно-сосудистые, эндокринные, вегетативные, психоэмоциональные и метаболические нарушения, а также расстройства сна. Проблемы со сном в климактерии возникают у каждой третьей женщины, а одной из наиболее встречаемых сомнологических патологий является инсомния [3]. Наличие инсомнии может сопровождаться дополнительной окислительной нагрузкой, нарастающей по мере длительности климактерия и приводящей к отягощению климактерического синдрома [4–7].

Многими исследованиями установлена специфичность процессов свободнорадикального окисления для разных этнических групп, а как известно, данные процессы являются важнейшим компонентом адаптивных реакций, изменение которых может указывать на срыв адаптационных процессов или на активацию адаптационных возможностей у представителей разных этносов [8–13]. Этнический аспект течения окислительных процессов может быть связан с различиями в деятельности системы антиоксидантной защиты (АОЗ), функционирование которой может быть генетически детерминировано [14]. Существенный вклад в АОЗ вносит система глутатиона, компоненты которой участвуют практически во всех этапах защиты от окислительного стресса, при этом однозначных данных о функционировании глутатионовой системы у пациентов с инсомнией нет. Так, показано снижение активности глутатионпероксидазы без различий по уровню глутатиона в группе пациентов репродуктивного возраста, но без разделения по полу [5, 6], хотя половые гормоны статистически значимо влияют на антиоксидантный статус, в частности на состояние глутатионовой системы [15]. В другом исследовании у пациенток, имеющих постменопаузальный статус, в 63 % случаев выявлен контрольный уровень глутатиона [4], при этом не определялся более полный спектр параметров глутатионовой системы, в том числе соотношение форм глутатиона (GSH/GSSG), хотя именно данный показатель представляется основным при оценке редокс-статуса [16]. В исследовании с участием женщин европеоидной расы, имеющих перименопаузальный статус, выявлены более высокая активность глутатионредуктазы, снижение уровня окисленного глутатиона и соотношения GSH/GSSG у пациенток с инсомнией в перименопаузе без каких-либо различий в постменопаузе [17]. Принимая во внимание малочисленность и неоднозначность

проведённых исследований по оценке глутатионового статуса у женщин с инсомнией в менопаузе, участие в данных исследованиях женщин европеоидной расы, а также этносpezifичность процессов свободнорадикального окисления, была определена цель настоящей работы – оценить функциональное состояние глутатионовой системы у женщин бурятского этноса с инсомнией в климактерическом периоде.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование было проведено на базе ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (Иркутск) в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964 г., последний пересмотр – Форталеа, Бразилия, 2013 г.). Каждая женщина подписала информированное согласие на участие в проводимом исследовании, протокол которого был одобрен Комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (протокол № 8 от 15.12.2016).

Дизайн исследования состоял из 3 этапов: клиническо-анамнестического, сомнологического и лабораторного. На первом этапе был собран анамнез испытуемых; все женщины прошли общеклиническое обследование, в том числе осмотр гинеколога, а также установление этнической принадлежности, которую определяли на основании генеалогического анамнеза (два поколения родителей одной этнической группы) и самоидентификации с учётом элементов фенотипа. По результатам гинекологического обследования женщины были разделены на группы перименопаузы и постменопаузы. Отнесение женщин в одну из групп климактерического периода осуществлялось согласно клиническими рекомендациям [18].

Второй этап включал выявление инсомнических расстройств методом анкетного опроса с использованием шкалы сонливости Эпворта (ESS, Epworth Sleepiness Scale) [19]; теста для оценки субъективной тяжести инсомнии (ISI, Insomnia Severity Index) [20]. Для определения хронотипа использовали Мюнхенский тест (MCTQ, Munich Chronotype Questionnaire) [21]. Вспомогательными критериями для включения женщин в основные группы были жалобы на нарушение сна в течение 6 и более месяцев, повторяющиеся от 4 ночей в неделю, в виде затруднённого засыпания (более 20 мин от момента включения света) и частых ночных пробуждений (не менее 2–3 эпизодов за ночь) [22]. Для верификации синдрома обструктивного апноэ сна женщинам с жалобами на храп проводили диагностику нарушения дыхания во сне методом полисомнографии. Полисомнографическое исследование осуществлялось по стандартной методике с использованием системы GRASS-TELEFACTOR Twin PSG (Comet, США) с усилителем As 40 с интегрированным модулем для сна SPM-1 (США).

Критериями не включения женщин в исследование были: заболевания эндокринного генеза; ожирение; обострение хронических заболеваний; применение заме-

стительной гормональной терапии; преждевременная ранняя менопауза; хирургическая менопауза; наличие хронических нарушений сна в анамнезе; применение гипнотиков в течение последних двух недель; «вечерний» хронотип; работа по сменам; синдрома обструктивного апноэ сна.

В конечном итоге в зависимости от стадии менопаузы и наличия инсомнических расстройств женщины были разделены на две контрольные и две основные группы: перименопауза, контроль ($n = 18$); перименопауза, инсомния ($n = 26$); постменопауза, контроль ($n = 16$); постменопауза, инсомния ($n = 34$).

На третьем этапе испытуемым были проведены исследования показателей системы глутатиона. В качестве материала для исследований использовали сыворотку крови и лизат эритроцитов. Забор крови осуществляли в пробирку без наполнителя (для получения сыворотки) и в пробирку VACUETTE K3EDTA (для последующего приготовления лизата) из локтевой вены натощак, с 8 до 9 часов утра в соответствии с общепринятыми требованиями. Пробирки центрифугировали при 3000 об./мин в течение 5 минут. Из пробирки, не содержащей наполнителя, отбирали сыворотку. Из пробирки VACUETTE K3EDTA удаляли плазму и готовили эритроцитарную массу путём двойной отмывки эритроцитов физраствором. К 0,5 мл полученной эритроцитарной массы добавляли 4,5 мл $H_2O_{дист.}$, тщательно перемешивали. Сыворотку и лизат эритроцитов хранили при $-40^\circ C$.

Лабораторный этап включал исследование параметров системы глутатиона, а именно: оценку восстановленного (GSH), окисленного (GSSG) глутатиона и расчёт их соотношения, а также измерение содержания глутатион-S-трансферазы π и активности глутатионредуктазы. Оценка восстановленного и окисленного глутатиона проводили в лизате эритроцитов по методике P.Y. Hissin, R. Hilf [23]. Измерения проводились на спектрофлуориметре «Флюорат 02-АБФФ-Т» (Россия) при $\lambda_{ex} = 350$ нм и $\lambda_{em} = 420$ нм. Концентрацию GSH и GSSG выражали в ммоль/л. Соотношение GSH/GSSG рассчитывали методом деления показателя GSH на показатель GSSG у каждого человека. Содержание глутатион-S-трансферазы π оценивали в сыворотке крови на коммерческих наборах фирмы Immundiagnostik (Германия). Измерения проводили на иммуноферментном анализаторе ELx808 (BioTek, США) при $\lambda = 450$ нм. Содержание глутатион-S-трансферазы π представлено в нг/мл. Активность глутатионредуктазы проводили в сыворотке крови с использованием коммерческого набора фирмы RANDOX (Великобритания). Измерение проводили на спектрофотометре BTS-350 (BioSystems, Испания) при $\lambda = 340$ нм. Активность глутатионредуктазы выражали в Е/л.

Статистическую обработку данных проводили с помощью специализированного пакета статистических и прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Проверка нормальности распределения количественных признаков осуществлялась с помощью критериев Колмогорова – Смирнова с поправкой Лилли-

ефорса и Шапиро – Уилка, а также визуально-графическим методом. Данные, близкие к нормальному распределению, представлены в виде среднего арифметического $\pm$ стандартное отклонение ($m \pm \sigma$); данные, отличные от нормального распределения, представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q1; Q3). Для показателей, соответствовавших закону нормального распределения, анализ межгрупповых различий проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим сравнением групп по t-критерию Стьюдента (t-test). Для показателей, не соответствующих нормальному распределению, анализ межгрупповых различий для независимых выборок проводили с использованием критерия Краскела – Уоллиса (Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks) и медианного теста (Median test) с последующими апостериорными сравнениями с использованием критерия Манна – Уитни (Mann – Whitney U-Test). Критический уровень значимости принимался за 5 % ($p = 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В показателях компонентов глутатионовой системы установлено повышение уровня GSH у женщин с инсомнией в обеих фазах климактерия с одновременным увеличением соотношения GSH/GSSG в этих группах, что указывает на проявление адаптационных возможностей у пациенток. Наравне с этим, у женщин с инсомнией между фазами климактерия было отмечено увеличение соотношения GSH/GSSG в постменопаузальном периоде. В связи с этим можно предположить, что адаптационные возможности женщин бурятского этноса в климактерии не только проявляются при инсомнии, но и возрастают по мере длительности климактерического периода (рис. 1). В параметрах глутатион-зависимых ферментов статистически значимых различий выявлено не было (рис. 2).

Анализ полученных результатов позволяет предположить, что повышение уровня GSH может происходить на фоне изменения интенсивности свободнорадикального окисления у женщин бурятского этноса, которое может увеличиваться как при наступлении у них климактерия [12], так и при наличии инсомнии в этом периоде [24]. Стоит отметить, что ведущую роль в развитии окислительно-восстановительного дисбаланса и инсомнических расстройств отводят гормону мелатонину, участвующему в регуляции цикла «сон – бодрствование» и проявляющего достаточно сильные антиоксидантные свойства [25]. Измерение его уровня у женщин бурятского этноса с инсомнией в период климактерия показало снижение общей концентрации гормона как в пери-, так и в постменопаузе, что может существенно отражаться на развитии окислительного стресса и выраженности инсомнических расстройств в данном периоде. Математическая обработка полученных данных установила, что показатель уровня гормона является наиболее информативным параметром у рассматриваемой группы женщин [24].

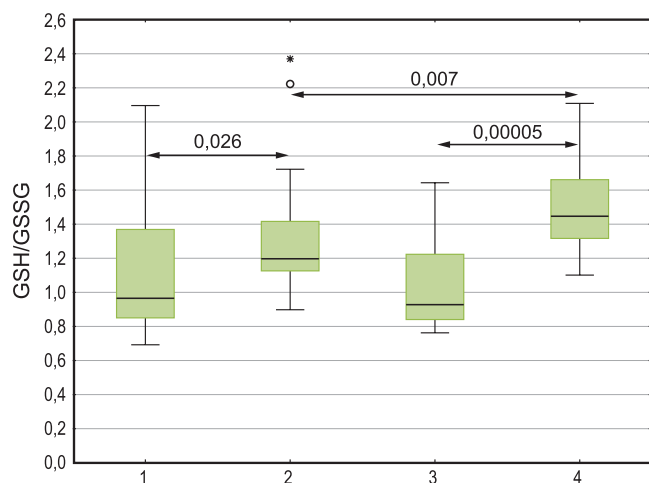
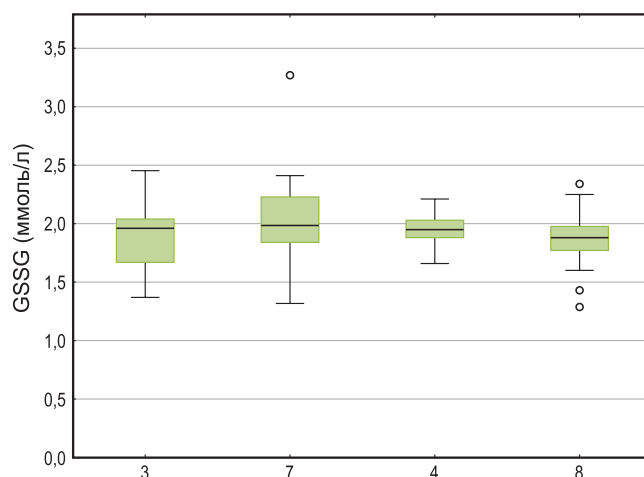
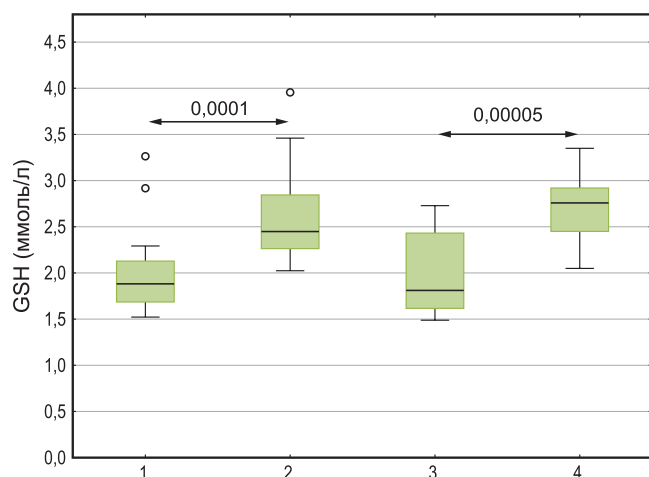


РИС. 1.

Уровни восстановленного и окисленного глутатиона и их соотношение в исследуемых группах: 1 – перименопауза, контроль; 2 – перименопауза, инсомния; 3 – постменопауза, контроль; 4 – постменопауза, инсомния; ° – выбросы; * – крайние значения

FIG. 1.

Levels of reduced and oxidized glutathione and their ratio in the study groups: 1 – perimenopause, control; 2 – perimenopause, insomnia; 3 – postmenopause, control; 4 – postmenopause, insomnia; ° – outlying cases; * – sample extremes

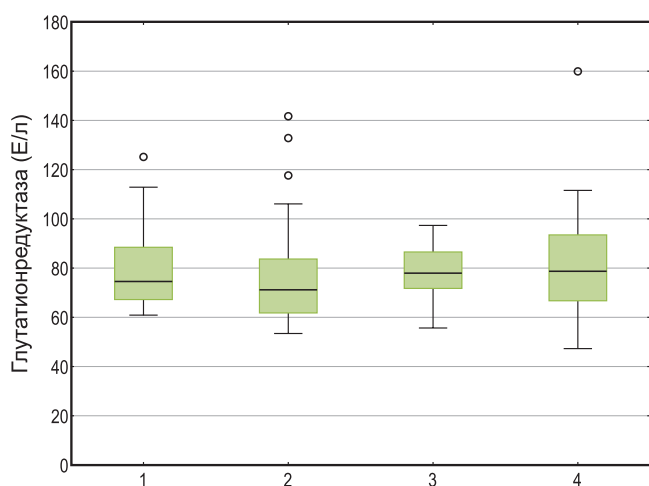


РИС. 2.

Параметры ферментативного звена глутатионовой системы в исследуемых группах: 1 – перименопауза, контроль; 2 – перименопауза, инсомния; 3 – постменопауза, контроль; 4 – постменопауза, инсомния; ° – выбросы

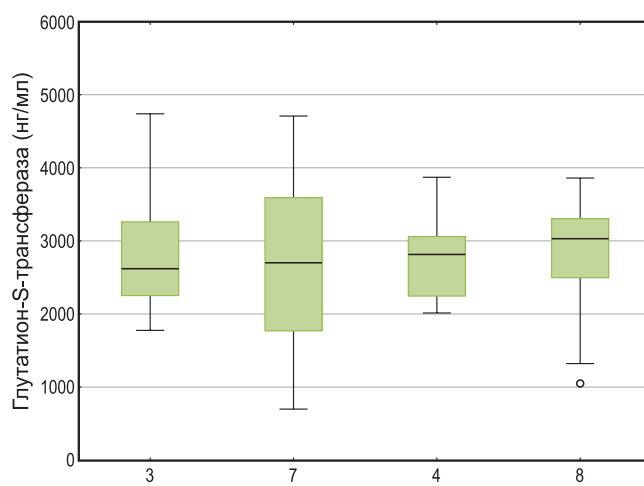


FIG. 2.

Parameters of enzymes of the glutathione system in the studied groups: 1 – perimenopause, control; 2 – perimenopause, insomnia; 3 – postmenopause, control; 4 – postmenopause, insomnia; ° – outlying cases

Принимая во внимание этноспецифичность характера свободнорадикального окисления, изменение метаболических реакций при смене функциональных состояний может отражать адаптивную или дизадаптивную направленность процессов свободнорадикально-

го окисления в разных этнических группах. Ранее было показано, что у представительниц бурятского этноса как в пери-, так и в постменопаузе по сравнению с репродуктивным периодом отмечено снижение субстратов и первичных продуктов липопероксидации; при этом

в системе АОЗ наблюдается снижение уровня жирорастворимых витаминов [12]. В связи с этим у исследуемой группы, вероятно, этнически обусловлена большая ёмкость антиоксидантной системы, определяющая устойчивый антиоксидантный ответ на активацию свободно-радикальных процессов. Активный антиоксидантный ответ подразумевает у них наличие генетических детерминант антиоксидантного звена, сформировавшихся в процессе адаптации к условиям окружающей среды. Одним из генетически детерминированных звеньев системы АОЗ является глутатион-S-трансфераза π , генетическая варибельность генов которой проявляется в различной ферментативной активности соответствующего белкового продукта. Исследование на подростках бурятского этноса показало преобладание аллеля «дикого» типа А, кодирующего вариант глутатион-S-трансферазы π с высокой активностью в этногруппе бурят, в то время как аллель В, продуктом которого является вариант фермента с низкой активностью, напротив, чаще встречается в русской этнической группе, что, возможно, является результатом адаптации у бурятского населения [26].

В таком случае специфично высокий антиоксидантный ответ у женщин бурятского этноса, показанный в настоящем исследовании, объясним, поскольку буряты являются одной из крупнейших коренных групп Восточной Сибири, а как известно, коренное население в течение жизни многих поколений испытывает комплексное воздействие целого ряда факторов климатического и геофизического характера, что предполагает у них выработанную и устоявшуюся адаптацию важнейших систем организма к неблагоприятным условиям окружающей среды. Вероятно, именно с процессами адаптации связано наиболее благоприятное течение некоторых патологических процессов у коренного населения по сравнению с пришлым [27, 28]. Одним из таких патологий может быть инсомния, что согласуется с результатами нашего исследования. В результате у женщин бурятского этноса в менопаузе с инсомнией повышение глутатионового антиоксидантного статуса может быть адаптивным ответом на интенсификацию процессов свободно-радикального окисления.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По данным настоящего исследования, у женщин бурятского этноса с инсомнией в климактерическом периоде выявлено увеличение показателей восстановленного глутатиона и соотношения восстановленного глутатиона к окисленному в обеих фазах климактерия. Наравне с этим, соотношение форм глутатиона увеличивалось в основных группах по мере длительности климактерия. Изменение функционального состояния глутатионового звена при наличии инсомнии в климактерическом периоде демонстрирует проявление адаптационных возможностей у женщин монголоидной расы, бурятской этнической группы. Полученные в ходе проведённого исследования результаты могут быть использованы при выборе тактики комплексной терапии инсомнических наруше-

ний у женщин в менопаузе для коррекции свободно-радикального гомеостаза и профилактики окислительного стресса. Учитывая активацию глутатионового звена в данной группе пациенток, назначение препаратов глутатионового ряда не может быть рекомендовано.

Данная работа выполнена в рамках НИР ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Иркутск).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sanchez-Rodriguez MA, Zacarias-Flores M, Arronte-Rosales A, Correa-Munoz E, Mendoza-Nunez VM. Menopause as risk factor for oxidative stress. *Menopause*. 2012; 19(3): 361-367. doi: 10.1097/gme.0b013e318229977d
2. Бричагина А.С., Семёнова Н.В., Колесникова Л.И. Возрастная менопауза и карбонильный стресс. *Успехи геронтологии*. 2022; 35(2): 206-213. doi: 10.34922/AE.2022.35.2.004
3. Gava G, Orsili I, Alvisi S, Mancini I, Seracchioli R, Merigiola MC. Cognition, mood and sleep in menopausal transition: The role of menopause hormone therapy. *Medicina (Kaunas)*. 2019; 55(10): 668. doi: 10.3390/medicina55100668
4. Hachul de Campos H, Brandao LC, D'Almeida V, Grego BH, Bittencourt LR, Tufik S, et al. Sleep disturbances, oxidative stress and cardiovascular risk parameters in postmenopausal women complaining of insomnia. *Climacteric*. 2006; 9(4): 312-319. doi: 10.1080/13697130600871947
5. Gulec M, Ozkol H, Selvi Y, Tuluce Y, Aydin A, Besiroglu L, et al. Oxidative stress in patients with primary insomnia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012; 37(2): 247-251. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.02.011
6. Liang B, Li YH, Kong H. Serum paraoxonase, arylesterase activities and oxidative status in patients with insomnia. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013; 17(18): 2517-2522.
7. Колесникова Л.И., Семёнова Н.В., Солодова Е.И., Мадаева И.М. Окислительный стресс у женщин с инсомнией в разных фазах климактерического периода. *Терапевтический архив*. 2017; 89(8): 50-56. doi: 10.17116/terarkh201789850-56
8. Lammertyn L, Mels CM, Pieters M, Schutte AE, Schutte R. Ethnic-specific relationships between haemostatic and oxidative stress markers in black and white South Africans: The SABPA study. *Clin Exp Hypertens*. 2015; 37(6): 511-517. doi: 10.3109/10641963.2015.1013123
9. Даренская М.А., Колесникова Л.И., Колесников С.И. *Этнические аспекты метаболических реакций женщин при дисрегуляторной патологии*. М.: Российская академия наук; 2020.
10. Mokhaneli MC, Fourie CM, Botha S, Mels CM. The association of oxidative stress with arterial compliance and vascular resistance in a bi-ethnic population: The SABPA study. *Free Radic Res*. 2016; 50(8): 920-928. doi: 10.1080/10715762.2016.1201816
11. Morris AA, Zhao L, Patel RS, Jones DP, Ahmed Y, Stoyanova N, et al. Differences in systemic oxidative stress based on race and the metabolic syndrome: The Morehouse and Emory Team

up to Eliminate Health Disparities (META-Health) study. *Metab Syndr Relat Disord*. 2012; 10(4): 252-259. doi: 10.1089/met.2011.0117

12. Семёнова Н.В., Мадаева И.М., Даренская М.А., Колесникова Л.И. Процессы липопероксидации и система антиоксидантной защиты у женщин в менопаузе в зависимости от этнической принадлежности. *Экология человека*. 2019; 6: 30-38. doi: 10.33396/1728-0869-2019-6-30-38

13. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Гребенкина Л.А., Лабыгина А.В., Долгих М.И., Натяганова Л.В., и др. Проблемы этноса в медицинских исследованиях (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2013; 4(92): 153-159.

14. Никитина О.А., Даренская М.А., Семёнова Н.В., Колесникова Л.И. Система антиоксидантной защиты: регуляция метаболических процессов, генетические детерминанты, методы определения. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2022; 42(3): 4-17.

15. Wang L, Ahn YJ, Asmis R. Sexual dimorphism in glutathione metabolism and glutathione-dependent responses. *Redox Biol*. 2020; 31: 101410. doi: 10.1016/j.redox.2019.101410

16. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. *Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания*. Новосибирск: м Сибирское университетское издательство; 2017.

17. Семёнова Н.В., Мадаева И.М., Бричагина А.С., Колесников С.И., Колесникова Л.И. Глутатионовый компонент антиоксидантного статуса у женщин с инсомнией в менопаузе. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2022; 173(6): 765-769. doi: 10.47056/0365-9615-2022-173-6-765-769

18. Сухих Г.Т., Сметник В.П., Юренева С.В., Ермакова Е.И., Чернуха Г.Е., Якушевская О.В. *Менопауза и климактерическое состояние у женщин. Клинические рекомендации*. М.: НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова; 2016.

19. Johns MW. New method for measuring daytime sleepiness: The Epworth sleepiness scale. *Sleep*. 1991; 14: 540-545. doi: 10.1093/sleep/14.6.540

20. Savard J, Simard S, Morin C. Insomnia. In: Nikcevic A, Kuczmierczyk A, Bruch M (eds). *Formulation and treatment in clinical health psychology*. London: Routledge; 2006: 61-86.

21. Zavada A, Gordijn MC, Beersma DG, Daan S, Roenneberg T. Comparison of the Munich chronotype questionnaire with the Horne – Ostberg's morningness-eveningness score. *Chronobiol Int*. 2005; 22(2): 267-278.

22. Полуэктов М.Г., Бузунов В.М., Авербух В.М., Вербицкий Е.В., Захаров А.В., Кельмансон И.А., и др. Проект клинических рекомендаций по диагностике и лечению хронической инсомнии у взрослых. *Неврология и ревматология. Приложение к журналу Consilium Medicum*. 2016; 2: 41-51.

23. Hissin PJ, Hilf R. Fluorimetric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal Biochem*. 1976; 74: 214-226. doi: 10.1016/0003-2697(76)90326-2

24. Семёнова Н.В., Мадаева И.М., Колесникова Л.И. Перспективные направления медицинских технологий коррекции нарушений сна в климактерическом периоде у женщин различных этнических групп. *Гинекология*. 2020; 22(5): 31-36. doi: 10.26442/20795696.2020.5.200365

25. Cagnacci A. Role of melatonin in circadian rhythm at menopause. *Climacteric*. 2017; 20(2): 183. doi: 10.1080/13697137.2016.1253055

26. Беляева Е.В., Ершова О.А., Астахова Т.А., Бугун О.В. Полиморфизм генов глутатион-S-трансфераз в этнических

группах, проживающих на территории Восточной Сибири. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2017; 21(5): 576-580. doi: 10.18699/VJ17.274

27. Даренская М.А. Этнические и региональные аспекты патологических процессов у человека. *Acta biomedica scientifica*. 2012; (2): 152-159.

28. Манчук В.Т. Этнические и экологические факторы в развитии патологии у коренного населения Севера и Сибири. *Бюллетень СО РАМН*. 2012; 32(1): 93-98.

REFERENCES

1. Sanchez-Rodriguez MA, Zacarias-Flores M, Arronte-Rosales A, Correa-Munoz E, Mendoza-Nunez VM. Menopause as risk factor for oxidative stress. *Menopause*. 2012; 19(3): 361-367. doi: 10.1097/gme.0b013e318229977d

2. Brichagina AS, Semenova NV, Kolesnikova LI. Age-related menopause and carbonyl stress. *Advances in Gerontology*. 2022; 35(2): 206-213. (In Russ.). doi: 10.34922/AE.2022.35.2.004

3. Gava G, Orsili I, Alvisi S, Mancini I, Seracchioli R, Merigiola MC. Cognition, mood and sleep in menopausal transition: The role of menopause hormone therapy. *Medicina (Kaunas)*. 2019; 55(10): 668. doi: 10.3390/medicina55100668

4. Hachul de Campos H, Brandao LC, D'Almeida V, Grego BH, Bittencourt LR, Tufik S, et al. Sleep disturbances, oxidative stress and cardiovascular risk parameters in postmenopausal women complaining of insomnia. *Climacteric*. 2006; 9(4): 312-319. doi: 10.1080/13697130600871947

5. Gulec M, Ozkol H, Selvi Y, Tuluze Y, Aydin A, Besiroglu L, et al. Oxidative stress in patients with primary insomnia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012; 37(2): 247-251. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.02.011

6. Liang B, Li YH, Kong H. Serum paraoxonase, arylesterase activities and oxidative status in patients with insomnia. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013; 17(18): 2517-2522.

7. Kolesnikova LI, Semenova NV, Osipova EV, Madaeva IM. Lipid status and oxidative stress in menopausal women with obstructive apnea syndrome. *Terapevticheskii arkhiv*. 2017; 89(8): 50-56. (In Russ.). doi: 10.17116/terarkh201789850-56

8. Lammertyn L, Mels CM, Pieters M, Schutte AE, Schutte R. Ethnic-specific relationships between haemostatic and oxidative stress markers in black and white South Africans: The SABPA study. *Clin Exp Hypertens*. 2015; 37(6): 511-517. doi: 10.3109/10641963.2015.1013123

9. Darenskaya MA, Kolesnikova LI, Kolesnikov SI. *Ethnic aspects of metabolic reactions of women with dysregulation pathology*. Moscow: Rossiyskaya akademiya nauk; 2020. (In Russ.).

10. Mokhaneli MC, Fourie CM, Botha S, Mels CM. The association of oxidative stress with arterial compliance and vascular resistance in a bi-ethnic population: The SABPA study. *Free Radic Res*. 2016; 50(8): 920-928. doi: 10.1080/10715762.2016.1201816

11. Morris AA, Zhao L, Patel RS, Jones DP, Ahmed Y, Stoyanova N, et al. Differences in systemic oxidative stress based on race and the metabolic syndrome: The Morehouse and Emory Team up to Eliminate Health Disparities (META-Health) study. *Metab Syndr Relat Disord*. 2012; 10(4): 252-259. doi: 10.1089/met.2011.0117

12. Semenova NV, Madaeva IM, Darenskaya MA, Kolesnikova LI. Lipid peroxidation and antioxidant defense system

in menopausal women of different ethnic groups. *Human Ecology*. 2019; 6: 30-38. (In Russ.). doi: 10.33396/1728-0869-2019-6-30-38

13. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Labygina AV, Dolgikh MI, Ntyaganova LV, et al. The ethnoses in medical researches (literature review). *Acta biomedica scientifica*. 2013; 4(92): 153-159. (In Russ.).

14. Nikitina OA, Darenskaya MA, Semenova NV, Kolesnikova LI. Antioxidant defense system: Regulation of metabolic processes, genetic determinants, methods of determination. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2022; 42(3): 4-17. (In Russ.).

15. Wang L, Ahn YJ, Asmis R. Sexual dimorphism in glutathione metabolism and glutathione-dependent responses. *Redox Biol*. 2020; 31: 101410. doi: 10.1016/j.redox.2019.101410

16. Menshchikova EB, Zenkov NK, Lankin VZ, Bondar IA, Trufakin VA. *Oxidative stress. Pathological conditions and diseases*. Novosibirsk: Sibirskoe universitetskoe izdatel'stvo; 2017. (In Russ.).

17. Semenova NV, Madaeva IM, Brichagina AS, Kolesnikov SI, Kolesnikova LI. Glutathione component of antioxidant status in menopausal women with insomnia. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2022; 173(6): 765-769. (In Russ.). doi: 10.47056/0365-9615-2022-173-6-765-769

18. Sukhikh GT, Smetnik VP, Yureneva SV, Ermakova EI, Cherenukha GE, Yakushevskaya OV. *Menopause and menopause in women. Clinical guidelines*. Moscow: NMITS ACP im. V.I. Kulakova; 2016. (In Russ.).

19. Johns MW. New method for measuring daytime sleepiness: The Epworth sleepiness scale. *Sleep*. 1991; 14: 540-545. doi: 10.1093/sleep/14.6.540

20. Savard J, Simard S, Morin C. Insomnia. In: Nikcevic A, Kuczmierczyk A, Bruch M (eds). *Formulation and treatment in clinical health psychology*. London: Routledge; 2006: 61-86.

21. Zavada A, Gordijn MC, Beersma DG, Daan S, Roenneberg T. Comparison of the Munich chronotype questionnaire with the Horne – Ostberg's morningness-eveningness score. *Chronobiol Int*. 2005; 22(2): 267-278.

22. Poluektov MG, Buzunov RV, Averbukh VM, Verbitsky EV, Zakharov AV, Kelmanson IA, et al. Project of clinical recommendations on diagnosis and treatment of chronic insomnia in adults. *Consilium Medicum. Neurology and Rheumatology (Suppl.)*. 2016; 2: 41-51. (In Russ.).

23. Hissin PJ, Hilf R. Fluorimetric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal Biochem*. 1976; 74: 214-226. doi: 10.1016/0003-2697(76)90326-2

24. Semenova NV, Madaeva IM, Kolesnikova LI. Promising directions of medical technologies for the correction of sleep disorders in menopausal women of various ethnic groups. *Gynecology*. 2020; 22(5): 31-36. (In Russ.). doi: 10.26442/20795696.2020.5.200365

25. Cagnacci A. Role of melatonin in circadian rhythm at menopause. *Climacteric*. 2017; 20(2): 183. doi: 10.1080/13697137.2016.1253055

26. Belyaeva EV, Yershova OA, Astahova TA, Bugun OV. Glutathione S-transferase polymorphism in ethnic groups living in Eastern Siberia. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2017; 21(5): 576-580. (In Russ.). doi: 10.18699/VJ17.274

27. Darenskaya MA. Ethnic and regional aspects of the human pathology processes. *Acta biomedica scientifica*. 2012; (2): 152-159. (In Russ.).

28. Manchuk VT. Ethnic and ecological factors in the development of pathology in natives of Siberia and the North. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2012; 32(1): 93-98. (In Russ.).

Сведения об авторах

Лесная Анастасия Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: tasi121212@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1055-4608>

Семёнова Наталья Викторовна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: natkor_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6512-1335>

Мадеева Ирина Михайловна – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории сомнологии и нейрофизиологии, руководитель Сомнологического центра, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nightchild@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3423-7260>

Колесникова Любовь Ильинична – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

Information about the authors

Anastasia S. Lesnaya – Junior Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: tasi121212@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1055-4608>

Natalya V. Semenova – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: natkor_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6512-1335>

Irina M. Madaeva – Dr. Sc. (Med.), Chief Research Officer at the Laboratory of Somnology and Neurophysiology, Head of the Somnology Centre, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nightchild@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3423-7260>

Lyubov I. Kolesnikova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Academician of RAS, Academic Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

ПЕДИАТРИЯ PEDIATRICS

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКИХ, ЛАБОРАТОРНЫХ И ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ДЕТЕЙ С СЕЗОННЫМ ГРИППОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ШТАММА ВИРУСА

Казанцева Е.Д.,
Петрова А.Г.,
Ваняркина А.С.,
Новикова Е.А.,
Москалева Е.В.,
Рычкова Л.В.

ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Казанцева Екатерина Дмитриевна,
e-mail: kat.smile7@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Введение. По данным литературы известно, что клиника гриппа может отличаться в зависимости от возраста, состояния иммунной системы человека, серотипа вируса, его вирулентности. В клинике преобладает интоксикационный, катаральный и гипертермический симптомы, однако заболевание далеко не всегда протекает классически и может скрываться под маской других инфекций.

Цель исследования. Провести сравнительную характеристику клинических, лабораторных и инструментальных показателей у детей с сезонным гриппом A(H1N1) и A(H3N2).

Материал и методы. Проведено одномоментное ретроспективное сравнительное исследование с участием 96 детей от 1 мес. до 13 лет с диагнозом «грипп», которые находились на стационарном лечении в ОГБУЗ «Иркутская областная инфекционная клиническая больница» с декабря 2018 по январь 2019 г. Определялись клинические, лабораторные и инструментальные особенности течения сезонного гриппа у детей в зависимости от штамма вируса.

Результаты. Структура заболеваемости: грипп A(H1N1) – 70 человек (73 %), грипп A(H3N2) – 20 детей (21 %), грипп A клинически у непривитого – у 3 человек (3 %), микст-вирусная инфекция грипп H1N1 + аденовирусная инфекция – 2 случая (2 %), микст-вирусная инфекция грипп H1N1 + РС-инфекция – 1 случай (1 %). В клинике обоих штаммов вируса преобладали симптомы: слизистый насморк, сухой кашель, лихорадка, интоксикация. Мышечная боль и гиперемия зева статистически значимо чаще встречалась при гриппе A(H1N1), длительность симптомов не отличалась. Лимфоцитоз чаще наблюдался при гриппе A(H1N1), моноцитоз – при гриппе A(H3N2) ($p < 0,05$). В 64 % случаях пациенты с гриппом A(H1N1) имели высокий лейкоцитарный индекс интоксикации (отношение шансов – 2,2).

Заключение. Симптоматика при разных штаммах вируса гриппа A у детей похожа, однако мышечная боль и гиперемия зева преобладает у детей с гриппом A(H1N1).

Ключевые слова: грипп A(H1N1), грипп A(H3N2), клиническая картина, дети

Для цитирования: Казанцева Е.Д., Петрова А.Г., Ваняркина А.С., Новикова Е.А., Москалева Е.В., Рычкова Л.В. Сравнительная характеристика клинических, лабораторных и инструментальных показателей у детей с сезонным гриппом в зависимости от штамма вируса. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 203-210. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.22

Статья поступила: 01.06.2022

Статья принята: 10.10.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF CLINICAL, LABORATORY AND INSTRUMENTAL INDICATORS IN CHILDREN WITH SEASONAL INFLUENZA DEPENDING ON THE VIRUS STRAIN

Kazantseva E.D.,
Petrova A.G.,
Vanyarkina A.S.,
Novikova E.A.,
Moskaleva E.V.,
Rychkova L.V.

Scientific Center for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Ekaterina D. Kazantseva,
e-mail: kat.smile7@yandex.ru

ABSTRACT

Introduction. According to the literature, it is known that clinical signs and symptoms of influenza may differ depending on age, the state of the human immune system, the serotype of the virus and its virulence. Intoxication, catarrhal and hyperthermia are main symptoms of influenza, but the disease does not always proceed classically, it may hide under the mask of other infections.

The aim was to conduct a comparative analysis of clinical, laboratory and instrumental parameters in children with influenza A(H1N1) and A(H3N2).

Materials and methods. A single-stage retrospective comparative study was carried out with the participation of 96 children from 1 month of age up to 13 years old with a diagnosis of influenza, who were hospitalized at the Irkutsk Regional Infectious Clinical Hospital from December 2018 to January 2019. Clinical and laboratory features of the course of influenza in children were determined depending on a viral strain.

Results. The structure of morbidity: influenza A(H1N1) – 70 people (73 %), influenza A(H3N2) – 20 children (21 %), influenza A clinically unvaccinated – in 3 people (3 %), mixed viral infection influenza H1N1 + adenovirus infection – 2 cases (2 %), mixed viral infection H1N1 flu + RS-virus – 1 case (1 %). In the clinic of both strains of the virus, symptoms prevailed: runny nose, dry cough, fever, intoxication. Muscle pain and pharyngeal hyperemia were significantly more common in influenza A(H1N1), the duration of symptoms did not differ. Lymphocytosis was more often observed in influenza A(H1N1), monocytosis – in influenza A(H3N2) ($p < 0.05$). In 64 % of cases, patients with influenza A(H1N1) had a high leukocyte index of intoxication (odds ratio – 2.2).

Conclusion. The symptoms of different influenza A viral strains virus in children are the same, however, muscle pain and hyperemia of the pharynx prevails in children with influenza A(H1N1).

Key words: influenza A(H1N1), influenza A(H3N2), clinic, children

Received: 01.06.2022
Accepted: 10.10.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Kazantseva E.D., Petrova A.G., Vanyarkina A.S., Novikova E.A., Moskaleva Y.V., Rychkova L.V. Comparative characteristics of clinical, laboratory and instrumental indicators in children with seasonal influenza depending on the virus strain. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 203-210. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.22

ВВЕДЕНИЕ

Грипп – высоко контагиозная острая респираторная вирусная инфекция (ОРВИ) с воздушно-капельным путём передачи возбудителя, которая вызывается различными штаммами вируса. Грипп занимает особое место среди других острых респираторных болезней, что связано с высокой вирулентностью возбудителя, способностью к эпидемическому распространению [1].

Грипп отличают следующие признаки:

1. Повсеместная широкая распространённость, которая связана с постоянными мутациями вируса и появлением новых штаммов [2, 3].
2. Высокая смертность: во время эпидемий число смертей может достигать 870 на 100 тыс. населения (по данным Европейской рабочей группы по гриппу) [2].
3. Нередкое формирование постинфекционных осложнений: патологий сердца и мозга [4].
4. По результатам вирусологического мониторинга за последнее время возросла способность вируса становиться резистентным к противовирусным препаратам [5].

Вирусы гриппа А подразделяются на подтипы в соответствии с комбинациями гемагглютинина и нейраминидазы – белков на поверхности вируса. В настоящее время среди людей циркулируют вирусы гриппа подтипов А(Н1N1) и А(Н3N2). Вирусы гриппа В не подразделяются на подтипы, но могут подразделяться на линии. В настоящее время циркулирующие вирусы гриппа типа В принадлежат к линиям В/Ямагата и В/Виктория. Вирус гриппа С выявляется реже, обычно приводит к лёгким инфекциям и поэтому не представляет проблемы для общественного здравоохранения [2].

Клиника гриппа может отличаться в зависимости от возраста пациента, состояния иммунной системы человека, серотипа вируса, его вирулентности [6]. Ведущими клиническими симптомами являются: интоксикационный, катаральный и гипертермический, тем не менее, заболевание далеко не всегда протекает классически, и может скрываться под маской других инфекций [7]. ОРВИ являются основной причиной заболеваемости в педиатрии и поражают детей всех возрастов.

По данным, полученным нами ранее в 2019 г., в клинической картине гриппа у детей с ожирением преобладает высокий процент осложнённого течения заболевания в виде пневмонии и кетоацидоза [8]. Изменения гематологических показателей характеризуются ускорением скорости оседания эритроцитов (СОЭ) и незначительным снижением концентрации гемоглобина [9].

По данным литературы, имеется ограниченное количество исследований, описывающих различия клинических симптомов сезонного вируса гриппа у детей в зависимости от его штамма.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести сравнительную характеристику клинических, лабораторных и инструментальных показателей у детей, находившихся на стационарном лечении в ОГБУЗ

«Иркутская областная инфекционная клиническая больница» с сезонным гриппом А(Н1N1) и А(Н3N2).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было проведено одномоментное ретроспективное сравнительное исследование, в котором приняли участие 96 детей в возрасте от 1 мес. до 13 лет с диагнозом грипп, которые находились на стационарном лечении в ОГБУЗ «Иркутская областная инфекционная клиническая больница» с декабря 2018 по январь 2019 г. Определялись клинические, лабораторные и инструментальные особенности течения гриппа у детей в зависимости от штамма вируса гриппа. Протокол исследования был одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (Выписка из протокола заседания № 8.4 от 02.11.2018).

При анализе историй болезни оценивались: пол, возраст ребёнка, длительность пребывания в стационаре, диагноз основной, сопутствующий, наличие осложнений, характер и длительность ринита, характер и длительность кашля, характер и длительность лихорадки, наличие интоксикации, наличие других клинических симптомов (сыпь, судороги, боль в горле, головная, мышечная боли). При оценке лабораторных и инструментальных данных анализировались: общий и биохимический анализы крови, общий анализ мочи, электрокардиограмма, рентген лёгких, комплексная диагностика штаммов гриппа А/В с типированием методом ПЦР, сатурация кислорода, исследование кала/соскоб на яйца глистов. Также анализировались: температурный лист, длительность инфузионной терапии, противовирусного и антибактериального лечения, исход заболевания, консультация других специалистов.

Вся выборка была разделена на 2 группы в зависимости от штамма вируса гриппа. Группу 1 составили дети со штаммом вируса гриппа А(Н1N1) – 70 человек (73 %), группу 2 составили дети с гриппом А(Н3N2) – 20 детей (21 %). Анализ и статистическая обработка информации проводились с помощью программы Excel (Microsoft Corp., США) и прикладного пакета программ «Статистика 6.0». Подсчёт 95%-го доверительного интервала (95% ДИ) для частот и долей производился онлайн-калькулятором на ресурсе Vassar Stats: Web Site for Statistical Computation (<http://vassarstats.net/>). Качественные признаки представлены в виде абсолютных (n) и относительных величин (p), количественные признаки представлены с указанием медианы (Me) 25%-го и 75%-го квартилей (Q25–Q75). При анализе качественных признаков проводилась оценка относительной частоты признака (распространённость) P и доверительного интервала с уровнем значимости 95 % (95% ДИ). Статистическая значимость межгрупповых различий по качественным признакам оценивалась с помощью критерия χ^2 : при $P_{\text{абс.}} < 10$ – с поправкой Йетса; при $P_{\text{абс.}} < 5$ – с использованием двустороннего точного критерия Фишера. Статистическая значимость двух несвязанных групп оценивалась по критерию Манна – Уитни (U-test). Анализ относительных шансов (ОШ)

проводился с помощью четырёхпольных таблиц сопряжённости с 95%-м доверительным интервалом. Критический уровень статистической значимости при проверке статистических гипотез о существовании различий показателей между группами p принят равным 0,05. Размер выборки предварительно не рассчитывался.

При выполнении работы был проанализирован лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ), который высчитывался по формуле Я.Я. Кальф-Калифа: $ЛИИ = ((4 \times \text{миелоциты} + 3 \times \text{метамиелоциты} + 2 \times \text{палочкоядерные нейтрофилы} + 1 \times \text{сегментоядерные нейтрофилы}) \times (\text{плазматические клетки} + 1)) / ((\text{моноциты} + \text{лимфоциты}) \times (\text{эозинофилы} + 1))$. В норме этот показатель равен 0,3–1,5.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Распределение детей по полу: 45 (47 %) мальчиков, 51 (53 %) девочка. Медиана возраста – 3 года. Структура заболеваемости гриппом выглядит следующим образом: грипп А(Н1N1) – 70 человек (73 %), грипп А(Н3N2) – 20 детей (21 %), грипп А клинически у непривитого – у 3 человек (3 %), микст-вирусная инфекция гриппа Н1N1 + аденовирусная инфекция – 2 случая (2 %), микст-вирусная инфекция гриппа Н1N1 + РС-инфекция – 1 случай (1 %).

В структуре сопутствующих диагнозов наблюдались 21 случай (22 %) острой кишечной инфекции (рота- и норовирусной этиологии), аллергический дерматит

ТАБЛИЦА 1
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКИХ СИМПТОМОВ У ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ШТАММАМИ ГРИППА А, % (95% ДИ) (n = 90)

TABLE 1
COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF CLINICAL SYMPTOMS IN CHILDREN WITH DIFFERENT STRAINS OF INFLUENZA A, % (95% CI) (n = 90)

Показатели	Грипп А(Н1N1) (n = 70), n (%) (95% ДИ)	Грипп А (Н3N2) (n = 20), n (%) (95% ДИ)	p (точный критерий Фишера)
Слизистый ринит	54 (77 %) (0,65–0,85)	15 (75 %) (0,50–0,90)	0,53
Гнойный ринит	1 (1,4 %) (0,00–0,08)	0	0,78
Сухой кашель	61 (87 %) (0,76–0,93)	15 (75 %) (0,50–0,90)	0,16
Влажный кашель	4 (5,7 %) (0,01–0,14)	1 (5 %) (0,00–0,26)	0,69
Лихорадка	68 (97 %) (0,89–0,99)	19 (95 %) (0,73–0,99)	0,53
Интоксикация	28 (40 %) (0,28–0,52)	11 (55 %) (0,32–0,76)	0,17
Гиперемия зева	70 (100 %) (0,93–1,00)	17 (85 %) (0,61–0,96)	0,01*
Боль в горле	3 (4,2 %) (0,01–0,12)	1 (5 %) (0–0,26)	0,64
Слабость, вялость	28 (40 %) (0,28–0,52)	9 (45 %) (0,23–0,67)	0,44
Снижение аппетита	23 (32 %) (0,22–0,45)	3 (15 %) (0,03–0,38)	0,09
Мышечная боль	18 (25,7 %) (0,16–0,37)	1 (5 %) (0–0,26)	0,04*
Головная боль	0	1 (5 %) (0–0,26)	0,22
Судороги	3 (4,2 %) (0,01–0,12)	0	0,47
Сыпь	3 (4,2 %) (0,01–0,12)	0	0,47
Рвота, жидкий стул	15 (21,4 %) (0,12–0,33)	3 (15 %) (0,03–0,38)	0,39
Синдром кетоацидоза	9 (12,9 %) (0,06–0,23)	1 (5 %) (0,00–0,26)	0,29
Синдром бронхообструкции	8 (11,4 %) (0,05–0,21)	0	0,12

Примечание. * – статистически значимые различия ($p < 0,05$).

был у 4 человек (4 %), гипохромная анемия встречалась у 6 детей (6 %), энтеробиоз наблюдался у 2 человек (2 %), были выявлены единичные случаи афтозного стоматита и гнойного конъюнктивита.

Структура осложнений основного заболевания выглядит следующим образом: синдром ацетонемической рвоты или синдром кетоацидоза наблюдался у 12 человек (12,5 %), у 8 человек (8 %) была выявлена двусторонняя полисегментарная пневмония, у 5 человек (5 %) наблюдалась правосторонняя внебольничная пневмония, было 3 ребёнка (3 %), имеющих обструктивный бронхит, и 4 человека (4 %) с синдромом бронхообструкции.

Средняя длительность пребывания детей в стационаре в группе 1 составила $5 \pm 1,9$ дня, в группе 2 – $6 \pm 1,6$ дня ($p = 0,49$).

По данным таблицы 1 можно сделать выводы, что клиника гриппа у детей вне зависимости от штамма протекает классически, преобладают слизистый насморк, сухой кашель, лихорадка, интоксикация в половине случаев, тем не менее мышечная боль и гиперемия зева статистически значимо чаще встречается при гриппе А(Н1N1). Также следует отметить, что в группе 1 чаще присутствуют такие симптомы, как сыпь, судороги, бронхообструктивный синдром и кетоацидоз, в отличие от группы 2 (статистические различия не выявлены).

Из таблицы 2 можно сделать вывод: продолжительность основных клинических симптомов одинаковая, статистические различия не выявлены.

По таблице 3 видно, что лимфоцитоз преобладал в группе 1 ($p = 0,03$), моноцитоз – в группе 2 ($p = 0,01$).

Из таблицы 4 можно сделать выводы, что течение гриппа А осложняется бактериальной инфекцией и сердечными нарушениями в равных количествах, вне зависимости от штамма вируса. Показатель сатурации кислорода был в пределах референсных значений в обеих группах.

По таблице 5 видно, что потребность в противовирусной терапии в группе 1 была в 94,3 % случаев и составила $4,68 \pm 1,60$ дня, в группе 2 потребность в противовирусной терапии была 95 % и составила $4,68 \pm 1,63$ дня ($p = 0,96$ и $p = 0,36$ соответственно).

В группе 1 высокий лейкоцитарный индекс интоксикации имели 45 (64 %) детей, в группе 2 – 9 (45 %), отношение шансов (ОШ) – 2,2 ($p = 0,09$). Среднее значение ЛИИ в группе 1 составило 5,13, в группе 2 – 1,11. Из получен-

ных данных видно, что при гриппе А(Н1N1) ЛИИ выше, что теоретически может свидетельствовать об ухудшении состояния пациента и говорить о более тяжёлом прогнозе заболевания.

Все пациенты получали антибактериальную терапию, её длительность в группе 1 составила $5,36 \pm 1,69$ дня, в группе 2 – $5,85 \pm 1,63$ дня ($p = 0,37$).

Потребность в инфузионной терапии при гриппе А(Н3N2) наблюдалась в 100 % случаях, её длительность составила $1 \pm 2,5$ дня. Лечение гриппа А(Н1N1) также потребовало 100%-й инфузионной терапии, но более длительной – $3 \pm 2,47$ дня, несмотря на то, что статистические различия не были выявлены ($p = 0,16$).

С.С. Кочкина и соавт. пишут об особенностях течения гриппа в 2019 г.: грипп у детей раннего возраста протекает в среднетяжёлой форме, лишь в 16 % случаев отмечается тяжёлое течение заболевания. В клинике преобладает интоксикационный синдром и катаральное воспаление верхних дыхательных путей, который развивается на 2-е сутки заболевания и выражен умеренно. У детей в возрасте до 1 года чаще развиваются осложнения со стороны ЛОР-органов и мочевой системы. Ни у одного ребёнка не было выявлено пневмонии [10].

В нашей работе грипп в большинстве случаев протекал в среднетяжёлой форме, в клинике также преобладали катаральные явления, но в структуре осложнений вне зависимости от штамма вируса гриппа наблюдались бронхообструктивный, ацетонемический синдром и пневмония.

Е.В. Михайлова и соавт. приводят клинические особенности гриппа у детей в эпидемическом сезоне 2018–2019 гг.: особенности гриппа у детей были: гипертермия (88,8 %), высокая частота поражения нижних дыхательных путей (50 %) в большинстве случаев в виде бронхита (41,3 %) и реже – пневмонии (8,7 %). Отмечался ацетонемический синдром (в 26,3 % случаев), единичные случаи заболевания протекали с нейротоксикозом и геморрагическим синдромом. Продолжительность симптомов интоксикации у больных гриппом пациентов составила $4,54 \pm 0,5$ суток, катаральных симптомов – $5,65 \pm 0,3$ суток, лихорадки – $3,6 \pm 0,4$ суток. Заболевание закончилось выздоровлением у всех больных [11]. В нашей работе продолжительность основных клинических симптомов у детей с гриппом была схожей, выздоровление также отмечалось у всех пациентов.

ТАБЛИЦА 2
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДЛИТЕЛЬНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ШТАММАМИ ГРИППА А

Показатели	Грипп А(Н1N1), Ме (Q25–Q75)	Грипп А(Н3N2), Ме (Q25–Q75)	p (критерий Манна – Уитни)
Длительность насморка, дни	5 (3–5)	4 (1,50–5,00)	0,37
Длительность кашля, дни	5 (4–6)	5 (3,50–6,30)	0,56
Длительность лихорадки, дни	2 (1–3)	3 (2,80–3,00)	0,08
Длительность головной боли, дни	0,40 (0–0)	0 (0–0)	0,80

TABLE 2
COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE DURATION OF CLINICAL INDICATORS IN CHILDREN WITH DIFFERENT STRAINS OF INFLUENZA A

ТАБЛИЦА 3
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ШТАММАМИ ГРИППА А, МЕ (Q25–Q75)

TABLE 3
COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF LABORATORY PARAMETERS IN CHILDREN WITH DIFFERENT STRAINS OF INFLUENZA A, ME (Q25–Q75)

Показатели	Грипп А(Н1N1)	Грипп А(Н3N2)	p (U-test)
Эритроциты, 10 ¹²	4,37 (4,09–4,08)	4,36 (4,07–4,58)	0,83 ^б
Лейкоциты, 10 ⁹	3,58 (2,78–4,72)	4,86 (3,37–7,78)	0,06 ^б
Палочкоядерные нейтрофилы, 10 ⁹	1,86 (0,90–3,47)	2,03 (0,99–5,00)	0,29 ^б
Сегментоядерные нейтрофилы, 10 ⁹	0,84 (0–2,27)	0,89 (0–2,49)	0,83 ^б
Тромбоциты, 10 ⁹	225 (187,75–260,50)	240,5 (190,75–270,75)	0,55 ^б
СОЭ, мм/ч	12 (6–18,50)	10 (7,25–21)	0,89 ^б
СРБ, мг/л	5,6 (5,60–32,70)	8,1 (2,78–9,98)	0,88 ^б
Гемоглобин, г/л	121 (113,75–121,50)	123 (118–129)	0,51 ^б
Лимфоциты, 10 ⁹	1,85 (1,30–7,50)	1,69 (1,80–2,47)	0,03 ^{б*}
Моноциты, 10 ⁹	0,33 (0,25–0,49)	2,33 (0,63–8,56)	0,01 ^{б*}
Эозинофилы, 10 ⁹	0,03 (0,01–0,07)	0,05 (0,02–0,13)	0,48 ^б
Общий белок, г/л	66,5 (59,95–69,55)	69,05 (62,97–72,60)	0,15 ^б
Глюкоза, ммоль/л	4 (3,55–4,74)	4,28 (3,69–4,59)	0,61 ^б
АСТ, Ед/л	55,05 (40,90–68,85)	55,6 (38,83–66,10)	0,86 ^б
АЛТ, Ед/л	17,4 (12,30–21,85)	17,75 (11,35–23)	0,78 ^б
Креатинин, мкмоль/л	45,85 (41,22–52,05)	44,5 (41,25–53,63)	0,88 ^б
Мочевина, ммоль/л	3,31 (2,55–4,18)	2,92 (0–40,67)	0,64 ^б
Амилаза, Ед/л	40,6 (33,08–50,25)	0 (0–5,13)	0,57 ^б
Удельный вес мочи, г/л	1020 (1025–1020)	1020 (1013,75–1025)	0,75 ^б
Кетоны в моче, мг/дл	0 (0,50–1,17)	0,125 (0–0)	0,08 ^б
Соли, Ед/мкл	0,60 (1,40–0)	0,3 (0–0,60)	0,99 ^б
Белок, г/л	0 (0,10–0)	0 (0–0,15)	0,36 ^б

Примечание. СРБ – С-реактивный белок; АСТ – аспартатаминотрансфераза; АЛТ – аланинаминотрансфераза; * – статистически значимые различия ($p < 0,05$); ^а – точный критерий Фишера; ^б – критерий Манна – Уитни.

ТАБЛИЦА 4
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ШТАММАМИ ГРИППА А (n = 90)

TABLE 4
COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF INSTRUMENTAL INDICATORS IN CHILDREN WITH DIFFERENT STRAINS OF INFLUENZA A (n = 90)

Показатель	Грипп А(Н1N1) (n = 70), n (%) (95% ДИ)	Грипп А(Н3N2) (n = 20), n (%) (95% ДИ)	p (точный критерий Фишера)
Рентген-картина пневмонии	12 (17 %) (0,09–0,28)	3 (15 %) (0,03–0,38)	0,56
СРРЖ на ЭКГ	11 (15,7 %) (0,08–0,26)	4 (20 %) (0,06–0,44)	0,44
НБПНПГ на ЭКГ	9 (12,9 %) (0,06–0,23)	2 (10 %) (0,01–0,33)	0,54
SpO ₂ , %	98 (98–98)	98 (98–98)	0,22

Примечание. * – статистически значимые различия ($p < 0,05$); СРРЖ – синдром ранней реполяризации желудочков; ЭКГ – электрокардиограмма; НБПНПГ – неполная блокада правой ножки пучка Гиса; SpO₂ – сатурация кислорода.

ТАБЛИЦА 5
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕЧЕНИЯ ДЕТЕЙ
С РАЗЛИЧНЫМИ ШТАММАМИ ГРИППА А

Показатель	Грипп А(Н1N1), n (%)	Грипп А(Н3N2), n (%)	p (точный критерий Фишера)
Число пациентов, нуждавшихся в инфузионной терапии	70 (100 %)	20 (100 %)	1 Все пациенты нуждались в инфузионной терапии
Число пациентов, нуждавшихся в противовирусной терапии	62 (94,3 %)	19 (95 %)	0,36
Число пациентов, нуждавшихся в антибактериальной терапии	70 (100 %)	20 (100 %)	1 Все пациенты нуждались в антибактериальной терапии

Примечание. * – статистически значимые различия ($p < 0,05$).

А.Ф. Попов и соавт. опубликовали статью в 2015 г., посвящённую анализу клиники гриппа, вызванного разными штаммами. Сопоставление длительности лихорадки, общетоксических и катаральных симптомов при сезонном гриппе А(Н1N1), А(Н3N2) и В не выявило статистически значимых различий. Симптоматика сезонного гриппа А(Н1N1), А(Н3N2) и В была одинаковой [12], что согласуется с полученными нами данными.

ВЫВОДЫ

Сопоставление длительности лихорадки, общетоксических и катаральных симптомов при сезонном гриппе А(Н1N1) и А(Н3N2) не выявило существенных статистически значимых различий. Тем не менее, при гриппе А(Н1N1) статистически значимо чаще встречается гиперемия зева и мышечная боль.

Из лабораторных особенностей можно вынести следующее: лимфоцитоз чаще наблюдался при гриппе А(Н1N1), моноцитоз преобладал при гриппе А(Н3N2). В 64 % случаях пациенты с гриппом А(Н1N1) имели высокий лейкоцитарный индекс интоксикации (ОШ = 2,2). В клинической практике определение ЛИИ может оптимизировать прогноз исхода заболевания и индивидуализировать схему лечения пациента.

Лечение сезонного гриппа А вне зависимости от штамма вируса проводилось с участием противовирусной, антибактериальной, инфузионной и симптоматической терапии. Следует отметить, что пациентам с сезонным гриппом А(Н1N1) потребовалась более длительная инфузионная терапия, которая составила $3 \pm 2,47$ дня.

Финансирование

Работа выполнена в рамках госбюджетной НИР ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

TABLE 5
COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE TREATMENT
OF CHILDREN WITH DIFFERENT STRAINS OF INFLUENZA A

ЛИТЕРАТУРА

1. Клинические рекомендации «грипп у детей». М.: Министрство здравоохранения; 2017.
2. European Scientific Working group on influenza. URL: <http://www.eswi.org/influenza-facts/introducticxt> [date of access: 20.05.2022].
3. Краснова Е.И., Карпович Г.С., Проворова В.В., Шестаков А.Е., Казакова Ю.В. Грипп в период пандемии COVID-19, эпидемиологическая характеристика, подходы к вакцинации. *Лечащий врач*. 2021; 4(24): 50-56. doi: 10.51793/OS.2021.98.48.009
4. Миromanова Н.А., Баранчугова Т.С. Клинико-эпидемиологический анализ течения высокопатогенного гриппа А Н1N1 у детей Забайкальского края. *Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины: Материалы Х юбилейной научно-практической конференции молодых учёных*. СПб.; 2010: 187-188.
5. Некрасов Н.Г., Пучкова Н.Г. Современная вакцина от гриппа в национальном календаре профилактических прививок для детей. *Педиатрическая фармакология*. 2009; 6(4): 25-29.
6. Миromanова Н.А., Баранчугова Т.С. Патогенетические закономерности течения гриппа у детей. *Болезни органов дыхания: от ребёнка к взрослому: Материалы научно-практической конференции с международным участием*. Чита; 2012: 41-42.
7. Гаврилова О.А. Особенности процесса перекисного окисления липидов в норме и при некоторых патологических состояниях у детей (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2017; 2(4): 15-22.
8. Келешева И.Ю., Петрова А.Г., Рычкова Л.В., Москалева Е.В. Ретроспективный анализ клинического течения гриппа у детей с ожирением. *Детские инфекции*. 2019; 18(5): 70-71. doi: 10.22627/2072-8107-2019-18-15
9. Петрова А.Г., Рычкова Л.В., Ванякина А.С., Келешева И.Ю., Москалёва Е.В., Новикова Е.А. Клинико-лабораторные характеристики гриппа у детей с ожирением. *Вопросы практической педиатрии*. 2020; 15(4): 8-14. doi: 10.20953/1817-7646-2020-4-8-14
10. Кочкина С.С., Лернер Е.В., Бахарева Т.Б., Кремнева Н.Ю., Рябикова Е.С. Особенности гриппа в 2019 году у детей раннего возраста в г. Ярославле. *Детские инфекции*. 2019; 18(5): 47. doi: 10.22627/2072-8107-2019-18-15
11. Михайлова Е.В., Чудакова Т.К., Голобоков Д.О., Маляхов Г.А., Кандрин А.М. Клинико-эпидемиологическая

характеристика гриппа у детей г. Саратова в эпидемический сезон 2018–2019 гг. *Детские инфекции*. 2019; 18(5): 73. doi: 10.22627/2072-8107-2019-18-15

12. Попов А.Ф., Симакова А.И., Дмитренко К.А., Зенин И.В. Клиника гриппа, вызванная разными серотипами вируса. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2015; 20(6): 39–43.

REFERENCES

1. *Clinical recommendations "flu in children"*. Moscow; 2017. (In Russ.).

2. *European Scientific Working group on influenza*. URL: <http://www.eswi.org/influenza-facts/introductioxt> [date of access: 20.05.2022].

3. Krasnova EI, Karpovich GS, Provorova VV, Shestakov AE, Kazakova YuV. Influenza in COVID-19 pandemic, epidemiological characteristics, approaches to vaccination. *Lechaschi vrach*. 2021; 4(24): 50–56. (In Russ.). doi: 10.51793/OS.2021.98.48.009

4. Miromanova NA, Baranchugova TS. Clinical and epidemiological analysis of the course of highly pathogenic influenza A H1N1 in children of the Trans-Baikal Territory. *Aktual'nye voprosy klinicheskoy i eksperimental'noy meditsiny: Materialy X yubileynoy nauchno-prakticheskoy konferentsii molodykh uchenykh*. Saint Petersburg; 2010: 187–188. (In Russ.).

5. Nekrasov NG, Puchkova NG. Modern influenza vaccine in the national calendar of preventive vaccinations for children. *Pediatric Pharmacology*. 2009; 6(4): 25–29. (In Russ.).

6. Miromanova NA, Baranchugova TS. Pathogenetic patterns of influenza in children. *Bolezni organov dykhaniya: ot rebenka k vzrosloму: Materialy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezh-dunarodnym uchastiem*. Chita; 2012: 41–42. (In Russ.).

7. Gavrilova OA. Features of the process of lipid peroxidation in normal and in some pathological conditions in children (literature review). *Acta biomedica scientifica*. 2017; 2(4): 15–22. (In Russ.).

8. Kelesheva IYu, Petrova AG, Rychkova LV, Moskaleva EV. Retrospective analysis of the clinical course of influenza in obese children. *Children Infections*. 2019; 18(5): 70–71. doi: 10.22627/2072-8107-2019-18-15

9. Petrova AG, Rychkova LV, Vanyarkina AS, Kelesheva IYu, Moskaleva EV, Novikova EA. Clinical and laboratory characteristics of influenza in obese children. *Clinical Practice in Pediatrics*. 2020; 15(4): 8–14. (In Russ.). doi: 10.20953/1817-7646-2020-4-8-14

10. Kochkina SS, Lerner EV, Bakhareva TB, Kremneva NYu, Ryabikova ES. Features of the flu in 2019 in young children in Yaroslavl. *Children Infections*. 2019; 18(5): 47. (In Russ.). doi: 10.22627/2072-8107-2019-18-15

11. Mikhailova EV, Chudakova TK, Golobokov DO, Malakhov GA, Kandrina AM. Clinical and epidemiological characteristics of influenza in children of Saratov in the epidemic season 2018–2019. *Children Infections*. 2019; 18(5): 73. (In Russ.). doi: 10.22627/2072-8107-2019-18-15

12. Popov AF, Simakova AI, Dmitrenko KA, Zenin IV. Influenza clinic caused by different virus serotypes. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2015; 20(6): 39–43. (In Russ.).

Сведения об авторах

Казанцева Екатерина Дмитриевна – аспирант, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: kat.smile7@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0692-2295>

Петрова Алла Германовна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: rudial75@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7965-8061>

Ваняркина Анастасия Сергеевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nasty-191@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8434-1600>

Москалёва Екатерина Владимировна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: mkatena@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4196-0713>

Новикова Евгения Анатольевна – младший научный сотрудник лаборатории инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: europa411@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9353-7928>

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iph@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

Information about the authors

Ekatrina D. Kazantseva – Postgraduate, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: kat.smile7@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0692-2295>

Alla G. Petrova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Infectology and Immune Prophylaxis in Pediatrics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: rudial75@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7965-8061>

Anastasiya S. Vanyarkina – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Infectology and Immune Prophylaxis in Pediatrics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems. e-mail: nasty-191@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8434-1600>.

Ekatrina V. Moskaleva – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Infectology and Immune Prophylaxis in Pediatrics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: mkatena@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4196-0713>

Evgenia A. Novikova – Junior Research Officer at the Laboratory of Infectology and Immune Prophylaxis in Pediatrics, Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems. e-mail: europa411@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9353-7928>

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iph@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА PREVENTIVE MEDICINE

ИСТОРИЯ, СОВРЕМЕННЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ПРО- И ПРЕБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ В РОССИИ И ЗА РУБЕЖОМ

Савинова Ю.С.,
Белькова Н.Л.,
Семёнова Н.В.,
Рычкова Л.В.

ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Савинова Юлия Сергеевна,
e-mail: alisaalisa2222@bk.ru

РЕЗЮМЕ

Кишечная микробиота является самым большим микробным сообществом человека, включающим более 1000 видов различных микроорганизмов. Установлено, что именно микроорганизмы кишечника играют определяющую роль в поддержании здоровья, участвуя в метаболизме белков, углеводов, липидов, желчных кислот и синтезе витаминов.

Показано, что изменения баланса в кишечном микробиоценозе не только приводят к расстройствам желудочно-кишечного тракта, но и увеличивают риск развития сердечно-сосудистых и эндокринных заболеваний, вызывают нарушения психоэмоционального состояния. Для восстановления, коррекции и поддержания микробиоты кишечника рекомендуют пробиотические препараты. В связи с очевидной актуальностью применения пробиотиков целью настоящего обзора стало описание истории возникновения первых пробиотических продуктов, современных направлений в развитии концепции продуктов функционального питания, обогащённых пробиотиками, а также перспектив развития пробиотических препаратов в Российской Федерации и странах зарубежья.

В статье представлен анализ рынка пробиотических препаратов и биологически активных добавок, а также продуктов функционального питания, которые производятся в Сибирском федеральном округе. Для объективной оценки развития рынка пробиотических продуктов проведено обобщение аналитических данных маркетинговых сервисов, которые занимаются мониторингом движения лекарственных средств в аптечных сетях и анализом отзывов потребителей.

Ключевые слова: пробиотики, пребиотики, функциональное питание, микробиота, молочные продукты, рынок пробиотиков

Статья поступила: 20.07.2022

Статья принята: 13.09.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Савинова Ю.С., Белькова Н.Л., Семёнова Н.В., Рычкова Л.В. История, современные направления и перспективы развития про- и пребиотических препаратов в России и за рубежом. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 211-227. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.23

HISTORY, CURRENT TRENDS AND PROSPECTS FOR THE DEVELOPMENT OF PRO- AND PREBIOTIC DRUGS IN RUSSIA AND ABROAD

**Savinova Yu.S.,
Belkova N.L.,
Semenova N.V.,
Rychkova L.V.**

Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:
Yulia S. Savinova,
e-mail: alisaalisa2222@bk.ru

ABSTRACT

The gut microbiota is the largest human microbial community, comprising more than 1000 species of various microorganisms. It has been established that these are the gut microorganisms that play a decisive role in maintaining health, participating in the metabolism of proteins, carbohydrates, lipids, bile acids and the synthesis of vitamins.

It has been shown that changes in the balance in the gut microbiocenosis lead not only to pathologies of the gastrointestinal tract, but also increase the risk of developing diseases of the cardiovascular and endocrine systems, and cause disturbances in the psycho-emotional state. To restore, correct and maintain the gut microbiota, probiotic preparations are recommended. In connection with the obvious relevance of the use of probiotics, this review aimed to describe the history of the emergence of the first probiotic products, current trends in the development of the concept of functional foods enriched with probiotics, as well as the prospects for developing probiotic preparations in the Russian Federation and abroad.

This article presents an analysis of the market for probiotic preparations and dietary supplements, as well as functional food products that are produced in the Siberian Federal District. For an objective assessment of the development of the market for probiotic products, a generalization of analytical data from marketing services that monitor the movement of medicines in pharmacy chains and analyze consumer reviews was carried out.

Key words: probiotics, prebiotics, functional nutrition, microbiota, dairy products, market for probiotics

Received: 20.07.2022
Accepted: 13.09.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Savinova Yu.S., Belkova N.L., Semenova N.V., Rychkova L.V. History, current trends and prospects for the development of pro- and prebiotic drugs in Russia and abroad. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 211-227. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.23

ВВЕДЕНИЕ

Микробная среда (микробиота) играет огромную роль в поддержании здорового состояния и функционирования нашего организма, а продукты, которые мы используем в постоянном рационе, утилизируют в результате метаболической активности микроорганизмы, населяющие пищеварительную систему. Следует отметить, что в современных условиях нашей жизни возрастает риск развития дисбактериоза кишечника на фоне нарушенного режима питания, приёма антибиотиков, воздействия отрицательных факторов окружающей среды. Кроме того, в исследованиях кишечного микробиома подростков с нормой веса и ожирением было показано, что тип родовспоможения и длительность грудного вскармливания имеют пролонгированное влияние на состав, структуру и разнообразие кишечного микробиоценоза [1, 2]. Дисбиотическое состояние кишечного биоценоза, характеризующееся низким разнообразием и богатством видов бактерий, нарушением видового состава бифидофлоры и резким уменьшением уникальных филофитов, было отмечено у подростков с ожирением [1, 3]. Для восстановления нарушенной структуры микробиоценоза кишечника активно применяются про- и пребиотические препараты [4].

По определению Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), пробиотики – это «живые микроорганизмы, которые при применении в адекватных количествах вызывают улучшение здоровья организма хозяина» [5]. Под «пребиотиками», понимают пищевые вещества, избирательно стимулирующие рост и/или биологическую активность представителей нормобиоты кишечника человека. Они способствуют поддержанию нормального состава кишечного микробиоценоза и биологической активности отдельных её компонентов при потреблении в составе пищевой продукции [5]. К важнейшим свойствам пробиотиков относят непатогенность, устойчивость к солям желчных кислот, низким pH и протеазам при проверке *in vitro*, способность приживаться на слизистой прямой кишки и эффективно блокировать поверхности, которые могут быть заняты патогенами [6].

Слово *пробиотик* происходит от латинского *-pro* и греческого *-bio* и буквально означает «для жизни». Впервые термин был введён немецким учёным В. Коллатом в 1953 г. для обозначения «активных веществ, необходимых для здорового развития жизни». В 1965 г. этот термин был использован Д.М. Лилли и Р. Стиллвеллом в другом контексте для обозначения «веществ, выделяемых одним организмом, которые стимулируют рост другого». Р. Фуллер в 1992 г. конкретизировал и определил пробиотики как «живую микробную кормовую добавку, которая благотворно влияет на животное-хозяина, улучшая его кишечный микробный баланс» [7]. Активное развитие технологии пробиотиков потребовало согласованности действий со стороны учёных, предлагающих бактериальные штаммы в виде пробиотиков, технологических компаний, внедряющих эти научные разработки, и организаций, регулирующих их деятельность и защищающих потребителей от нека-

чественных продуктов. Официальное признание пробиотиков и обсуждение их значимости для здоровья человека на уровне международных экспертных комиссий от имени Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединённых наций (FAO, Food and Agriculture Organization) и ВОЗ состоялось в 2001 г. Одним из результатов дискуссии стало уточнение и переработка определения «пробиотик» до следующего: «живые микроорганизмы, которые при введении в адекватных количествах приносят пользу здоровью хозяина» [8]. До настоящего времени идёт активное обсуждение и уточнение терминологии, связанной с определением пробиотиков и новых вариантов продуктов, содержащих живые микроорганизмы и их метаболиты. Более того, по мере развития технологий возникают новые термины. Так, например, пробиотики стали комбинировать с пребиотиками, и появился термин «синбиотики» [9, 10]. Роль пробиотиков и пробиотических продуктов для кишечника хозяина заключается не только в заселении ценными бактериями, но и в противодействии патогенам, улучшении пищеварительных процессов, повышении иммунной защиты.

На сегодняшний день существует несколько классификаций пробиотиков, за основу которых авторы берут состав компонентов [11], состояние микроорганизмов в препарате, направленность и/или механизм действия [12]. Согласно принятой в 1996 г. классификации, препараты, нормализующие кишечную микробиоту, разделяют на четыре поколения [13, 14]. М.Д. Ардатская и Ю.П. Успенский в своих работах также описывают четыре группы, объединяя синбиотики и симбиотики в одно поколение [15].

В настоящее время в торговой сети можно найти монокомпонентные пробиотики («Бифидумбактерин», Экополис, Россия), пробиотики-антагонисты («Бифиформ», Дания), поликомпонентные пробиотики («Симбиотик ФОРТЕ», Грузия), сорбированные бифидосодержащие пробиотики («Бифидумбактерин-форте», ООО ПРОБИОФАРМ, Россия), синбиотики («Ацидобак», ООО «Артлайф», Россия) [16–18]. Пробиотические препараты в торговую сеть поступают в жидком или сухом виде. Они используются в системном подходе лечения дисбактериозов и хронических заболеваний желудочно-кишечного тракта [19, 20], как сопутствующие препараты при терапии бактериального вагиноза [21]. Также обсуждаются возможности их применения для коррекции профиля микробиома во время беременности [22], в терапии депрессивных расстройств [23].

Одним из современных направлений исследований пробиотических микроорганизмов является создание продуктов функционального питания на основе консорциумов полезных бактерий, которые бы в совокупности обладали свойствами всех культур, входящими в состав. Такие продукты имеют огромный потенциал для профилактики и оздоровления населения Российской Федерации.

Таким образом, целью настоящего обзора стало обобщение имеющихся данных по истории развития пробиотиков в России и за рубежом, описание концеп-

ции функционального питания, а также анализ рынка пробиотических продуктов.

ИСТОРИЯ СОЗДАНИЯ ПЕРВЫХ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРОДУКТОВ И ВКЛАД ДРЕВНЕЙШИХ ЦИВИЛИЗАЦИЙ В СОЗДАНИЕ ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ ПРОДУКТОВ И НАПИТКОВ

История первых пробиотиков такая же древняя, как и история человечества. Существует предположение, что более 10 000 лет назад, когда земледелие начало заменять охоту и собирательство, человек начал производить ферментированные продукты и напитки. Одомашнивание животных произошло в неолитический период каменного века, а шумеры были первыми людьми, которые развили животноводство [24]. Есть иконографические и письменные свидетельства, датируемые 3000 и 2000 гг. до н. э., указывающие на то, что кисломолочные продукты использовали в пищу индусы, египтяне, греки и римляне [24].

У разных ферментированных кисломолочных продуктов немного разная история, свои легенды о происхождении. Возникновение ферментированного молока ведёт к древним египтянам, финикийцам и восточным народам. Фригийские, сарматские и македонские кочевые пастухи хранили молоко крупного рогатого скота (КРС), лошадей и верблюдов в сосудах, выделанных из кожи или желудка этих же животных. Существует легенда о том, что один из пастухов, путешествуя под жарким солнцем пустыни, на некоторое время забыл молоко в мешке из козьей шкуры и обнаружил, что оно превратилось в вязкий, сливочный и приятный на вкус крем. Этот продукт получил название «йогурт». Неизвестно, когда точно появился первый йогурт, но историки предполагают период от 9000 до 6000 лет назад [25]. Вне зависимости от времени происхождения очевидно, что полезные свойства и терапевтическое применение йогурта и других кисломолочных продуктов были известны задолго до того, как было признано существование бактерий [26].

Ещё одним вариантом кисломолочного продукта является кефир, родиной которого считают Северный Кавказ. Несмотря на то, что первые упоминания об этом продукте связаны с Геродотом, карачаевский народ придумал собственную версию возникновения кефира. Существует предание, в котором пророк Мухаммед дал в качестве небесного дара предкам горцев Кавказа первые кефирные грибки. Ценный дар не продавали, так как считали, что Аллах отнимет их целебную силу. Единственный способ передачи кефирных грибков (зерна Магомета) для хозяина – это дать возможность их украсть [27].

Первое упоминание о твороге относят к Древнему Риму; тому свидетельствует римский писатель и учёный Марк Теренций Варрон. Забивали молоко сгустком, который извлекали из желудка телят, козлят или ягнят, питавшихся только материнским молоком. Римский писатель, агроном и философ Луций Колумелла (I век нашей

эры) писал, что творог наряду с сыром был «желанным блюдом на столе бедных и богатых» [28]. В буддистских легендах о Кришне также упомянут этот ценный продукт. Считается, что творог был любимой пищей Кришны, он его считал даром от природы всем людям, который приносил им здоровье, долгие года и пищу для ума [29].

С возникновением сыра также связано немало интересных историй. Например, самые первые упоминания о сыре относятся к 5500 г. до н. э. Однако нет достоверной информации о том, каким образом впервые был сделан сыр с применением сычужного фермента. Предполагают, что активное продвижение технологии производства сыра происходит в средние века, с началом распространения христианства и появления большого количества монастырей. В те времена монастыри имели большие сельскохозяйственные угодья и скотоводческие хозяйства; учитывая короткий срок хранения свежего молока, монахам пришлось освоить технологию его переработки [30].

Полезные свойства вышеописанных молочных продуктов на протяжении тысячелетий являлись предметом фольклора, а технология производства – моделью изобразительного искусства.

Современная история пробиотиков начинается в начале 1900-х годов с новаторских исследований будущего лауреата Нобелевской премии И. Мечникова, русского учёного, работавшего в Институте Пастера в Париже [24]. Пастер определил микроорганизмы, ответственные за процесс брожения, а Мечников первым попытался выявить возможное влияние этих микробов на здоровье человека. Он связал увеличение продолжительности жизни болгарских сельских жителей с регулярным потреблением кисломолочных продуктов, таких как йогурт. Более того, Мечников утверждал, что токсины возникают в результате бактериального гниения в толстой кишке, а оттуда попадают в кровоток и являются причиной старения [24]. Мечников также констатировал, что «зависимость кишечных микробов от пищи позволяет принимать меры по изменению флоры в нашем организме и замене вредных микробов полезными микробами», что ясно описывает «концепцию пробиотиков». Научная гипотеза Мечникова способствовала созданию и развитию молочной промышленности во Франции, первой в Европе, благодаря использованию ферментированного молока, полученного из *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* [24].

ПРОБИОТИКИ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ: СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ

Концепция функционального питания восходит к Гиппократу IV века, который писал: «Пусть еда будет вашим лекарством, а лекарство – вашей пищей». В последние годы тренд на здоровый образ жизни становится все популярнее среди населения. В Российской Федерации с начала 2000-х годов в связи с развитием фитнес-индустрии повысился спрос на полезные продукты

[31]. Потребители стали активно следить за состоянием своего здоровья, внимательно изучать состав продуктов. Группа функциональных продуктов, или *better-for-you*, – это ноу-хау среди обычных товаров с добавленной пользой для организма: в них высокая концентрация полезных веществ, например, витаминов, минералов и белков. Такие продукты стали ответом на актуальный запрос потребителя – желание заботиться о себе без использования привычных лекарств [32].

Существует несколько определений термина «функциональный продукт питания» (ФПП). В 1994 г. Совет по пищевым продуктам и питанию Национальной академии наук США определил функциональные продукты питания как «любой модифицированный пищевой продукт или пищевой ингредиент, который, помимо традиционной пищевой ценности, может принести пользу для здоровья». Ещё одно определение функциональных пищевых продуктов звучит как «продукты питания, которые благодаря наличию физиологически активных компонентов, помимо базового питания, обеспечивают пользу для здоровья». Американская диетическая ассоциация определила функциональные продукты как продукты, которые являются «цельными, обогащёнными или улучшенными», но, что более важно, такие продукты должны потребляться как «...часть разнообразной диеты на регулярной основе» [33].

По данным Роспотребнадзора, ФПП на российском рынке появились в 1994 г. Государственным стандартом ГОСТ 52349-2005 «Продукты пищевые функциональные. Термины и определения», вступившим в силу в 2011 г., дано определение термину: «функциональный пищевой продукт – это пищевой продукт, предназначенный для систематического употребления в составе пищевых рационов всеми возрастными группами здорового населения, снижающий риск развития заболеваний, связанных с питанием, сохраняющий и улучшающий здоровье за счёт наличия в его составе физиологически функциональных пищевых ингредиентов» [34].

Определяющим направлением в питании на сегодняшний день является масштабирование более ранних концепций, в том числе направленности детского питания: употребление в пищу готовых продуктов, приготовленных путём щадящей кулинарной обработки и обогащённых физиологически функциональными пищевыми ингредиентами (витаминами, макро- и микроэлементами, пробиотиками и др.) с гарантированной микробиологической безопасностью на полный срок хранения [35]. Оптимальный рацион питания, по мнению российского академика В.А. Тутельяна, – это умелое сочетание традиционных натуральных продуктов, продуктов, полученных с использованием генно-инженерно-модифицированных организмов с улучшенным химическим составом (например, «золотой рис» с повышенным содержанием бета-каротина; соевые бобы, богатые незаменимыми полиненасыщенными жирными кислотами, и др.), технологически модифицированным на стадии производства пищевой продукции за счёт снижения содержания нежелательных пищевых веществ (например, соли, холестерина и др.) и повышения концентрации полезных

ингредиентов – микронутриентов, биологически активных веществ и биологически активных добавок к пище, представляющих собой те же пищевые и биологически активные вещества, но «упакованные» в удобную и компактную форму в виде капсул, драже [36].

Основу многих функциональных продуктов питания также составляют известные пробиотики. Повышенное внимание в данном контексте к пробиотическим микроорганизмам вызвано ростом заболеваний взрослого и детского населения, требующих коррекции микробиоты кишечника и влияющих на её состав и биологические свойства [37].

Одним из перспективных направлений развития концепции ФПП является использование симбиотических ассоциаций заквасочных микроорганизмов. Следует отметить, что в консорциумах, разрабатываемых на основе национальных кисломолочных продуктов (кефир, айран, кумыс и др.), полезные свойства реализуются наряду с антагонистическим действием к возбудителям инфекций и неспецифической иммуностимуляцией. Комбинации могут включать сочетания культур, обладающих симбиотичностью и селекционированных к выживанию в неблагоприятных условиях. Наряду с симбиотиками, представляют интерес продукты смешанного состава – комплексы про- и пребиотиков, т. е. синбиотики. Введение натуральных ингредиентов, содержащих повышенное количество витаминов, макро- и микроэлементов, пищевых волокон, amino- и жирных кислот, позволит получить продукт-синбиотик с хорошими органолептическими показателями, повышенной пищевой и биологической ценностью, длительным сроком хранения, бифидогенными свойствами и иммуностимулирующим действием [38].

Можно выделить пять трендов, которые являются ключевыми на рынке пробиотиков: появление жидких пробиотиков, позиционирующихся как «живые»; развитие производства функциональных продуктов питания с пробиотиками; усложнение технологического производства и разработка синбиотиков, постбиотиков и метабиотиков; сокращение низкого ценового сегмента в пользу более дорогих препаратов; акцентное внимание на упаковку и форму продукции.

БИФИДОБАКТЕРИИ И ЛАКТОБАЦИЛЛЫ КАК ОСНОВА ПРОБИОТИКОВ И ПРОДУКТОВ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПИТАНИЯ

Человеческий организм является сложным сложнейшим комплексом органов и систем, функционирующих в строгом взаимодействии; помимо этого, он также служит домом для более 500 различных видов микроорганизмов [39]. Исследования показывают эффективность пробиотических бактерий и подтверждают тесную связь между здоровьем человека, состоянием его кишечной микробиоты и иммунитетом [40–42]. Наиболее представительной и важной для человека является микробиота желудочно-кишечного тракта. В тонкой кишке в основном обитают представители лак-

тобактерий: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *L. rhamnosus*, *Limosilactobacillus fermentum* и др. Толстая кишка – главный резервуар бифидобактерий: *B. longum*, *B. bifidum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium breve* и др. [40]. Бифидобактерии принимают активное участие в пищеварении, способствуя процессу ферментативного переваривания пищи, так как усиливают гидролиз белков, сбраживают углеводы, омыляют жиры, растворяют клетчатку и стимулируют перистальтику кишечника. Они участвуют в синтезе витаминов группы В, витамина К, фолиевой и никотиновой кислот, незаменимых аминокислот, способствуют лучшему усвоению солей кальция и витамина D. Важной функцией также является их участие в формировании иммунологической реактивности организма [40–42]. На основании оригинальных исследований и метаанализов показана роль разных пробиотических штаммов бифидо- и лактобактерий в уменьшении симптоматики при синдроме раздражённого кишечника [43, 44], хронических запорах у людей пожилого возраста [45–47].

Именно поэтому в качестве пробиотических микроорганизмов преимущественно используют штаммы, относящиеся к бифидо- и лактобактериям.

Среди лактобактерий самым изученным и наиболее широко применяемым пробиотиком считается *L. rhamnosus* ATCC 53103 (синонимы – *Lactobacillus* GG и LGG). Он был выделен из кишечника здорового человека в 1983 г. и запатентован в 1985 г. S. Gorbach и B. Goldin [48, 49]. В ФПП так же, как и в биологически активных добавках, используют сочетание различных видов пробиотических микроорганизмов: бифидобактерий *B. longum* (CBT BG7), *Bifidobacterium lactis* (CBT BL3), *B. bifidum* (CBT BP3), лактобактерий *L. acidophilus* (CBT LA1), *L. rhamnosus* (CBT LR5), молочнокислых бактерий *Streptococcus thermophilus* (CBT ST3) с включением пребиотиков и других биологически активных веществ (витамин С и др.) [48, 50].

При изготовлении продуктов функционального питания, помимо молока, может быть использована и другая питательная основа: прежде всего растительное сырьё, ферментированное бифидобактериями, лактобациллами, молочнокислыми стрептококками и различными их комбинациями. Наиболее распространённым вариантом продуктов на немолочной основе является соевое молоко, а также фруктовые и овощные соки; среди последних чаще всего используются морковный, свекловый и картофельный [51]. Следует также отметить, что пробиотические кисломолочные продукты производятся с применением микроорганизмов, являющихся представителями нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека.

Тип штамма и уровень pH имеет большое значение в подборе оптимального баланса между клинической дозой, сроком годности и экономической эффективностью продукта. К другим факторам, от которых зависит включение пробиотика в продукты питания, относятся температура ферментации (влияет на рост пробиотиков), температуру хранения, тип упаковки (проница-

емость для кислорода), этапы обработки (термическая обработка и гомогенизация, взаимодействие с другими ингредиентами) [52–54]. Кроме того, компоненты, улучшающие вкусовые качества продукта (фрукты, злаки), должны сочетаться с пробиотиками и не оказывать влияния на их рост [52, 55].

Согласно исследованиям немецких учёных (Nutrition & Health, г. Нибюль, Германия), в производстве ФПП важно использование не только пробиотиков на этапе ферментации для обеспечения экономически эффективного количества клеток, но и пробиотических добавок для коррекции вкусового профиля продукта. Авторы также указывают, что наиболее уязвимым в производстве является этап ферментации продукта, когда есть риск роста патогенных микроорганизмов совместно с пробиотическими и заквасочными культурами. Для уменьшения риска применяют строгие гигиенические стандарты для ферментированных продуктов [52].

Существуют специально разработанные требования к пробиотическим препаратам, а также к микроорганизмам, используемым для обогащения пищи:

- должны быть изолированы из организма тех видов животных и человека, для которых они будут предназначены;
 - должны обладать полезным воздействием на организм хозяина, подтверждённым лабораторными исследованиями и клиническими наблюдениями;
 - при длительном использовании не должны вызывать побочные эффекты;
 - должны обладать колонизационным потенциалом, то есть сохраняться в пищеварительном тракте до достижения максимального положительного действия (быть устойчивыми к низким значениям pH, желчным кислотам, антимикробным субстанциям, продуцируемым индигенными микроорганизмами; хорошо адгезироваться к эпителию соответствующих слизистых оболочек);
 - должны обладать стабильными характеристиками как в клиническом, так и в технологическом плане;
 - должны обладать высокой скоростью роста и размножения в условиях, близким к таковым в кишечнике. При их культивировании *in vitro* для накопления биомассы следует создавать условия, максимально приближённые к таковым микроокружения просвета кишечника;
 - при введении в больших количествах должны обладать минимальной способностью к транслокации из просвета пищеварительного тракта во внутреннюю среду макроорганизма;
 - должны иметь чёткую физиолого-биохимическую и генетическую маркировку как для исключения фальсификации, так и для периодического контроля идентичности исходных пробиотических штаммов и производственных культур в процессе их эксплуатации [56].
- Полезные бактерии, используемые для создания ФПП, оказывают своё действие на организм через медиаторы – компоненты микробной клетки либо продукты метаболической активности (углекислый газ, пероксид водорода, органические кислоты, антибиотикоподобные вещества и др.) [57].

КРАТКИЙ ОБЗОР РЫНКА ФПП

Поскольку концепция «персонализированного питания» стоит на повестке дня в современном мировом сообществе, продукты питания, ориентированные на потребителя, на основе молочных продуктов стали привлекать внимание не только исследователей, но и производителей молочной продукции.

По данным научно-производственного центра «Агропищепром», современный рынок ФПП на 65 % состоит из молочных продуктов, из них около 10 % составляют пробиотические молочные продукты [58]. ФПП на молочной основе можно разделить на три группы.

Первая группа – молочные продукты, обладающие пробиотическими и/или пребиотическими свойствами. К ним могут быть отнесены традиционные кисломолочные продукты; кисломолочные продукты, обогащённые бифидобактериями; молочные продукты с пребиотиками; молочные продукты, обогащённые синбиотиками.

Вторая группа – биологически активные добавки к пище, включающие БАД-нутрицевтики, БАД-пробиотики и БАД-парафармацевтики.

Третья группа – группа, объединяющая продукты лечебного и лечебно-профилактического питания; детского и геродиетического питания; продукты для питания участников образовательного процесса (школьники, студенты и т. п.); продукты для спорта и фитнеса; молочные и молочносодержащие продукты со сбалансированным составом по основным нутриентам для детерминированных групп потребителей [58]. В настоящее время этот рынок находится в моменте экспоненциального роста и в значительной мере – благодаря разработке разнообразных пробиотических продуктов [59]. Это неслучайно, поскольку пробиотические культуры способствуют поддержанию организма в здоровом состоянии, улучшают пищеварение, укрепляют иммунитет [60].

ОБЗОР ЗАРУБЕЖНОГО РЫНКА ФПП С ПРО- И ПРЕБИОТИЧЕСКИМИ КОМПОНЕНТАМИ

В Дублине в январе 2022 г. сотрудниками известного американского журнала маркетинговых исследований Research and Markets был составлен отчёт «Рынок пробиотиков по ингредиентам, функциям, применению и конечному потребителю: глобальный анализ возможностей и отраслевой прогноз на 2021–2030 гг.». Авторы оценивали мировой рынок пробиотиков в 34,1 млрд долларов в 2020 г. и прогнозировали его увеличение к 2030 г. до 73,9 млрд долларов; при этом среднегодовой темп роста, по их оценкам, составит 8,6 %. По словам исследователей, пандемия COVID-19 оказала положительное влияние на мировой пробиотический рынок. Многие пробиотические продукты используются как стимуляторы повышения иммунитета организма человека, а производители вложили большие средства в улучшенные версии продуктов с пробиотиками.

По данным Ю.С. Бойцовой и И.П. Аленина, наиболее важным и динамичным участником рынка ФПП являются США с оценочной долей более 50 % [61]. Другим ключевым участником рынка ФПП является Япония, где важную роль играет компания Yakult Honsha, основанная в 1955 г. В 1984 г. концепция функционального питания впервые была предложена японскими учёными, изучающими взаимосвязи между характером питания, степенью удовлетворения органолептическими качествами пищи, обогащением и модуляцией физиологических систем [61, 62]. В 1991 г. Министерство здравоохранения Японии ввело правила для утверждения определённой категории продуктов питания, связанных со здоровьем, под названием FOSHU (Food for Specified Health Uses, продукты питания для определённых целей здравоохранения), устанавливающие конкретные требования для этого типа продуктов питания в отношении влияния на здоровье. [61]. Это нововведение на 10 лет опередило официальное признание пробиотиков. Первый коммерческий пробиотический молочный напиток под названием Yakult был выпущен на рынок в 1935 г. японским микробиологом М. Сирота (M. Shirota) на основе штамма *L. casei* Shirota, открытого в 1930 г. [61, 63]. Позже на мировые рынки были выведены другие молочнокислые напитки, содержащие пробиотические штаммы лактобацилл (*L. acidophilus* La-5, *L. rhamnosus* GG, *L. casei* Shirota, *L. casei* Danone, *L. casei*) и бифидобактерий (*B. bifidum* BB536, *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12, *B. longum* CKL 1969, *B. longum* DSM 2054) [64].

В Европе текущая доля функциональных продуктов питания на общем рынке продуктов питания и напитков составляет менее 1 % [61]. Наиболее важными игроками на этом рынке являются Германия, Франция, Великобритания и Нидерланды. В целом интерес потребителей функциональной пищи в странах Центральной и Северной Европы выше, чем в странах Средиземноморья.

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ РЫНКА ПРОБИОТИЧЕСКИХ ФПП

Популярность продукции, обогащённой пробиотиками, растёт во всём мире. За последние годы в мировом масштабе было выведено на рынок огромное количество пробиотических продуктов питания и напитков [65].

О. Карпов пишет, что осознание важности здорового кишечника играет роль мощного драйвера для роста рынка пробиотиков [66]. Проблемы с расстройствами пищеварения актуальны, и обусловлены они не столько проблемами с продовольственной безопасностью, сколько изменением образа жизни в сочетании с трансформацией пищевых привычек, вредными привычками и приёмом лекарств. Потребители создают огромный спрос на пробиотики, стремясь поддержать здоровье кишечника. Дополнительно стимулирует рост этого сегмента растущая осведомлённость населения о способах «помощи» работе кишечника [66].

По данным Coherent Market Insights, ожидается, что увеличение потребления функциональных продук-

тов питания с пробиотиками будет способствовать росту рынка. Производители совершенствуют упаковку, используя мягкий пластик, подлежащий вторичной переработке, что крайне важно в наш «век экологии»; исключают из состава лактозу, желатин, глютен и другие ингредиенты животного происхождения, сахар [67].

В ближайшем будущем растущий спрос на напитки с пробиотиками среди потребителей, заботящихся о своём здоровье, откроет для рынка новые прибыльные возможности. Так, в апреле 2020 г. компания Neuro выпустила новый пищеварительный напиток под названием «Пробуча», полученный из пробиотиков и чайного гриба. Его пробиотические преимущества заключаются в одном из компонентов *B. subtilis*, что делает его безопасным для хранения при комнатной температуре [68].

Coherent Market Insights прогнозируют, что пробиотики уже в ближайшем будущем будут активнее использоваться в таких продуктах, как выпечка, сыры, шоколад и колбасы, что откроет новые рыночные возможности [66]. Так, например, мороженое с пробиотическими добавками стало объектом не только научных, но и маркетинговых исследований [69]: новый бренд мороженого Culture Republick был представлен на рынке компанией Unilever в октябре 2018 г. В России таким производством занимается компания «Десант здоровья» (Томск). Они производят биомороженое, в состав которого входят бифидо- и лактобактерии. Томская фирма с 1998 г. ведёт разработку и внедрение функциональных диетических пробиотических продуктов питания с выраженным профилактическим воздействием на организм человека.

Ещё одна важная тенденция этого сегмента – активное установление партнёрских отношений и заключение соглашений между крупными производителями [66]. Например, в сентябре 2019 г. DuPont Nutrition & Biosciences объявила о начале стратегического сотрудничества с BY-HEALTH, медицинской компанией из Китая. Целью этого партнёрства является укрепление усилий в исследованиях и разработках пробиотических пищевых добавок с «новыми функциями, новыми ингредиентами и новыми технологиями» [66].

Таким образом, в пищевой промышленности и производстве напитков прогнозируется активный рост за счёт появления новых направлений внедрения пробиотических продуктов, в том числе в производство продуктов функционального питания.

Обзор рынка про- и пребиотических препаратов в РФ и за рубежом. Ключевые игроки на мировом рынке пробиотических продуктов

Анализ мирового рынка проводится по отдельным регионам и составляется итоговая общая статистика. В анализ включены: Северная Америка (США, Канада и Мексика), Европа (Великобритания, Франция, Нидерланды, Германия, Турция и остальные страны Европы), Азиатско-Тихоокеанский регион (Китай, Япония, Индия, Южная Корея, Австралия и остальная часть Азиатско-Тихоокеанского региона) и LAMEA (Бразилия, Южная Африка, ОАЭ и остальная часть LAMEA).

Ключевыми игроками на мировом рынке пробиотиков являются компании: BioGaia AB, Danone, Хр. Hansen

Holding A/S, Yakult Honsha Co. Ltd., Probi AB, Lifeway Foods, Inc., Nestle SA, Ganeden, Inc., El du Pont de Nemours and Company и Protexin [70].

Для объективной оценки состояния мирового рынка пробиотиков были изучены отчёты организаций, которые занимаются маркетинговыми исследованиями. Lumina Intelligence – это информационная служба, созданная Уильямом Ридом (Великобритания, Лондон), издателем новостных сайтов о еде и напитках, включая Nutraingredients.com и FoodNavigator.com. Lumina отслеживает онлайн-отзывы потребителей и связанные с ними сведения о продуктах в 20 странах, составляет отчёты по быстрорастущим рынкам продуктов питания. Сотрудниками компании Lumina Intelligence (на момент 2020 г.) на основе отзывов потребителей пробиотических препаратов были получены данные о самых востребованных производителях. Исследователи считают, что, в отличие от таких показателей, как доля рынка и оборот, именно отзывы покупателей могут дать реальное представление о рынке, а самыми востребованными производителями являются те, у которых больше всего положительных отзывов. Анализ топ-5 брендов показал различия в лидирующих компаниях по каждому региону. В Северной, Центральной и Южной Америке лидировали такие корпорации, как I-Health Inc., Mimi's Rock Inc., Church & Dwight Inc., The Clorox Company и Nestle SA (81,6; 54,2; 52,8; 50,3 и 48,0 тыс. отзывов соответственно). В Европе топ-5 составили: Nestle SA, Wren Laboratories LLC, Hyperbiotics Inc., Nutrizing Ltd и Church & Dwight Inc. (16,7; 10,8; 10,2; 9,3 и 9,0 тыс. отзывов соответственно). В Азиатско-Тихоокеанском регионе в пятёрку лидеров вошли: H&H Group, Jiangsu Qingyuankang Biology Technology Co Ltd, BY-Health Co Ltd, Sichuan Baixin Kangpin Trading Co Ltd и I-Health Inc. (1700; 683; 587; 526 и 342 тыс. отзывов соответственно). На индийском рынке ведущие позиции занимают: American Health Inc., Ramini Bionutrition Pvt Ltd, Nestle SA, Hyperbiotics Inc. и Lake Consumer Products (15,5; 15,4; 14,6; 10,1 и 8,7 тыс. отзывов соответственно). Помимо различий, касающихся выбора бренда на межрегиональном уровне, интерес вызывают сведения о самих потребителях. Например, ожидалось, что Запад будет лидировать по количеству отзывов, но в реальности оказалось, что абсолютно доминирует Китай. Из Китая поступило 3,4 млн отзывов, на втором месте – Южная Корея, замыкает тройку США [71].

Взяв за основу количество положительных отзывов на пробиотические препараты в России, сервис «Спасибо всем.ру» составил рейтинг препаратов, наиболее популярных в нашей стране (табл. 1). Данные актуальны на 2021 г. [72].

Важно отметить, что только среди поликомпонентных пробиотиков отечественные производители проигрывают иностранным компаниям, однако препараты отечественного производства занимают большую долю рынка.

Следует отметить, что анализ российского рынка пробиотиков и продуктов на их основе за 2010 г. [73], который был проведён сотрудниками Центра инвестиционно-промышленного анализа и прогноза (Россия, г. Черноголовка, Московская область), показал, что лидера-

ТАБЛИЦА 1
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПАНИИ И ПРОИЗВОДИМЫЕ
ИМИ ПРЕПАРАТЫ, ЛИДИРУЮЩИЕ В РАЗНЫХ ГРУППАХ
ПРОБИОТИКОВ

TABLE 1
MANUFACTURERS AND THEIR PRODUCTS, LEADING
IN DIFFERENT GROUPS OF PROBIOTICS

Группа	Производитель	Название препарата
Монокомпонентные пробиотики	ЗАО «Партнер» (Россия, Москва)	Бифидумбактерин
	Микроген (Россия, Москва)	Колибактерин
	Микроген (Россия, Москва)	Лактобактерин
Сорбционные пробиотики	ЗАО «Партнер» (Россия, Москва)	препарат «Пробифор»
	Группа компаний «Крафт» (Россия)	Бактистатин
	ЗАО «Партнер» (Россия, Москва)	Бифидумбактерин Форте
	АО «Сандоз» (Словения)	Линекс Форте
Поликомпонентные пробиотики	Pfizer Consumer Manufacturing (Италия)	Бифиформ
	Dr. Reddy's Laboratories (Германия)	Бион-3
	BIOCODEX (Франция)	Энтерол
	CHR. HANSEN (Дания)	Пробиолог
	GENEXO SP. Z.O.O. (Польша)	Максилак
Синбиотики	Бифилукс (Россия, Москва)	Нормофлорин-Б и Нормофлорин-Л
	ЗАО «Лекко» (Россия, Владимирская область)	Аципол
	Эвалар (Россия, Бийск)	Бифилар

ми являлись такие производители, как ЗАО «Партнер», НПО «Бифилайф», «Вектор-БиАльгам», «Био-Веста», а также Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности (ВНИМИ; Москва). Очевидно, что на протяжении 12 лет лидером в Российской Федерации остаётся ЗАО «Партнёр» [73]. Компании «Вектор-БиАльгам» и «Био-Веста» на сегодняшний день занимают ведущие позиции в Сибирском федеральном округе (СФО).

Анализ российского рынка по фактическим данным объёма продаж в аптеках (информационно-аналитический портал «Фармацевтический вестник», с использованием аналитических данных компании «АЛЬФА РЕСЕРЧ И МАРКЕТИНГ», по состоянию на апрель 2021 г.) показал, что в 2020 г. в аптеках было продано 54 млн упаковок пробиотиков и пребиотиков на 23 млрд руб. [74]. По сравнению с 2019 г. рынок средств для нормализации кишечной микробиоты вырос на 17 %. В топ лидеров по объёму продаж пробиотиков и пребиотиков в аптеках в 2020 г. вошли такие препараты, как «Линекс» (АО «Сандоз», Словения), «Бифиформ» («Pfizer Consumer Manufacturing», Италия), «Максилак» («GENEXO SP. Z.O.O», Польша), «Хилак форте» («Teva Pharmaceutical Industries Ltd.», Израиль) и «Бак-сет» («Pharmamed», Россия) [75]. В целом на рынке пробиотиков в Российской Федерации нельзя выделить одного ключевого игрока.

Современное состояние рынка фармакологических препаратов на основе про- и пребиотиков на примере Сибирского федерального округа

Пробиотики стали обычной частью нашей жизни. Об этом говорят и оценки ведущих экспертов, и высокий спрос на препараты в аптеках, и даже динамика поисковых запросов в поисковых системах. Оценка современного состояния рынка про- и пребиотиков в СФО проведена на основе литературных данных, результатов маркетинговых исследований и анализа статистики. В 2018 г. в Новосибирске одной из аптек «Листик» было проведено исследование, по результатам которого наиболее популярными препаратами были определены «Бифидум Баг», «Линекс», «Биовестин», «Дюфалак», «Энтерол», «Хилак Форте», «Аципол», «Бифидумабактерин» [76]. Следует отметить, что в топ-3 вошли местные производители – АО «Вектор-БиАльгам» и ООО «Био-Веста».

«Вектор-БиАльгам» – одно из ведущих предприятий в области производства фармацевтических иммунобиологических препаратов в России – функционирует в Новосибирске. Продукция предприятия предназначена для коррекции нарушений микробиоты организма, лечения и профилактики дисбиозов, а также улучшения обмена веществ и общего состояния (табл. 2).

«Био-Веста» – это группа компаний, основанная в 1992 г. сотрудниками Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Кольцово); она располагает современным биотехнологическим оборудованием и выпускает на рынок высокоэффективные БАД и лечебно-оздоровительные продукты на основе

пробиотических микроорганизмов: биологически активные добавки, продукты лечебного, функционального и детского питания (табл. 3).

Ещё одна новосибирская компания ООО Биокор ТМ «Лактомир» производит биопродукты с эффективными штаммами ацидофильных бактерий «Наринэ ТНСи», «Бифидум791БАГ», а также продукты с инулином и ди-гидрокверцетином. Ассортимент представлен жидкими пробиотиками.

Следует отметить ещё одну новосибирскую компанию – «VILAVI INT LTD», которая является отечественным лидером по производству метабиотиков. Метабиотики – продукты метаболизма или структурные компоненты пробиотических микроорганизмов [77]. В отличие от пробиотиков (живых бактерий, содержащихся в определённых продуктах питания или добавках), метабиотики не содержат живых бактерий. Они не разрушаются под воздействием желудочного сока и пищеварительных ферментов, в условиях приёма антибиотиков, а также не вступают в конфликт с микробиотой организма – т. е. не обладают недостатками, присущими проби-

отикам [78]. Так, например, в состав «Т8 МОБИО» входит лактулоза и метафилтраты продуктов обмена веществ пяти наиболее распространённых симбиотических бактерий человеческого организма [79]. Эта авторская разработка в 2020 г. получила декларацию соответствия требованиям Евразийского экономического союза.

В Томске функционирует компания «Артлайф» – одна из самых быстро и уверенно развивающихся российских компаний в сфере здорового питания. Компания сотрудничает с 26 странами мира и поставляет свою продукцию в 420 городов, а также является первой в создании БАД в России. «Артлайф» – производитель с широким спектром продукции, направленной на оздоровление организма. Они создают биокомплексы, продукты питания, косметические средства (табл. 4). Следует отметить, что в ассортименте «Артлайф» есть много продукции, содержащей метабиотики.

Пробиотическое мороженое разработано микробиологом Евгением Гуткевичем в 1990-х годах. Компания «Десант здоровья» основана в Томске в 1998 г. и специализируется на производстве биомороженого «Укрепляйка», «Де-

ТАБЛИЦА 2
ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ, ПРОИЗВОДИМЫЕ
КОМПАНИЕЙ «ВЕКТОР-БИАЛЬГАМ»

Название препарата	Вид продукта	Название штаммов в препаратах
Бифидум БАГ	Жидкий концентрат	<i>B. bifidum</i> (3 штамма) и <i>B. longum</i> (2 штамма)
Трилакт	Жидкий пробиотик	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> и <i>L. plantarum</i>
Экофлор сорбент	Лиофилизированный симбиотик с сорбентом	<i>B. bifidum</i> , <i>B. longum</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i> и <i>L. acidophilus</i> , иммобилизованные на углеродминеральном энтеросорбенте (СУМС-1)
НариЛак Форте-В	Жидкий симбиотик	<i>L. acidophilus</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. bifidum</i> , кислостойчивый штамм <i>B. bifidum</i> 791 БАГ
Бифацил	Симбиотическая сухая закваска	<i>L. acidophilus</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. longum</i>
Биойогурт	Симбиотическая сухая закваска	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> и <i>S. thermophilus</i>
Бифатоник	Симбиотическая сухая закваска	<i>Lactobacillus</i> , <i>Propionobacterium</i> , <i>L. lactis</i> , <i>B. bifidum</i> и <i>B. longum</i>
Биоснежок	Сухая закваска	<i>S. thermophilus</i> и <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>B. bifidum</i> и <i>B. longum</i>

TABLE 2
PROBIOTIC PREPARATIONS PRODUCED
BY VECTOR-BIALGAM

ТАБЛИЦА 3
ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ,
ПРОИЗВОДИМЫЕ КОМПАНИЕЙ «БИО-ВЕСТА»

Название препарата	Вид продукта	Название штаммов в препаратах
Биовестин	Жидкий пробиотик	<i>Bifidobacterium longum</i> MC-42
Биовестин-лакто	Жидкий пробиотик	<i>Lactobacillus plantarum</i> 8PA3 и <i>Bifidobacterium longum</i> MC-42
Биовестин-А	Жидкий пробиотик	<i>Bifidobacterium longum</i> MC-42 и натрий двууглекислый
Бифилин-М	Функциональный напиток	Монозакваска бифидобактерий
Тонус	Функциональный напиток	Закваска, состоящая из лактококков, пропионовокислых и уксуснокислых бактерий

TABLE 3
PROBIOTIC PREPARATIONS MANUFACTURED
BY BIO-VESTA

сант Здоровья», «BioFly fitness» и др. В 2016 г. опытное производство биомороженого по технологии, разработанной томскими учёными, запустил в Сантьяго проект Bifidice [80].

На Алтае лидирующую позицию по производству БАД занимает компания «Эвалар». Данная компания по праву считается брендом региона и является крупнейшим производителем фармацевтики в Российской Федерации. Она расположена в г. Бийск Алтайского края и работает с 1991 г. Изготовление БАД происходит в Барселоне (Испания). «Эвалар» является импортёром продукции, которая характеризуется широким спектром применимых свойств (табл. 5). Компания также занимается продажей метабиотиков.

В Красноярске функционирует компания «Normi», которая производит более 50 продуктов. Основной ассортимент представлен нормофлоринами, сорбентами, про- и пребиотиками, растительным молоком, БАД. Нормофлорины – это комплекс пробиотиков и пребиотиков для восстановления микробиоты человека (табл. 6). Пребиотики включают продукты метаболизма бактерий: органические кислоты (в т. ч. молочную и янтарную), аминокислоты (в т. ч. незаменимые), микро- и макроэлементы, витамины, антимикробные вещества натурального происхождения; пребиотик лактит, стимулирующий рост защитной микробиоты. «Normi» были первыми, кто запустил производство нормофлоринов в СФО.

ТАБЛИЦА 4
ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ,
ПРОИЗВОДИМЫЕ КОМПАНИЕЙ «АРТЛАЙФ»

Название препарата	Вид продукта	Название штаммов в препаратах
Панбиолакт	Синбиотик	<i>B. bifidum</i> , <i>B. animalis</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>L. acidophilus</i> , инулин, цистеин, папаин, лактаза
Панбиолакт Де-Фем	Пробиотик Пребиотик Метабиотик	<i>B. breve</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. salivarius</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>Propionibacterium freudenreichii</i> , смесь лизатов четырёх видов бактерий (<i>B. adolescentis</i> , <i>B. longum</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i> , инулин

TABLE 4
PROBIOTIC PREPARATIONS PRODUCED BY ARTLIFE

ТАБЛИЦА 5
ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ,
ПРОИЗВОДИМЫЕ КОМПАНИЕЙ «ЭВАЛАР»

Название препарата	Вид продукта	Название штаммов в препаратах
Мультифлора Эвалар Холестерол	Пробиотик	<i>L. plantarum</i> CECT 7527, CECT 7528, CECT 7529
Мультифлора	Синбиотик	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>B. breve</i> , <i>S. thermophiles</i> , <i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>B. longum</i> и инулин
ОРВИС	Пробиотик	<i>L. plantarum</i> DR7
Мультифлора Эвалар Дерма	Пробиотик	<i>L. sakei</i> Probio 65
Бифилар	Синбиотик	<i>B. longum</i> , <i>L. acidophilus</i> и фруктоолигосахариды
Нефростен	Пробиотик	<i>L. plantarum</i> с экстрактом клюквы
Мультифлора Эвалар Дента	Пробиотик	<i>L. brevis</i> CECT 7480, <i>L. plantarum</i> CECT 7481 и <i>Pedococcus acidilactici</i>
Мультифлора Эвалар Феми	Пробиотик	<i>L. plantarum</i> I1001
Мультифлора Макси	Синбиотик	<i>Bifidobacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> , фруктоолигосахариды

TABLE 5
PROBIOTIC PREPARATIONS PRODUCED BY EVALAR

ТАБЛИЦА 6
ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ, ПРОИЗВОДИМЫЕ
КОМПАНИЕЙ «NORMI»

Название препарата	Вид продукта	Название штаммов в препаратах
Нормофлорин Б	Биокомплекс	<i>B. bifidum</i> , <i>B. longum</i> , пребиотики
Нормофлорин Д	Биокомплекс	<i>L. casei</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. bifidum</i> , пребиотики
Нормофлорин Л	Биокомплекс	<i>L. acidophilus</i> ; пребиотики

TABLE 6
PROBIOTIC PREPARATIONS PRODUCED BY NORMI

Компания выпускает пребиотический продукт «Бионектария», который стимулирует рост полезной микрофлоры, увеличивает массу фекалий, улучшает перистальтику кишечника, способствует регулярному его очищению, является превосходным сорбентом, оказывает обволакивающее, цитопротекторное действие, выводит токсичные вещества, благотворно влияет на липидный, углеводный обмен. В состав входят лактит, фибрегам Р, яблочный пектин, морковь сушёная.

В Иркутской области развито производство пребиотических продуктов. Так, в Усолье-Сибирском с 1990 г. функционирует предприятие детского и лечебного питания «Вита». «Вита» – одна из первых компаний в регионе, которая начала выпускать продукты функционального назначения из козьего молока с добавлением бифидобактерий, что позволяет обеспечивать этими уникальными лечебными продуктами разные группы населения, в том числе детей, страдающих пищевой аллергией, включая аллергию к коровьему молоку. Продукция представлена молочными и кисломолочными продуктами, обогащёнными пробиотиками. В ассортименте присутствуют такие продукты, как «Бифивит», «Бифимикс», «Бифилайф», «Ацидолакт» и др.

В Ангарске производством кисломолочных про- и пребиотических продуктов занимается компания «Лактовит», выпускающая широкий ассортимент традиционных молочных и функциональных продуктов лечебно-профилактического назначения (пробиотиков, пребиотиков и синбиотиков).

Ещё одной компанией, специализирующейся на изготовлении пребиотических продуктов на территории Иркутской области, является компания ООО «Байкал-Биотех», которая осуществляет производство уникальных биопродуктов нового поколения торговой марки «ЭМ-Курунга». Производство находится в Осинском районе Иркутской области. Среди народов Центральной и Северной Азии для укрепления иммунитета и нормализации кишечной микрофлоры испокон веков принимали уникальный кисломолочный продукт из коровьего молока – «хурэнгэ» (курунга). Напиток получается в результате брожения молока, в которое добавляют дрожжи и закваску. В состав «ЭМ-Курунга» входит 90 штаммов микроорганизмов – симбиоз бифидобактерий, лактобактерий, уксуснокислых, пропионовокислых и других бактерий, лактострептококков, молочных дрожжей, а также ферментов, аминокислот, в том числе всех незаменимых, витаминов, макро- и микроэлементов. Современная форма продукта – таблетки, капсулы, спреи – содержат значительно больше полезных веществ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Человек начал производить ферментированные продукты и напитки более 10 000 лет назад, при этом каждая цивилизация внесла свой вклад в создание и активное продвижение технологии производства огромного разнообразия традиционных кисломолочных продуктов. Таким образом, пробиотики и консорциумы пребиотических ми-

кроорганизмов используются на протяжении всей истории человечества, а концепция функционального питания восходит к Гиппократу IV века, который писал: «Пусть еда будет вашим лекарством, а лекарство – вашей пищей».

На сегодняшний день основные тренды развития рынка пробиотиков и функционального питания включают появление жидких пробиотиков, позиционирующихся как «живые»; развитие производства функциональных продуктов питания с пробиотиками; усложнение технологического производства и разработку синбиотиков, постбиотиков и метабиотиков; сокращение низкого ценного сегмента в пользу более дорогих препаратов; акцентное внимание на упаковку и форму продукции. Исходя из этого в пищевой промышленности и производстве напитков ожидается активное развитие новых направлений внедрения про- и пребиотических продуктов, а также продуктов функционального питания, обогащённых полезными микроорганизмами. Таким образом, концепция «персонализированного питания», которая стоит на повестке дня в современном мировом сообществе, будет реализована в выходе на рынок продуктов питания, ориентированных на потребителя.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белькова Н.Л., Немченко У.М., Погодина А.В., Феранчук С.И., Романица А.И., Новикова Е.А., и др. Особенности состава и структуры кишечного микробиома подростков с ожирением и разной продолжительностью грудного вскармливания. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2019; 167(6): 717-721.
2. Novikova EA, Belkova NL, Pogodina AV, Romanitsa AI, Klimenko ES, Nemchenko UM, et al. Gut microbiota shift in obese adolescents born by cesarean section. *International Journal of Biomedicine*. 2020; 10(4): 424-429. doi: 10.21103/Article10(4) OA19
3. Немченко У.М., Белькова Н.Л., Погодина А.В., Новикова Е.А., Романица А.И., Клименко Е.С., и др. Особенности состава бифидофлоры в кишечном микробиоме подростков с ожирением. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2021; 39(3): 31-38. doi: 10.17116/molgen20213903131
4. Бондаренко В.М. Молекулярно-генетические и молекулярно-биологические исследования представителей родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2006; 1: 18-24.
5. *Пребиотики и пробиотики – в чем разница?* URL: <http://cgon.rosпотреbnadzor.ru/content/ostalnoe/prebiotiki-i-probiotiki-v-chem-raznica> [дата доступа: 08.06.2022].
6. Binns N. *Probiotics, prebiotics and the gut microbiota*. ILSI Europe Concise Monographs; 2013: 1-32.
7. McFarland LV. From yaks to yogurt: The history, development, and current use of probiotics. *Clin Infect Dis*. 2015; 2: S85-90. doi: 10.1093/cid/civ054
8. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association

for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014; 11(8): 506-514. doi: 10.1038/nrgastro.2014.66

9. Рябцева С.А., Храмов А.Г. *Пробиотики, пребиотики, синбиотики, постбиотики: проблемы и перспективы. Биоразнообразие, биоресурсы, вопросы биотехнологии и здоровье населения Северо-Кавказского региона: Сборник научных трудов Северо-Кавказского федерального университета*. Ставрополь: Северо-Кавказский федеральный университет; 2020: 119-123.

10. Селезнева Н.В., Сергеев А.С., Гребенчиков А.В. Синбиотики как функциональный компонент питания человека. *Современные наукоемкие технологии*. 2009; (4): 67-68.

11. Ардатская М.Д. Пробиотики, пребиотики и метабиотики в коррекции микробиологических нарушений кишечника. *Медицинский совет*. 2015; (13): 94-99. doi: 10.21518/2079-701X-2015-13-94-99

12. Володькина Г.М., Кокотова В.И., Куров И.С. *Влияние пробиотиков на физиологический статус и продуктивность крупного рогатого скота*. Тверь: Издательство Тверской ГСХА; 2019.

13. Ющук Н.Д., Бродов Л.Е. *Острые кишечные инфекции: диагностика и лечение*. М.: Медицина; 2001: 244-253.

14. Мазанкова Л.Н., Лыкова Е.А. Пробиотики: характеристика препаратов и выбор в педиатрической практике. *Детские инфекции*. 2004; 1: 18-23.

15. Успенский Ю.П., Барышникова Н.В. Мировые тенденции к расширению сферы использования пробиотиков: актуальность применения средств на основе *Bacillus subtilis*. *Consilium Medicum. Гастроэнтерология*. 2012; (1): 75-79.

16. Бухарин О.В., Семенов А.В., Черкасов С.В. Характеристика антагонистической активности пробиотических бактерий при их взаимодействии. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2010; 12(4): 347-352.

17. Бондаренко В.М., Рыбальченко О.В. Анализ профилактического и лечебного действия пробиотических препаратов с позиций новых научных технологий. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2015; (2): 90-104.

18. Феклисова Л.В., Мескина Е.Р. Новое поколение сорбированных бифидосодержащих пробиотиков в педиатрической практике. *Альманах клинической медицины*. 2005; 8(1): 329-338.

19. Казюлин А.Н., Гончаренко А.Ю., Павлеева Е.Е., Калягин И.Е. Эволюция терапии пробиотиками в клинике внутренних болезней. *Русский медицинский журнал*. 2019; (12): 89-96.

20. *Пробиотики и пребиотики для кишечника*. URL: <https://stromynka7.ru/blog/probiotiki-i-prebiotiki-dlja-kishechnika/> [дата доступа: 08.06.2022].

21. Манухин И.Б., Балан В.Е., Доброхотова Ю.Э., Крутова В.А., Кутуева Ф.Р., Сахаутдинова И.В., и др. Новые возможности терапии бактериального вагиноза: опыт одновременного применения антибиотика и пробиотика. *Акушерство и гинекология*. 2020; (6): 105-114. doi: 10.18565/aig.2020-6.105-114

22. Торшин И.Ю., Громова О.А., Тетраушвили Н.К., Унанян А.Л. О синергидных взаимодействиях бифидобактерий и витаминов для поддержания здоровья беременной и плода. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2020; 19(5): 102-113. doi: 10.20953/1726-1678-2020-5-102-113

23. Дбар С.Д., Стоянова Л.Г. Новое поколение пробиотиков – психобиотики, их назначение и функции. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66(9-10): 64-80. doi: 10.37489/0235-2990-2021-66-9-10-64-78

24. Gasbarrini G, Bonvicini F, Gramenzi A. Probiotics history. *J Clin Gastroenterol*. 2015; 50(Suppl 2): 116-119. doi: 10.1097/MCG.0000000000000697

25. *Все, что нужно знать о йогуртах в разных странах мира*. URL: <https://pink.ua/news/8771> [дата доступа: 09.06.2022].

26. Ozen M, Dinleyici EC. The history of probiotics: The untold story. *Benef Microbes*. 2015; 6(2): 159-165. doi: 10.3920/BM2014.0103

27. Сидоренко И.В. *История развития молочной промышленности: учебное пособие*. Брянск: ФГБОУ ВО «Брянский государственный аграрный университет»; 2015.

28. *Творог кислый, творог сладкий*. URL: <http://petkach.spb.ru/expertizy/86-2007/1123-150> [дата доступа: 10.06.2022].

29. *История происхождения творога*. URL: <https://nedelka-klin.ru/2018/03/28/istoriya-proishozhdeniya-tvoroga/> [дата доступа: 09.06.2022].

30. *История сыроделия*. URL: <https://cheese-home.com/rubric/146/Istoriya-syrodelya> [дата доступа: 09.06.2022].

31. Кострова Ю.Б., Горлина И.А. *Анализ и перспективы развития рынка функциональных продуктов. Донецкие чтения 2019: образование, наука, инновации, культура и вызовы современности: Материалы IV Международной научной конференции (Донецк, 29–31 октября 2019 года)*. Донецк: Донецкий национальный университет; 2019: 291-293.

32. *Функциональные продукты: как тренд на суперфуды захватил мир и добрался до России*. URL: <https://milknews.ru/longridy/funkcionalniye-produkty.html> [дата доступа: 10.06.2022].

33. *Функциональное питание. Что это такое?* URL: <https://magas.bezformata.com/listnews/funkcionalnoe-pitanie-chto-eto/92698022/> [дата доступа: 13.06.2022].

34. *Функциональные продукты питания*. URL: https://74.rospotrebnadzor.ru/faq/-/asset_publisher/W7cB/content/id/1000000661163;jsessionid=2BF0B8E7BFB2FAA3969A982CDBF285E3?redirect=http%3A%2F%2F74.rospotrebnadzor.ru%2Ffaq%3Bjsessionid%3D2BF0B8E7BFB2FAA3969A982CDBF285E3%3Fp_id%3D101_INSTANCE_W7cB%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview%26p_p_col_id%3Dcolumn-1%26p_p_col_pos%3D1%26p_p_col_count%3D2%26_101_INSTANCE_W7cB_advancedSearch%3Dfalse%26_101_INSTANCE_W7cB_keywords%3D%26_101_INSTANCE_W7cB_delta%3D15%26_101_INSTANCE_W7cB_cur%3D11%26_101_INSTANCE_W7cB_andOperator%3Dtrue [дата доступа: 10.06.2022].

35. Кожевникова Е.Н., Усенко Д.В., Елешева Л.И., Николаева С.В. Продукты с пробиотиками – поддержка концепции функционального питания детей. *Русский медицинский журнал*. 2010; 18(5): 248-254.

36. Тутельян В.А. Здоровое питание для общественного здоровья. *Общественное здоровье*. 2021; 1(1): 56-64.

37. Бояринаева И.В. Пробиотики в функциональном питании. *Вестник Хабаровского государственного университета экономики и права*. 2020; 3(104): 160-163. doi: 10.38161/2618-9526-2020-3-03

38. Крючкова В.В., Контарева В.Ю., Шрамко М.И., Евдокимов И.А. Перспективы развития функциональных продуктов питания. *Молочная промышленность*. 2011; 8: 36-37.

39. Manson JM, Rauch M, Gilmore MS. The commensal microbiology of the gastrointestinal tract. *Adv Exp Med Biol*. 2008; 635: 15-28. doi: 10.1007/978-0-387-09550-9_2

40. Ганина В.И., Пахомова А.Н. Бифидобактерии и лактобактерии – компоненты продуктов персонализированного пи-

тания. *Низкотемпературные и пищевые технологии в 21 веке: Сборник материалов конференции*. 2019; 2: 143-146.

41. Шендеров Б.А. Микробная экология человека и ее роль в поддержании здоровья. *Метаморфозы. Вестник восстановительной медицины*. 2014; (5): 72-80.

42. Blum HE. The human microbiome. *Adv Med Sci*. 2017; 62: 414-420. doi: 10.1016/j.advms.2017.04.005

43. Beom JL, Bak YT. Irritable bowel syndrome, gut microbiota and probiotics. *J Neurogastroenterol Motil*. 2011; 17(3): 252-266. doi: 10.5056/jnm.2011.17.3.252

44. Martínez-Martínez MI, Calabuig-Tolsá R, Cauli O. The effect of probiotics as a treatment for constipation in elderly people: A systematic review. *Arch Gerontol Geriatr*. 2017; 71: 142-149. doi: 10.1016/j.archger.2017.04.004

45. Cassani E, Privitera G, Pezzoli G, Pusani C, Madio C, Iorio L, et al. Use of probiotics for the treatment of constipation in Parkinson's disease patients. *Minerva Gastroenterologica e Dietologica*. 2011; 57(2): 117-121.

46. Kondo J, Xiao J, Shirahata A, Baba M, Abe A, Ogawa K, et al. Modulatory effects of *Bifidobacterium longum* BB536 on defecation in elderly patients receiving enteral feeding. *World J Gastroenterol*. 2013; 19(14): 2162-2170. doi: 10.3748/wjg.v19.i14.2162

47. Silva M, Jacobus NV, Deneke C, Gorbach SL. Antimicrobial substance from a human *Lactobacillus* strain. *Antimicrob Agents Chemother*. 1987; 31(8): 1231-1233. doi: 10.1128/aac.31.8.1231

48. Дроздов В.Н., Астаповский А.А., Сереброва С.Ю., Лазарева Н.Б., Ших Е.В. Клиническая эффективность пробиотических штаммов родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*. *Вопросы питания*. 2020; 89(2): 107-115. doi: 10.24411/0042-8833-2020-10021

49. Gorbach SL, Goldin BR. *Lactobacillus strains and methods of selection*: US Patent N 4839281.

50. Fernandez M, Hudson JA, Korpela R, de los Reyes-Gavilan CG. Impact on human health of microorganisms present in fermented dairy products: An overview. *Biomed Res Int*. 2015; 2015: 412714.

51. Бисенгалиев Р.М., Садыков Р.С., Акбатырова Э.Т. Пробиотики и пребиотики как основа функционального питания. *Молодой ученый*. 2016; 8(112): 185-188. URL: <https://moluch.ru/archive/112/28356/> [дата доступа: 17.06.2022].

52. *Производство и поставка пробиотиков: обзор практического подхода*. URL: <http://propionix.ru/proizvodstvo-i-postavka-probiotikov-obzor-praktiki> [дата доступа: 20.06.2022].

53. Masoud R, Fadaei V, Khosravi-Darani K, Nikbakht HR. Improving the viability of probiotic bacteria in yoghurt by homogenization. *J Food Process Preserv*. 2015; 39: 2984-2990.

54. Cruz AG, Castro WF, Faria JAF, Bolini HMA, Celeghini RMS, Raices RSL, et al. Stability of probiotic yogurt added with glucose oxidase in plastic materials with different permeability oxygen rates during the refrigerated storage. *Food Res Int*. 2013; 51: 723-728.

55. Vinderola CG, Costa GA, Regenhardt S, Reinheimer JA. Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. *Int Dairy J*. 2002; 12: 579-589.

56. Клярская И.Л., Вильцанюк, И.А. Современные взгляды на нарушения микробиоценоза кишечника, их диагностика и коррекция. *Крымский терапевтический журнал*. 2007; (2 (9)): 12-17.

57. Никитина Е.В., Китаевская С.В., Киямова С.Н. *Основы физиологии питания: учебное пособие*. Казань: КГТУ; 2008.

58. *Функциональное питание основные понятия и требования. Обзор продуктов*. URL: <https://agropit.ru/>

функциональное-питание-основные-пон/ [дата доступа: 20.06.2022].

59. *Пробиотики и активные культуры: как обогатить свои продукты*. URL: <https://sfera.fm/articles/molochnaya/probiotiki-i-aktivnye-kultury-kak-obogatit-svoi-produkty> [дата доступа: 20.06.2022].

60. *Мировой рынок пробиотиков: Европа теряет лидерские позиции*. URL: <https://bake.ingredients.pro/news/editorial/mirovoy-rynok-probiotikov-evropa-teryaet-pozitsii/> [дата доступа: 21.06.2022].

61. Бойцова Ю.С., Аленин И.П. Анализ рынка и маркетинговых возможностей в начале становления функционального питания в Европе. *Вестник Алтайской академии экономики и права*. 2020; 5(1): 19-26.

62. Hosoya N. Health claims in Japan. *Jap J Nutr Food*. 1998; (1): 1-11.

63. Yakult – *The little bottle on a mission*. URL: www.yakult.co.uk [date of access: 21.06.2022].

64. *Якульт, йогурт «Швепс» и Баттермилк: как выйти на российский рынок с новыми кисломолочными продуктами, которые уже популярны за рубежом*. URL: <https://ssnab.ru/news/jakult-jogurt-shveps-i-battermilk-kak-vyiti-na-rossijskij-rynok-s-novymi-kisломolochnymi-produktami-kotorye-uzhe-populjarny-za-rubezhom/> [дата доступа: 22.06.2022].

65. *Мировой рынок пробиотиков: стабильный рост*. URL: <http://www.bfi-online.ru/aviews/index.html?msg=8989&kk=30a1c253a8> [дата доступа: 15.06.2022].

66. *Рынок пробиотиков к 2027 г. превысит \$80 млрд*. URL: <https://foodbay.com/wiki/novosti-industrii/2020/11/27/rynok-probiotikov-k-2027-godu-prevysit-80-mlrd/> [дата доступа: 15.06.2022].

67. *Probiotics market analysis*. URL: <https://www.coherentmarketinsights.com/market-insight/probiotics-market-3988> [date of access: 15.06.2022].

68. *The Wiggles yoghurt pouches*. URL: <https://brownsdairy.com.au/products/yoghurt/wiggles-yoghurt-pouches/> [date of access: 15.06.2022].

69. Pimentel TC, Oliveira LG, Souza RC, Magnani M. Probiotic ice cream: A literature overview of the technological and sensory aspects and health properties. *Int J Dairy Technol*. 2022; 75(1): 59-76. doi: 10.1111/141-0307.12821

70. *Global probiotics market (2021 to 2030) – Featuring Bio-Gaia, Danone and Nestle among others*. URL: <https://www.globenewswire.com/en/newsrelease/2022/01/21/2370867/28124/en/Global-Probiotics-Market-2021-to-2030-Featuring-BioGaia-Danone-and-NestleAmongOthers.html> [date of access: 27.06.2022].

71. *Global probiotics market: Trends, consumer behaviour and growth opportunities*. URL: <https://www.lumina-intelligence.com/blog/probiotics/global-probiotics-market-trends-consumer-behaviour-and-growth-opportunities/#analysis> [date of access: 27.06.2022].

72. *15 лучших пробиотиков*. URL: <https://spasibovsem.ru/ratings/krasota-i-zdorove/15-luchshih-probiotikov/> [дата доступа: 27.06.2022].

73. *Анализ российского рынка пробиотиков и продуктов на их основе (2010 год)*. URL: <http://centripap.ru/report/food/functional/Probiotic/> [дата доступа: 27.06.2022].

74. *Розничный мониторинг аптечных продаж ЛС и БАД в РФ*. URL: <https://alpharm.ru/> [дата доступа: 27.06.2022].

75. COVID-19 существенно изменил состав лидеров на рынке пробиотиков и пребиотиков. URL: <https://pharmvestnik.ru/content/articles/COVID-19-sushestvenno-izmenil-sostav-liderov-na-rynke-probiotikov-i-prebiotikov.html> [дата доступа: 27.06.2022].

76. Кто зарабатывает на пробиотиках в Новосибирске? URL: <https://ksonline.ru/347428/kto-zarabatyvaet-na-probiotikah-v-novosibirsk/> [дата доступа: 27.06.2022].

77. Пробиотики, пребиотики и метабиотики: в чём разница? URL: <https://actoflor.ru/post/chto-takoe-metabiotiki> [дата доступа: 27.06.2022].

78. Что такое метабиотики и в чём их отличие от пробиотиков? URL: <https://www.thesymbol.ru/beauty/health/chto-takoe-metabiotiki-i-v-chem-ih-otlichie-ot-probiotikov/> [дата доступа: 27.06.2022].

79. Метабиотики: новое слово в профилактике дисбактериальных нарушений. URL: <https://stromynka7.ru/blog/metabiotiki-novoe-slovo-v-profilaktike/> [дата доступа: 27.06.2022].

80. Производство биомороженого по томской технологии наладили в Чили. URL: <https://tomsk.bezformata.com/listnews/biomorozhenogo-po-tomskoj-tehnologii/53345086/> [дата доступа: 27.06.2022].

REFERENCES

1. Belkova NL, Nemchenko UM, Pogodina AV, Feranchuk SI, Romanitsa AI, Novikova EA, et al. Features of composition and structure of the gut microbiome in adolescents with obesity and different duration of breast feeding. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019; 167(6): 717-721. (In Russ.).

2. Novikova EA, Belkova NL, Pogodina AV, Romanitsa AI, Klimenko ES, Nemchenko UM, et al. Gut microbiota shift in obese adolescents born by cesarean section. *International Journal of Biomedicine*. 2020; 10(4): 424-429. doi: 10.21103/Article10(4) OA19

3. Nemchenko UM, Belkova NL, Pogodina AV, Romanitsa AI, Novikova EA, Klimenko ES, et al. Features of the composition of bifidoflora in the intestinal microbiome of obese adolescents. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2021; 39(3): 31-38. (In Russ.). doi: 10.17116/molgen20213903131

4. Bondarenko VM. Molecular-and-genetic and molecular-and-biological studies of Bifidobacterium and Lactobacillus representatives. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2006; 1: 18-24. (In Russ.).

5. Prebiotics and probiotics – what's the difference? URL: <http://cgon.rosпотребнадзор.ru/content/ostalnoe/prebiotiki-i-probiotiki-v-chem-raznica> [date of access: 08.06.2022]. (In Russ.).

6. Binns N. *Probiotics, prebiotics and the gut microbiota*. ILSI Europe Concise Monographs; 2013: 1-32.

7. McFarland LV. From yaks to yogurt: The history, development, and current use of probiotics. *Clin Infect Dis*. 2015; 2: S85-90. doi: 10.1093/cid/civ054

8. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014; 11(8): 506-514. doi: 10.1038/nrgastro.2014.66

9. Ryabtseva SA, Khramtsov AG. Probiotics, prebiotics, synbiotics, postbiotics: Problems and prospects. *Bioraznoobrazie, biosursy, voprosy biotekhnologii i zdorov'e naseleniya Severo-Kavka-*

zskogo regiona: Sbornik nauchnykh trudov Severo-Kavkazskogo federal'nogo universiteta. Stavropol: Severo-Kavkazskiy federal'nyy universitet; 2020: 119-123. (In Russ.).

10. Selezneva NV, Sergeev AS, Grebenshchikov AV. Synbiotics as a functional component of human nutrition. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii*. 2009; (4): 67-68. (In Russ.).

11. Ardatskaya MD. Probiotics, prebiotics and metabiotics in the management of microecological bowel disorders. *Medical Council*. 2015; (13): 94-99. (In Russ.). doi: 10.21518/2079-701X-2015-13-94-99

12. Volodkina GM, Kokotova VI, Kurov IS. *Influence of probiotics on the physiological status and productivity of cattle*. Tver: Izdatel'stvo Tverskoy GSKhA; 2019. (In Russ.).

13. Yushchuk ND, Brodov LE. *Acute intestinal infections: Diagnosis and treatment*. Moscow: Meditsina; 2001: 244-253. (In Russ.).

14. Mazankova LN, Lykova EA. Probiotics: Drug characteristics and choice in pediatric practice. *Children Infections*. 2004; 1: 18-23. (In Russ.).

15. Uspensky YuP, Baryshnikova NV. World trends towards expanding the use of probiotics: The relevance of the use of products based on *Bacillus subtilis*. *Consilium Medicum. Gastroenterology (Suppl.)*. 2012; (1): 75-79. (In Russ.).

16. Bukharin OV, Semenov AV, Tcherkasov SV. Antagonistic activity of probiotic bacteria. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2010; 12(4): 347-352. (In Russ.).

17. Bondarenko VM, Rybalchenko OV. Analysis of prophylactic and therapeutic effect of probiotic preparations from position of new scientific technologies. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2015; (2): 90-104. (In Russ.).

18. Feklisova LV, Meskina ER. A new generation of sorbed bifid-containing probiotics in pediatric practice. *Almanac of Clinical Medicine*. 2005; 8(1): 329-338. (In Russ.).

19. Kazyulin AN, Goncharenko AYU, Pavleyeva EE, Kalyagin IE. Probiotic therapy evolution in the clinical practice of internal medicine. *RMJ*. 2019; (12): 89-96. (In Russ.).

20. *Probiotics and prebiotics for the gut*. URL: <https://stromynka7.ru/blog/probiotiki-i-prebiotiki-dlja-kishechnika/> [date of access: 08.06.2022]. (In Russ.).

21. Manukhin IB, Balan VE, Dobrokhotova YuE, Krutova VA, Kutueva FR, Sakhautdinova IV, et al. New possibilities of therapy bacterial vaginosis: experience an antibiotic used concurrently with a prebiotic in bacterial vaginosis. *Obstetrics and Gynecology*. 2020; (6): 105-114. (In Russ.). doi: 10.18565/aig.2020-6.105-114

22. Torshin IYu, Gromova OA, Tetruashvili NK, Unanyan AL. Synergistic interactions between bifidobacteria and vitamins for health support of a pregnant women and the fetus. *Gynecology, Obstetrics and Perinatology*. 2020; 19(5): 102-113. (In Russ.). doi: 10.20953/1726-1678-2020-5-102-113

23. Dbar SD, Stoyanova LG. A new generation of probiotics – psychobiotics, their purpose and functions. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66(9-10): 64-80. (In Russ.). doi: 10.37489/0235-2990-2021-66-9-10-64-78

24. Gasbarrini G, Bonvicini F, Gramenzi A. Probiotics history. *J Clin Gastroenterol*. 2015; 50(Suppl 2): 116-119. doi: 10.1097/MCG.0000000000000697

25. *Everything you need to know about yogurt around the world*. URL: <https://pink.ua/news/8771> [date of access: 09.06.2022]. (In Russ.).

26. Ozen M, Dinleyici EC. The history of probiotics: The untold story. *Benef Microbes*. 2015; 6(2): 159-165. doi: 10.3920/BM2014.0103

27. Sidorenko IV. *The history of the development of the dairy industry*. Bryansk; 2015. (In Russ.).
28. *Sour curd, sweet curd*. URL: <http://petkach.spb.ru/experimentizy/86-2007/1123-150> [date of access: 10.06.2022]. (In Russ.).
29. *The history of the origin of curd*. URL: <https://nedelka-klin.ru/2018/03/28/istoriya-proishozhdeniya-tvoroga/> [date of access: 09.06.2022]. (In Russ.).
30. *History of cheese making*. URL: <https://cheese-home.com/rubric/146/Istoriya-syrodelya> [date of access: 09.06.2022]. (In Russ.).
31. Kostrova YuB, Gorlina IA. Analysis and development prospects of the functional products market. *Donetskie chteniya 2019: obrazovanie, nauka, innovatsii, kul'tura i vyzovy sovremenosti: Materialy IV Mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii (Donetsk, 29–31 oktyabrya 2019 goda)*. Donetsk: Donetskii natsional'nyy universitet; 2019: 291-293.
32. *Functional foods: How the superfood trend took over the world and reached Russia*. URL: <https://milknews.ru/longridy/funkcionalniye-produkty.html> [date of access: 10.06.2022]. (In Russ.).
33. *Functional food. What it is?* URL: <https://magas.bezformata.com/listnews/funkcionalnoe-pitanie-cto-eto/92698022/> [date of access: 13.06.2022]. (In Russ.).
34. *Functional foods*. URL: https://74.rosпотреbnadzor.ru/faq/-/asset_publisher/W7cB/content/id/1000000661163;jsessionid=2BF0B8E7BFB2FAA3969A982CDBF285E3?redirect=http%3A%2F%2F74.rosпотреbnadzor.ru%2Ffaq%3Bjsessionid%3D2BF0B8E7BFB2FAA3969A982CDBF285E3%3Fp_p_id%3D101_INSTANCE_W7cB%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview%26p_p_col_id%3Dcolumn-1%26p_p_col_pos%3D1%26p_p_col_count%3D2%26_101_INSTANCE_W7cB_advancedSearch%3Dfalse%26_101_INSTANCE_W7cB_keywords%3D%26_101_INSTANCE_W7cB_delta%3D15%26_101_INSTANCE_W7cB_cur%3D1%26_101_INSTANCE_W7cB_andOperator%3Dtrue [date of access: 10.06.2022]. (In Russ.).
35. Kozhevnikova EN, Usenko DV, Elezova LI, Nikolaeva SV. Foods with probiotics – supporting the concept of functional nutrition for children. *RMJ*. 2010; 18(5): 248-254. (In Russ.).
36. Tutelyan VA. Healthy food for public health. *Public Health*. 2021; 1(1): 56-64.
37. Boyarineva IV. Probiotics in functional nutrition. *Vestnik Khabarovskogo gosudarstvennogo universiteta ekonomiki i prava*. 2020; 3(104): 160-163. doi: 10.38161/2618-9526-2020-3-03
38. Kryuchkova VV, Kontareva VYu, Shramko MI, Evdokimov IA. Prospects for the development of functional foods. *Dairy Industry*. 2011; 8: 36-37.
39. Mansour JM, Rauch M, Gilmore MS. The commensal microbiology of the gastrointestinal tract. *Adv Exp Med Biol*. 2008; 635: 15-28. doi: 10.1007/978-0-387-09550-9_2
40. Ganina VI, Pakhomova AN. Bifidobacteria and lactobacilli are components of personalized nutrition products. *Nizkotemperaturnye i pishchevye tekhnologii v 21 veke: Sbornik materialov konferentsii*. 2019; 2: 143-146.
41. Shenderov BA. Human microbial ecology and its role in maintaining health. *Metamorphoses. Bulletin of Rehabilitation Medicine*. 2014; (5): 72-80.
42. Blum HE. The human microbiome. *Adv Med Sci*. 2017; 62: 414-420. doi: 10.1016/j.advm.2017.04.005
43. Beom JL, Bak YT. Irritable bowel syndrome, gut microbiota and probiotics. *J Neurogastroenterol Motil*. 2011; 17(3): 252-266. doi: 10.5056/jnm.2011.17.3.252
44. Martínez-Martínez MI, Calabuig-Tolsá R, Cauli O. The effect of probiotics as a treatment for constipation in elderly people: A systematic review. *Arch Gerontol Geriatr*. 2017; 71: 142-149. doi: 10.1016/j.archger.2017.04.004
45. Cassani E, Privitera G, Pezzoli G, Pusani C, Madio C, Iorio L, et al. Use of probiotics for the treatment of constipation in Parkinson's disease patients. *Minerva Gastroenterologica e Dietologica*. 2011; 57(2): 117-121.
46. Kondo J, Xiao J, Shirahata A, Baba M, Abe A, Ogawa K, et al. Modulatory effects of *Bifidobacterium longum* BB536 on defecation in elderly patients receiving enteral feeding. *World J Gastroenterol*. 2013; 19(14): 2162-2170. doi: 10.3748/wjg.v19.i14.2162
47. Silva M, Jacobus NV, Deneke C, Gorbach SL. Antimicrobial substance from a human *Lactobacillus* strain. *Antimicrob Agents Chemother*. 1987; 31(8): 1231-1233. doi: 10.1128/aac.31.8.1231
48. Drozdov VN, Astapovskiy AA, Serebrova SY, Lazareva NB, Shikh EV. Clinical efficacy of probiotic strains of the *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*. *Problems of Nutrition*. 2020; 89(2): 107-115. doi: 10.24411/0042-8833-2020-10021
49. Gorbach SL, Goldin BR. *Lactobacillus strains and methods of selection*: US Patent N 4839281.
50. Fernandez M, Hudson JA, Korpela R, de los Reyes-Gavilan CG. Impact on human health of microorganisms present in fermented dairy products: An overview. *Biomed Res Int*. 2015; 2015: 412714.
51. Bisengaliev RM, Sadykov RS, Akbatyrova ET. Probiotics and prebiotics as the basis of functional nutrition. *Molodoy uchenyy*. 2016; 8(112): 185-188. URL: <https://moluch.ru/archive/112/28356/> [date of access: 17.06.2022].
52. *Production and supply of probiotics: A review of a practical approach*. URL: <http://propionix.ru/proizvodstvo-i-postavka-probiotikov-obzor-praktiki> [date of access: 20.06.2022].
53. Masoud R, Fadaei V, Khosravi-Darani K, Nikbakht HR. Improving the viability of probiotic bacteria in yoghurt by homogenization. *J Food Process Preserv*. 2015; 39: 2984-2990.
54. Cruz AG, Castro WF, Faria JAF, Bolini HMA, Celeghini RMS, Raices RSL, et al. Stability of probiotic yogurt added with glucose oxidase in plastic materials with different permeability oxygen rates during the refrigerated storage. *Food Res Int*. 2013; 51: 723-728.
55. Vinderola CG, Costa GA, Regenhardt S, Reinheimer JA. Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. *Int Dairy J*. 2002; 12: 579-589.
56. Klyaritskaya IL, Vitsanyuk IA. Modern views on disorders of intestinal microbiocenosis, their diagnosis and correction. *Crimean Journal of Internal Diseases*. 2007; (2 (9): 12-17.
57. Nikitina EV, Kitaevskaya SV, Kiyamova SN. *Fundamentals of nutritional physiology: A study guide*. Kazan: KGTU; 2008.
58. *Functional nutrition basic concepts and requirements. Products overview*. URL: <https://agropit.ru/функциональное-питание-основные-пон/> [date of access: 20.06.2022].
59. *Probiotics and active cultures: How to fortify your foods*. URL: <https://sfera.fm/articles/molochnaya/probiotiki-i-aktivnyekultury-kak-obogatit-svoi-produkty> [date of access: 20.06.2022].
60. *Global market for probiotics: Europe is losing its leadership position*. URL: <https://bake.ingredients.pro/news/editorial/mirovoy-rynok-probiotikov-evropa-teryayet-pozitsii/> [date of access: 21.06.2022].

61. Boytsova YuS, Alenin IP. Analysis of the market and market opportunities in the early days of functional nutrition in Europe. *Vestnik Altayskoy akademii ekonomiki i prava*. 2020; 5(1): 19-26.
62. Hosoya N. Health claims in Japan. *Jap J Nutr Food*. 1998; (1): 1-11.
63. Yakult – *The little bottle on a mission*. URL: www.yakult.co.uk [date of access: 21.06.2022].
64. Yakult, Schweppes yogurt and Buttermilk: How to enter the Russian market with new fermented milk products that are already popular abroad. URL: <https://ssnab.ru/news/jakult-jogurt-shveps-i-battermlk-kak-vyti-na-rossijskij-rynok-s-novymi-kislomolochny-mi-produktami-kotorye-uzhe-populjarny-za-rubezhom/> [date of access: 22.06.2022].
65. Global market for probiotics: Stable growth. URL: <http://www.bfi-online.ru/aviews/index.html?msg=8989&kk=30a1c253a8> [date of access: 15.06.2022].
66. The market for probiotics will exceed \$80 billion by 2027. URL: <https://foodbay.com/wiki/novosti-industrii/2020/11/27/rynok-probiotikov-k-2027-godu-prevysit-80-mlrd/> [date of access: 15.06.2022].
67. Probiotics market analysis. URL: <https://www.coherentmarketinsights.com/market-insight/probiotics-market-3988> [date of access: 15.06.2022].
68. The Wiggles yoghurt pouches. URL: <https://brownesdairy.com.au/products/yoghurt/wiggles-yoghurt-pouches/> [date of access: 15.06.2022].
69. Pimentel TC, Oliveira LG, Souza RC, Magnani M. Probiotic ice cream: A literature overview of the technological and sensory aspects and health properties. *Int J Dairy Technol*. 2022; 75(1): 59-76. doi: 10.1111/141-0307.12821
70. Global probiotics market (2021 to 2030) – Featuring Bio-Gaia, Danone and Nestle among others. URL: <https://www.globenewswire.com/en/newsrelease/2022/01/21/2370867/28124/en/Global-Probiotics-Market-2021-to-2030-Featuring-BioGaia-Danone-and-NestleAmongOthers.html> [date of access: 27.06.2022].
71. Global probiotics market: Trends, consumer behaviour and growth opportunities. URL: <https://www.lumina-intelligence.com/blog/probiotics/global-probiotics-market-trends-consumer-behaviour-and-growth-opportunities/#analysis> [date of access: 27.06.2022].
72. Top 15 probiotics. URL: <https://spasibovsem.ru/ratings/krasota-i-zdorove/15-luchshih-probiotikov/> [date of access: 27.06.2022].
73. Analysis of the Russian market of probiotics and products based on them (2010). URL: <http://centripap.ru/report/food/functional/Probiotic/> [date of access: 27.06.2022].
74. Retail monitoring of pharmacy sales of drugs and dietary supplements in the Russian Federation. URL: <https://alpharm.ru/> [date of access: 27.06.2022].
75. COVID-19 has significantly changed the composition of the leaders in the market for probiotics and prebiotics. URL: <https://pharmvestnik.ru/content/articles/COVID-19-sushestvenno-izmenil-sostav-liderov-na-rynke-probiotikov-i-prebiotikov.html> [date of access: 27.06.2022].
76. Who earns on probiotics in Novosibirsk? URL: <https://ksonline.ru/347428/kto-zarabatyvaet-na-probiotikah-v-novosibirske/> [date of access: 27.06.2022].
77. Probiotics, prebiotics and metabiotics: What's the difference? URL: <https://actoflor.ru/post/chto-takoe-metabiotiki> [date of access: 27.06.2022].
78. What are metabiotics and how do they differ from probiotics? URL: <https://www.thesymbol.ru/beauty/health/chto-takoe-metabiotiki-i-v-chem-ih-otlichie-ot-probiotikov/> [date of access: 27.06.2022].
79. Metabiotics: A new word in the prevention of dysbiotic disorders. URL: <https://stromynka7.ru/blog/metabiotiki-novoe-slovo-v-profilaktike/> [date of access: 27.06.2022].
80. The production of bio-ice cream using the Tomsk technology was launched in Chile. URL: <https://tomsk.bezformata.com/listnews/biomorozhenogo-po-tomskoj-tehnologii/53345086/> [date of access: 27.06.2022].

Сведения об авторах

Савинова Юлия Сергеевна – заведующая лабораторией биомедицинской микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: alisaalisa2222@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8183-1233>

Белькова Наталья Леонидовна – кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nlbelkova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Семенова Наталья Викторовна – доктор биологических наук, заместитель директора по научной работе, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: natkor_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6512-1335>

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iph@sbamsr.irk.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5292-0907>

Information about the authors

Yulia S. Savinova – Head of the Laboratory of Biomedical Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: alisaalisa2222@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8183-1233>

Natalia L. Belkova – Cand. Sc. (Biol.), Docent, Leading Research Officer at the Laboratory of Microecology and the Microbiome, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nlbelkova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Natalya V. Semenova – Dr. Sc. (Biol.), Deputy Director for Research, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: natkor_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6512-1335>

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iph@sbamsr.irk.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5292-0907>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

ПСИХОЛОГИЯ И ПСИХИАТРИЯ PSYCHOLOGY AND PSYCHIATRY

ВЗАИМОСВЯЗЬ ИНДИВИДУАЛЬНО-ЛИЧНОСТНЫХ КАЧЕСТВ И ДИНАМИКИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЙ УЧАСТНИКОВ МОРСКОЙ АРКТИЧЕСКОЙ ЭКСПЕДИЦИИ

Тункина М.А.¹,
Корнеева Я.А.¹,
Симонова Н.Н.²,
Трофимова А.А.¹

¹ ФГАОУ ВО «Северный (Арктический)
федеральный университет имени
М.В. Ломоносова» (163002, г. Архангельск,
наб. Северной Двины, 17, Россия)

² ФГБОУ ВО «Московский
государственный университет
имени М.В. Ломоносова» (119991,
г. Москва, Ленинские горы, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:

Тункина Мария Александровна,
e-mail: masha.tynkina@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Вопросы психологической адаптации человека к экстремальным условиям Арктики продолжают быть актуальными и в настоящее время. Динамический мониторинг функциональных состояний человека – эффективная технология, позволяющая своевременно выявлять уровень адаптированности человека к условиям Севера и осуществлять профилактические мероприятия для поддержания здоровья в экстремальных условиях труда.

Цель. Выявить и описать взаимосвязь индивидуально-личностных качеств и динамики функциональных состояний участников морской арктической экспедиции.

Методы. Психофизиологическое тестирование с помощью прибора УПФТ-1/30 «Психофизиолог» (вариационная кардиоинтервалометрия, сложная зрительно-моторная реакция); тест цветовых предпочтений (М. Люшер, адаптированный Л.Н. Собчик) с расчётом коэффициентов интерпретации Г.А. Аминова; пятифакторный личностный опросник (Р. Маккрей и П. Коста, адаптированный А.Б. Хромовым); статистические методы: описательные статистики, анализ частот, корреляционный анализ с применением коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Исследование проводилось ежедневно в утреннее и вечернее время в течение 20 дней на научно-экспедиционном судне «Михаил Сомов» в июне 2021 г. В исследовании приняли участие 39 человек, среди них участники научно-образовательного экспедиционного проекта «Арктический плавучий университет – 2021».

Результаты. Динамика психофизиологических и проективных психологических параметров функциональных состояний участников экспедиции в целом характеризуется благоприятными уровнями, что свидетельствует об их адаптированности к условиям высоких широт. По результатам корреляционного анализа выявлены статистически значимые связи между динамикой функциональных состояний и такими индивидуально-личностными качествами как экстраверсия – интроверсия и привязанность – отдалённость.

Обсуждение. Результаты исследования согласуются с данными предыдущих экспедиций «Арктического плавучего университета» и других полярных экспедиций. Выявленные взаимосвязи функциональных состояний с разными характеристиками личности участников свидетельствуют в пользу комплексного характера исследования с применением разных групп диагностических методов.

Ключевые слова: функциональное состояние человека, работоспособность, стресс, вариационная кардиоинтервалометрия, динамический мониторинг, Арктический плавучий университет, экспедиционный метод, Арктика

Для цитирования: Тункина М.А., Корнеева Я.А., Симонова Н.Н., Трофимова А.А. Взаимосвязь индивидуально-личностных качеств и динамики функциональных состояний участников морской арктической экспедиции. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 228-241. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.24

Статья поступила: 05.06.2022

Статья принята: 10.10.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

INTERRELATION OF INDIVIDUAL-PERSONAL QUALITIES AND DYNAMICS OF FUNCTIONAL STATES PARTICIPANTS OF THE SEA ARCTIC EXPEDITION

Tunkina M.A.¹,
Korneeva Ya.A.¹,
Simonova N.N.²,
Trofimova A.A.¹

¹ Northern (Arctic) Federal University
named after M.V. Lomonosov
(Severnaya Dvina Embankment 17,
Arkhangelsk 163002, Russian Federation)

² Lomonosov Moscow State University
(Leninskiye Gory 1, Moscow 119991,
Russian Federation)

Corresponding author:
Maria A. Tunkina,
e-mail: masha.tynkina@yandex.ru

ABSTRACT

The issues of psychological adaptation of a person to the extreme conditions of the Arctic continue to be relevant at the present time. Dynamic monitoring of human functional states is an effective technology that allows timely identification of the level of human adaptation to the conditions of the North and implementation of preventive measures to maintain health in extreme working conditions.

The aim of the study is to identify and describe the relationship of individual-personal qualities and the dynamics of the functional states of the participants of the marine Arctic expedition.

Methods. Psychophysiological testing using the device UPFT-1/30-«Psychophysiology» (variational cardiointervalometry, complex visual-motor reaction); color preference test (M. Luscher, adapted by L.N. Sobchik) with calculation of interpretation coefficients by G.A. Aminev; Five-factor personality questionnaire (R. McCrae and P. Costa, adapted by A.B. Khromov); statistical methods: descriptive statistics, frequency analysis, correlation analysis using Spearman's rank correlation coefficient. The study was conducted daily in the morning and evening for 20 days on the research vessel Mikhail Somov in June 2021. The study involved 39 people, including participants in the scientific and educational expeditionary project "Arctic Floating University – 2021".

Results. The dynamics of psychophysiological and projective psychological parameters of the functional states of the expedition members as a whole is characterized by favorable levels, which indicates their adaptation to the conditions of high latitudes.

According to the results of the correlation analysis, statistically significant relationships were revealed between the dynamics of functional states and such individual-personal qualities as: extraversion – introversion and attachment – separation.

Conclusion. The results of the study are consistent with the data of previous expeditions of the "Arctic floating university" and other polar expeditions. The revealed interrelations of functional states with different personality characteristics of the participants testify in favor of the complex nature of the study using different groups of diagnostic methods.

Key words: human functional state, working capacity, stress, variational cardiointervalometry, dynamic monitoring, Arctic floating university, expeditionary method, Arctic

Received: 05.06.2022
Accepted: 10.10.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Tunkina M.A., Korneeva Ya.A., Simonova N.N., Trofimova A.A. Interrelation of individual-personal qualities and dynamics of functional states participants of the sea Arctic expedition. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 228-241. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.24

ОБОСНОВАНИЕ

Арктика относится к региону, который обладает природно-ресурсным, экономическим, транспортно-логистическим потенциалом. Сегодня к арктическим территориям также проявляется научный интерес [1].

В многочисленных исследованиях [2–8] отмечается неблагоприятное влияние климатогеографических и геофизических условий Арктического региона на здоровье и деятельность человека. В первую очередь, влияние низких температур с высокой скоростью ветра, перепады атмосферного давления, резкая смена светового режима («полярная ночь» и «полярный день») и др. Согласно исследованиям [9–11], под воздействием факторов «высоких широт» может развиваться метеочувствительность, быстрее наступает истощение адаптивных резервов организма с последующим развитием «синдрома полярного напряжения» и различных хронических заболеваний, прежде всего сердечно-сосудистых, онкологических, респираторных. К другой группе факторов, также оказывающих влияние на жизнеобеспечение человека в Арктике, относятся социально-бытовые факторы. Экспедиционная и вахтовая формы трудовой деятельности, которые часто встречаются на Севере, сопряжены с групповой изоляцией, ограничением личного пространства, однообразием обстановки и др. [12–14].

Таким образом, важным при организации и выполнении деятельности под воздействием неблагоприятных условий Арктики является вопрос об адаптации человека. С каждым годом возрастает актуальность исследований, посвящённых оценке функционального состояния человека и изучению психологических особенностей вахтовиков и участников полярных экспедиций [15–19]. А рост количества публикаций по данной проблематике обуславливает необходимость систематизации уже имеющихся научных результатов [20].

Динамический мониторинг функциональных состояний человека является эффективной технологией, позволяющей своевременно диагностировать и профилировать ухудшение состояния здоровья работников и возникновение нежелательных ситуаций в экстремальных условиях труда. По динамике изменений интегральных показателей сердечно-сосудистой и нервной систем, работоспособности, стресса можно сделать вывод об адаптированности человека к условиям Севера. В связи с существующими сложностями организации полевых исследований в Арктике наиболее часто проводятся двухкратные (в начале и конце выезда сотрудников) или трёхкратные замеры состояний специалистов (в начале, середине и конце вахтовых заездов/морских рейсов), что может не позволять определить наиболее сложные с точки зрения адаптации дни, а также факторы, их обуславливающие [21, 22]. Так, в пользу необходимости проведения ежедневного мониторинга состояния участников экспедиции указывает факт недостаточности исследований со схожим дизайном.

В настоящее время перспективным направлением является многофакторный и комплексный подход, учитывающий разнообразие проявлений адаптации не толь-

ко на физиологическом, но и на психологическом уровне. На сегодняшний день вопрос об объёме и выборе методик исследования функциональных состояний является дискуссионным. В ходе анализа отечественных и зарубежных публикаций, посвящённых разработке технологии динамического мониторинга функциональных состояний в экстремальных условиях, и исследований, посвящённых изучению адаптации у участников арктических и антарктических морских экспедиций, было выявлено выделение как минимум двух основных групп методов [15, 23–25].

1) методы аппаратурной психофизиологической диагностики, которые считаются наиболее надёжными, поскольку регистрируют изменения на уровне физиологических и психофизиологических систем, в частности анализ вариабельности сердечного ритма, анализ показателей нервной системы, оценка работоспособности на основе сенсомоторной реакции и др.;

2) психологические проективные и субъективно-оценочные (опросные) методы, позволяющие качественно изучить состояния и настроения человека на уровне его субъективных ощущений и переживаний;

Комплексный подход к оценке динамики функциональных состояний человека, предполагающий исследование характеристик в динамике разными методами, помогает исследовать компенсаторный характер адаптации участников экспедиций. В рамках риск-ориентированного подхода внимание также уделяется личностному потенциалу работников. Поэтому в подобных исследованиях часто данные методы используются вместе.

Определяя индивидуально-личностные особенности работников, осуществляющих свою деятельность в Арктике, при соотнесении с их динамикой различных параметров функциональных состояний возможно выявить качества личности, способствующие более успешной психологической адаптированности к условиям Севера. В качестве одного из инструментов комплексной оценки индивидуально-личностных характеристик является Пятифакторный личностный опросник FFI (Большая пятёрка) Р. Маккрея и П. Коста [26], который активно применяется в аналогичных исследованиях и максимально близких выборках: полярников, вахтовых работников, космонавтов [13, 27–30].

Таким образом, в настоящем исследовании будет определена адаптированность участников морской арктической экспедиции посредством динамического наблюдения объективных психофизиологических и проективных психологических параметров их функциональных состояний, а также выявлены индивидуально-психологические качества, способствующие более успешной адаптации в условиях «высоких широт».

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Выявить и описать взаимосвязь индивидуально-личностных качеств и динамики функциональных состояний участников морской арктической экспедиции.

ГИПОТЕЗЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ожидается увидеть взаимосвязь динамики объективных показателей функциональных состояний с экстернальностью/интернальностью участников экспедиции; а динамики проективных показателей функциональных состояний – с эмоциональностью/эмоциональной сдержанностью участников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось ежедневно в утреннее и вечернее время в течение 20 дней на научно-экспедиционном судне «Михаил Сомов» в июне 2021 г. Начало исследования – второй день экспедиции, конец исследования – последний день экспедиционного рейса. Маршрут экспедиции: г. Архангельск – мыс Желания (о. Новая Земля) – о. Хейса (Земля Франца-Иосифа (ЗФИ)) – о. Гукера (ЗФИ) – о. Грэм-Белл (ЗФИ) – г. Архангельск. Маршрут в Баренцевом море включал вертолётные высадки на острова для сбора научного материала и проведения научно-исследовательских работ.

Участие в исследовании было добровольным. Все участники исследования подписали информационное согласие и согласие на обработку персональных данных. Программа и методы исследования рассмотрены на этическом комитете ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Архангельск, Россия) и рекомендованы к применению (протокол № 04-06-21 от 09.06.2021).

В исследовании приняли участие 39 человек (19 мужчин и 20 женщин в возрасте от 20 до 72 лет, средний возраст – $33,6 \pm 2$ года), среди них участники научно-образовательного экспедиционного проекта «Арктический плавучий университет – 2021», сотрудники Национального парка «Русская Арктика», участники проекта «Хозяин Арктики» и члены экипажа. Среди участников исследования:

- 24 человека ранее имели экспедиционный опыт от двух недель до нескольких месяцев, 15 человек участвовали в экспедиции впервые;
- 20 участников являются жителями приарктических территорий (территорий, приравненных к Крайнему Северу) и 1 участник проживает в Арктическом регионе;
- 32 человека имеют оконченное высшее образование (бакалавриат, специалитет), 7 участников на момент исследования имеют неоконченное высшее (студенты).

В данном исследовании, вслед за В.И. Медведевым и А.Б. Леоновой, функциональное состояние понимается как «интегральный комплекс наличных характеристик тех функций и качеств человека, которые прямо или косвенно обуславливают выполнение деятельности» [31].

Оценка функционального состояния участников производилась с применением психофизиологических (аппаратурных) и психологических (проективных) методов в течение 20-дневного экспедиционного периода. Исследование индивидуально-личностных качеств производилось однократно в начале экспедиции.

1. На психофизиологическом уровне анализировались параметры сердечно-сосудистой и вегетативной нервной систем (методика вариационной кардиоинтервалографии «ВКМ», прибор УПФТ-1/30 «Психофизиолог»): средняя длительность интервалов R-R между синусовыми сокращениями (RRNN, мс), оценка функционального состояния (VSR, отн. ед.), уровень функционального состояния (УФС, баллы). Согласно данным показателя RRNN можно оценить уровень регуляторных возможностей человека, соотношение симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы и сделать вывод о сердечном ритме (нормокардия, тахикардия или брадикардия). Интегральный количественный показатель VSR отражает общее функциональное состояние организма человека по параметрам его сердечной деятельности.

Для оценки операторской работоспособности применялась методика сложной зрительно-моторной реакции («СЗМР-35», прибор УПФТ-1/30 «Психофизиолог»). Анализ проводился на основе следующих параметров: «оценка уровня сенсомоторных реакций» (ОУСР, отн. ед.) и «уровень операторской работоспособности» (баллы). Время сложной зрительно-моторной реакции (реакции с переключением) характеризует скорость проведения возбуждения по рефлекторной дуге. Методика позволяет определить скорость и качество выполнения заданий; на основе сочетания этих двух параметров делается вывод об уровне операторской работоспособности (высокий, средний или низкий) по параметрам двухальтернативной сложной зрительно-моторной реакции (35 стимулов). Сущность методики «СЗМР-35» – в определении времени и стабильности зрительно-моторной реакции на световые стимулы (зелёный и красный).

2. На психологическом уровне изучались неосознаваемые компоненты психофизиологических состояний с применением метода цветовых выборов (8-цветового теста М. Люшера в русской адаптации Л.Н. Собчик) [32, 33]. Для анализа вычислялись интерпретационные коэффициенты «работоспособность», «стресс» и «вегетативный баланс», разработанные Г.А. Аминевым [34]. Значения от 9,1 до 16,0 баллов указывают на сниженную работоспособность, от 16,1 до 20,9 балла – достаточная и высокая работоспособность. Значения по показателю стресса могут быть в диапазоне от 0 до 41,8; значения равные и выше 20 указывают на наличие проявлений стрессового состояния, значения до 20 баллов свидетельствуют о тенденции к образованию стресса. Оценка вегетативного баланса производилась в соответствии со следующими нормами: от 0 до +9,8 балла – преобладание тонуса симпатической нервной системы, т. е. мобилизация всех функций, подготовка к активным действиям, а от 0 до –9,8 – преобладание тонуса парасимпатической нервной системы, т. е. работа организма направлена на отдых, восстановление сил, сбережение ресурсов.

3. Оценка индивидуально-личностных качеств участников экспедиции производилась с применением Пятифакторного личностного опросника (FFI) Р. Маккрей и П. Коста [26], в русской адаптации А.Б. Хромова

[35]. Опросник состоит из 75 противоположных по значению высказываний, каждое из которых выявляет важные характеристики личности и особенности поведения человека в некоторых жизненных ситуациях. Результаты представляются в виде первичных и вторичных факторов (индивидуально-личностных качеств).

4. Статистический анализ данных проводился с помощью пакета программ «IBM SPSS Statistics 23.00» с использованием следующих методов: описательные статистики, анализ частот, корреляционный анализ с применением коэффициента ранговой корреляции Спирмена. При проверке связи в корреляционном анализе учитывались результаты с силой связи не ниже 0,3.

Этапы исследования:

1. Описание динамики объективных психофизиологических и проективных психологических параметров функциональных состояний участников экспедиции.

2. Вычислить и описать коэффициенты среднего прироста значений объективных психофизиологических и проективных психологических параметров функциональных состояний участников в течение морской арктической экспедиции.

3. Выявить и описать взаимосвязь индивидуально-личностных качеств участников экспедиции и коэффициентов среднего прироста значений объективных психофизиологических и проективных психологических параметров функциональных состояний участников в течение арктического рейса.

Технология расчёта коэффициента, отражающего средний прирост показателя. Индивидуальные объективные и проективные показатели функциональных состояний в течение экспедиции оценивались у каждого участника в течение всего периода научной мор-

ской арктической экспедиции (2 раза в сутки ежедневно: утром и вечером). Для каждого участника экспедиции по каждому параметру было построено уравнение регрессии с вычислением коэффициента, отражающего средний прирост показателя за единицу времени. Графически этот коэффициент демонстрирует наклон линии тренда. Таким образом, чем больше коэффициент, тем выше рост (при положительных значениях) или спад (при отрицательных величинах) показателя в динамике наблюдения. В качестве примера представлена динамика показателя оценки функционального состояния (VSR, отн. ед.) методики «ВКМ» одного из участников экспедиции в течение 20-дневного периода в вечернее время (рис. 1).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Динамика функционального состояния участников в течение 20-дневного экспедиционного периода. Согласно объективным данным методики «ВКМ» (табл. 1), в целом динамика интегрального показателя «оценка функционального состояния» (VSR, отн. ед.) участников экспедиции в течение всего рейса характеризуется тенденцией к преобладанию допустимых значений. Наблюдается преимущественно умеренное напряжение регуляторных систем при достаточном объёме и адекватном расходовании психофизиологических резервов сердечно-сосудистой и вегетативной нервной систем. Сердечный ритм большинства участников характеризуется как нормальный (согласно средним значениям индивидуальных динамик участников по показателю длительности интервалов R-R между синусовы-

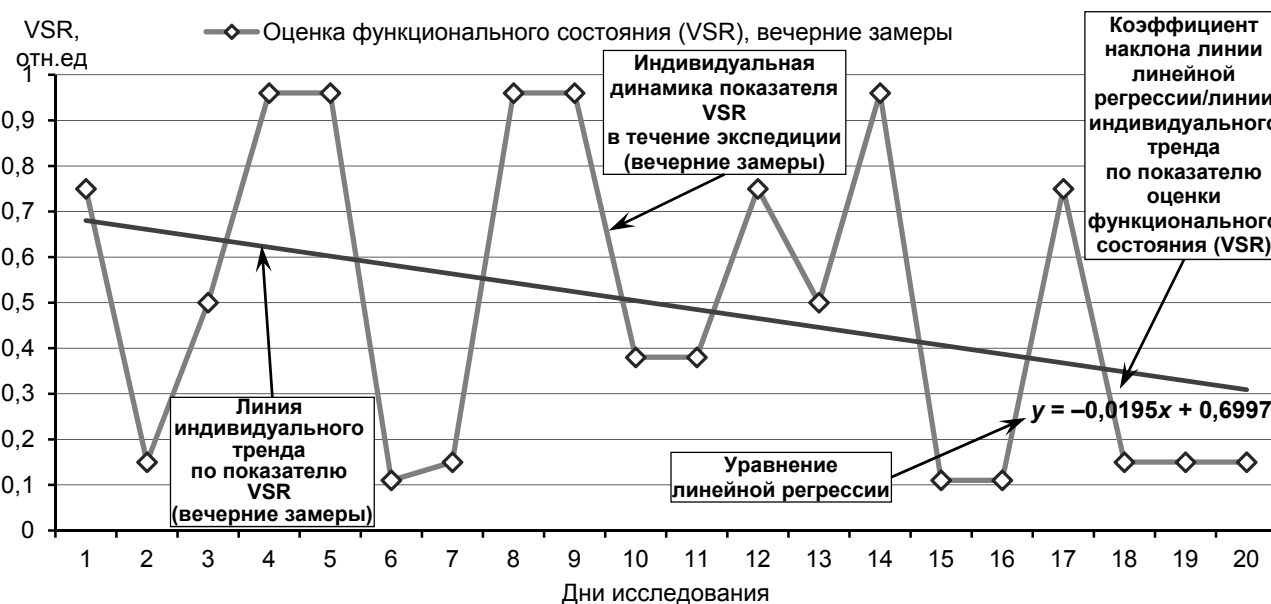


РИС. 1.

Динамика показателя оценки функционального состояния (VSR) участника исследования в течение экспедиционного периода в вечернее время

FIG. 2.

Dynamics of the general functional state (VSR) of the study participant during the expedition period in the evening

ми сокращениями (RRNN, мс) в утренних и вечерних замерах. Среди участников только три человека имеют тенденцию к учащению сердечного ритма (тахикардии).

В начале экспедиции наиболее ярко изменения в уровне функционального состояния проявились во второй день исследования (третий день экспедиции). Данные изменения характеризовались усилением напряжения регуляторных систем и снижением психофизиологических резервов организма участников в утреннее время (с последующим улучшением показателей вечером того же дня). В конце экспедиции, согласно частотному анализу показателя «уровень функционального состояния» (УФС), увеличилось число участников с оптимальным, близким к оптимальному и допустимым уровнями функционального состояния.

Динамика состояния вегетативной нервной системы (ВНС) в течение экспедиционного периода оценивалась согласно объективным данным (с использованием аппаратной методики «ВКМ») и проективным данным (проективный показатель «вегетативный баланс» цветовой тест М. Люшера). Полученные данные не противоречат друг другу. Состояние вегетативной нервной системы в утреннее и вечернее время согласно средним значениям проективного показателя преимущественно характеризуется тенденцией к усилению симпатической системы. Преобладание же парасимпатической нервной системы, активизация которой связана с ориентацией организма на отдых, восстановление сил и сбережение ресурсов, проявляется в начале экспедиции (утром 1-го дня исследования), в середине (утром 11-го и 14-го дней исследования) и в конце экспедиции (утром 16-го дня исследования и вечером 17-го и 18-го дней исследования).

Согласно объективным и проективным данным, смещение показателя вегетативного баланса в сторону преобладания симпатического звена вегетативной нервной регуляции указывает на более интенсивный характер функционирования адаптационных процессов. В конце экспедиции функциональное состояние многих участников характеризовалось усилением парасимпатического отдела и сбалансированным влиянием отделов вегетативной нервной системы, что было связано с периодом отдыха и восстановлением гомеостатического равновесия.

Динамика показателя операторской работоспособности в течение экспедиционного периода (методика «СЗМР-35») характеризовалась тенденцией к средним (достаточным) значениям (табл. 1). Согласно средним значениям участников (табл. 1), по параметру «оценка уровня сенсомоторных реакций» (ОУСР) в середине периода наблюдалась тенденция к сниженной работоспособности в утреннее время 8-го дня (после первой высадки участников на сушу на о. Новая Земля). А в утреннее время 15-го и 16-го дней исследования, после завершения активных научно-исследовательских работ, связанных с посадками на острова, наблюдалось увеличение числа участников с повышенной работоспособностью (среднее значение ОУСР равно 0,67 и 0,65 отн. ед. соответственно).

В динамике проективного показателя работоспособности (интерпретационный коэффициент Г.А. Аминова, разработанный для 8-цветового теста М. Люшера) также выявлена тенденция к средним значениям. Значимое снижение данного показателя наблюдается в утреннее время 11-го дня исследования (перед высадкой на о. Гукера). Мы предполагаем, что подобное снижение работоспособности (в сочетании с усилением парасимпатической нервной системы по проективному показателю) может быть связано с недостаточным восстановлением участников между посадками, которые осуществлялись друг за другом в течение двух дней. За день до посадки о. Гукера, часть участников исследования высаживались на другой остров архипелага ЗФИ – о. Хейса.

Согласно средним значениям проективного показателя стресса (интерпретационный коэффициент Г.А. Аминова, разработанный для 8-цветового теста М. Люшера), в динамике арктического рейса у участников не выявлено выраженного стрессового состояния. Тенденция к увеличению стресса (в пределах нормы) наблюдается вечером 6-го дня исследования, но уже вечером 7-го дня исследования (после посадки на о. Новая Земля) наблюдается снижение данного показателя. В середине экспедиционного периода (в утреннее и вечернее время 11-го дня исследования) также фиксируется тенденция к образованию стресса. В этот день члены экспедиции пересекли самую северную для маршрута экспедиции точку (80-ю параллель северной широты) и участвовали в посадке на о. Гукера. При этом важно отметить, что данные изменения происходили в пределах нормы.

Далее были вычислены и проанализированы коэффициенты среднего прироста основных параметров функциональных состояний участников, измеренных за 20-дневной период экспедиции. В таблице 2 представлены показатели прироста общего функционального состояния организма (по объективным данным), работоспособности (по объективным и проективным данным) и стресса (по проективным данным).

Согласно данным таблицы 2, мы видим незначительные положительные и отрицательные приросты, при этом информативная ценность их заключается в оценке математического знака. Несмотря на тенденцию к снижению в утренние и вечерние часы показателя «оценка функционального состояния» (VSR), который представляет собой интегральную характеристику общего функционального состояния организма участников, итоговый прирост по данному показателю положительный. Это объясняется тем, что ряд участников имеют в индивидуальной динамике показателя функционального состояния в утреннее время отрицательный прирост, а в вечерние часы – положительный прирост, что может в целом указывать на улучшение состояния в течение экспедиции.

В течение рейса работоспособность большинства участников имеет положительный прирост в утреннее и вечернее время. Данный результат можно считать положительным объективным маркером адаптации к арктической морской экспедиции. При этом в динамике про-

ТАБЛИЦА 1

ОПИСАТЕЛЬНЫЕ СТАТИСТИКИ ОБЪЕКТИВНЫХ И ПРОЕКТИВНЫХ ПАРАМЕТРОВ
ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЙ УЧАСТНИКОВ В ТЕЧЕНИЕ МОРСКОЙ
АРКТИЧЕСКОЙ ЭКСПЕДИЦИИ ($M \pm SE$)

Методики	Дни исследования / Показатели	Пересечение 70-й параллели с.ш.				Незначительная бортовая качка				Высадка на о. Новая Земля				Пересечение 80-й параллели с.ш.				Высадка на о. Гукера				Высадка на о. Грэм-Белл				Пересечение 75-й параллели с.ш.																
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
ВКМ	VSR (утро), M ± SE	0,5 ± 0,08	0,4 ± 0,07	0,5 ± 0,07	0,5 ± 0,06	0,5 ± 0,05	0,5 ± 0,06	0,6 ± 0,05	0,5 ± 0,06	0,5 ± 0,05	0,6 ± 0,09	0,5 ± 0,06	0,5 ± 0,06	0,5 ± 0,06	0,5 ± 0,05	0,5 ± 0,05	0,5 ± 0,05	0,5 ± 0,06	0,5 ± 0,06	0,6 ± 0,06	0,6 ± 0,06	VSR (вечер), M ± SE	0,5 ± 0,07	0,7 ± 0,05	0,6 ± 0,06	0,6 ± 0,05	0,6 ± 0,05	0,5 ± 0,06	0,5 ± 0,06	0,5 ± 0,05	0,5 ± 0,06	0,6 ± 0,05	0,5 ± 0,06	0,6 ± 0,05	0,5 ± 0,06	0,5 ± 0,05	0,5 ± 0,06	0,5 ± 0,05	0,5 ± 0,06	0,6 ± 0,06	0,6 ± 0,06	
	УФС (утро), Me	3	2	3	3	3	3	4	4	3	3	4	3	3	3	3	3	4	3	3	3	УФС (вечер), Me	3	4	4	4	4	3	3	3	3	3	4	4	3	4	3	3	4	4		
	ОУСР (утро), M ± SE	0,4 ± 0,06	0,5 ± 0,07	0,6 ± 0,05	0,5 ± 0,06	0,5 ± 0,05	0,6 ± 0,05	0,5 ± 0,06	0,4 ± 0,05	0,5 ± 0,06	0,6 ± 0,09	0,5 ± 0,05	0,5 ± 0,05	0,6 ± 0,05	0,5 ± 0,05	0,6 ± 0,05	0,6 ± 0,05	0,7 ± 0,04	0,6 ± 0,06	0,6 ± 0,06	0,6 ± 0,06	ОУСР (вечер), M ± SE	0,4 ± 0,05	0,5 ± 0,05	0,5 ± 0,05	0,6 ± 0,04	0,5 ± 0,05	0,6 ± 0,05	0,6 ± 0,05	0,5 ± 0,05	0,5 ± 0,05	0,6 ± 0,05	0,6 ± 0,05	0,5 ± 0,05	0,6 ± 0,05	0,5 ± 0,05	0,6 ± 0,05	0,5 ± 0,04	0,5 ± 0,05	0,6 ± 0,05	0,6 ± 0,05	
	УОП (утро), Me	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	УОП (вечер), Me	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3		
Цветовой тест М. Люшера	Работоспособность (утро), M ± SE	17,1 ± 0,57	17,1 ± 0,59	16,6 ± 0,45	17,6 ± 0,51	16,9 ± 0,54	17,2 ± 0,47	17,6 ± 0,52	17,4 ± 0,50	15,9 ± 0,42	17,8 ± 0,47	17,2 ± 0,63	16,8 ± 0,40	16,8 ± 0,46	16,8 ± 0,48	17,0 ± 0,46	16,6 ± 0,45	17,4 ± 0,47	16,9 ± 0,54	17,1 ± 0,51	17,1 ± 0,71	Работоспособность (вечер), M ± SE	16,2 ± 0,42	16,9 ± 0,51	17,6 ± 0,44	16,9 ± 0,49	16,8 ± 0,54	16,7 ± 0,52	17,8 ± 0,42	17,5 ± 0,41	17,4 ± 0,40	17,3 ± 0,43	16,8 ± 0,55	16,8 ± 0,47	17,1 ± 0,57	16,9 ± 0,43	17,1 ± 0,41	16,8 ± 0,44	16,6 ± 0,50	16,4 ± 0,50	17,2 ± 0,51	17,7 ± 0,40
	Стресс (утро), M ± SE	7,1 ± 1,37	8,4 ± 1,53	6,8 ± 1,21	8,0 ± 1,43	8,0 ± 1,30	8,0 ± 1,55	8,7 ± 1,49	7,9 ± 1,16	6,7 ± 1,28	8,3 ± 1,73	9,4 ± 2,55	6,8 ± 1,16	6,2 ± 1,43	8,0 ± 1,31	7,4 ± 1,23	8,0 ± 1,48	8,9 ± 1,46	9,2 ± 1,60	6,9 ± 1,44	6,6 ± 1,16	Стресс (вечер), M ± SE	8,9 ± 1,29	8,8 ± 1,56	6,7 ± 1,05	8,0 ± 1,44	7,9 ± 1,27	10,0 ± 1,49	5,0 ± 1,14	6,7 ± 1,07	7,2 ± 1,24	7,6 ± 1,02	9,9 ± 1,45	7,8 ± 1,24	8,4 ± 1,29	6,8 ± 1,35	7,7 ± 1,53	9,4 ± 1,59	8,9 ± 1,62	7,6 ± 1,47	6,2 ± 1,13	
	Вегетативный баланс (утро), M ± SE	-0,2 ± 1,08	1,5 ± 0,92	1,1 ± 0,87	1,4 ± 0,95	1,8 ± 0,82	2,2 ± 0,90	0,5 ± 0,96	0,7 ± 0,91	1,6 ± 0,85	1,9 ± 0,95	-0,9 ± 1,34	1,6 ± 0,80	0,8 ± 0,80	-0,3 ± 0,84	0,2 ± 0,84	-0,3 ± 0,81	0,9 ± 0,89	0,2 ± 1,00	1,2 ± 0,80	1,3 ± 0,81	Вегетативный баланс (вечер), M ± SE	0,1 ± 0,71	1,6 ± 0,88	2,0 ± 0,87	1,1 ± 0,94	1,6 ± 0,80	1,5 ± 0,94	2,2 ± 0,87	1,6 ± 0,83	1,5 ± 0,76	1,0 ± 0,83	0,3 ± 0,99	0,8 ± 0,84	0,3 ± 0,77	0,9 ± 0,77	0,7 ± 0,79	-0,3 ± 0,84	-0,4 ± 0,86	1,0 ± 0,89	2,1 ± 0,81	

Примечание. VSR – оценка функционального состояния; УФС – уровень функциональных реакций; УОП – уровень операторской работоспособности.

ТАБЛИЦА 2

ОПИСАТЕЛЬНЫЕ СТАТИСТИКИ КОЭФФИЦИЕНТОВ СРЕДНЕГО ПРИРОСТА ЗНАЧЕНИЙ ОБЪЕКТИВНЫХ ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ И ПРОЕКТИВНЫХ ПСИХОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЙ УЧАСТНИКОВ В ТЕЧЕНИЕ МОРСКОЙ АРКТИЧЕСКОЙ ЭКСПЕДИЦИИ

TABLE 2

DESCRIPTIVE STATISTICS OF THE COEFFICIENTS OF THE AVERAGE INCREASE IN THE VALUES OF OBJECTIVE PSYCHOPHYSIOLOGICAL AND PROJECTIVE PSYCHOLOGICAL PARAMETERS OF THE FUNCTIONAL STATES OF THE PARTICIPANTS DURING THE MARINE ARCTIC EXPEDITION

Параметр	M ± SE
Средний прирост показателя VSR (утренние замеры)	-0,001 ± 0,007
Средний прирост показателя VSR (вечерние замеры)	-0,001 ± 0,003
Средний прирост показателя VSR (за весь период)	0,0003 ± 0,001
Средний прирост показателя ОУСР (утренние замеры)	0,009 ± 0,004
Средний прирост показателя ОУСР (вечерние замеры)	0,001 ± 0,002
Средний прирост показателя ОУСР (за весь период)	0,002 ± 0,001
Средний прирост проективного показателя работоспособности (утренние замеры)	-0,017 ± 0,020
Средний прирост проективного показателя работоспособности (вечерние замеры)	0,003 ± 0,017
Средний прирост проективного показателя работоспособности (за весь период)	-0,001 ± 0,009
Средний прирост проективного показателя стресса (утренние замеры)	0,012 ± 0,064
Средний прирост проективного показателя стресса (вечерние замеры)	-0,022 ± 0,066
Средний прирост проективного показателя стресса (за весь период)	-0,004 ± 0,032

ективного показателя работоспособности наблюдается тенденция к снижению, как в течение утреннего периода, так и за весь период пребывания на судне. В вечерние часы участники на субъективном уровне чувствуют себя более работоспособными, что объясняет положительный прирост проективного показателя в вечерних замерах.

Кроме этого, интересна динамика проективного показателя стресса. Несмотря на то, что результаты в целом отражают норму, анализ прироста показателя в утренние часы указывает на тенденцию к образованию стресса, которая может быть связана с биоритмами участников, поскольку несколько научных групп осуществляли научно-исследовательскую деятельность на судне в сменном режиме. И возможно, что к утреннему замеру их организм не успевал восстановиться. Кроме этого, большинство вертолётных высадок на острова осуществлялись именно в утреннее время, что могло вызывать волнение и напряжение у участников, которое снижалось в вечернее время, уже после высадок.

Взаимосвязь индивидуально-личностных качеств и динамики функциональных состояний участников морской арктической экспедиции. Для установления связи между индивидуально-личностными качествами участников и показателями их функциональных состояний в динамике морской арктической экспедиции был проведён корреляционный анализ с применением коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Данный коэффициент выбран в связи с тем, что часть данных распределены ненормально. Корреляционному анализу под-

вергались параметры основных и дополнительных шкал Пятифакторного личностного опросника (FFI) Р. Маккрей и П. Коста и коэффициенты среднего прироста значений объективных психофизиологических и проективных психологических параметров функциональных состояний участников в течение морской арктической экспедиции (перечень которых представлен в таблице 2). На рисунке 2 отражены основные взаимосвязи между индивидуально-личностными качествами участников и их динамикой функциональных состояний (по объективным и проективным данным).

По результатам корреляционного анализа выявлены статистически значимые связи между динамикой функциональных состояний и такими индивидуально-личностными качествами, как экстраверсия – интроверсия и привязанность – отчуждённость.

Согласно данным рисунка 2, чем сильнее выражено у участника самоуважение, тем более благоприятным был уровень его общего функционального состояния организма в утреннее время. Также утром более успешно адаптировались к экспедиции люди, более избирательные в оказании помощи другим и склонные поддерживать оптимальную дистанцию в общении. Кроме этого, значение имеет выраженность экстравертированных и интровертированных черт. Согласно результатам корреляционного анализа, у экстравертов с выраженной потребностью в поиске впечатлений в условиях экспедиции скорее расходовались психофизиологические резервы организма. В то время как интроверты, способные переносить уединение и монотонию легче,

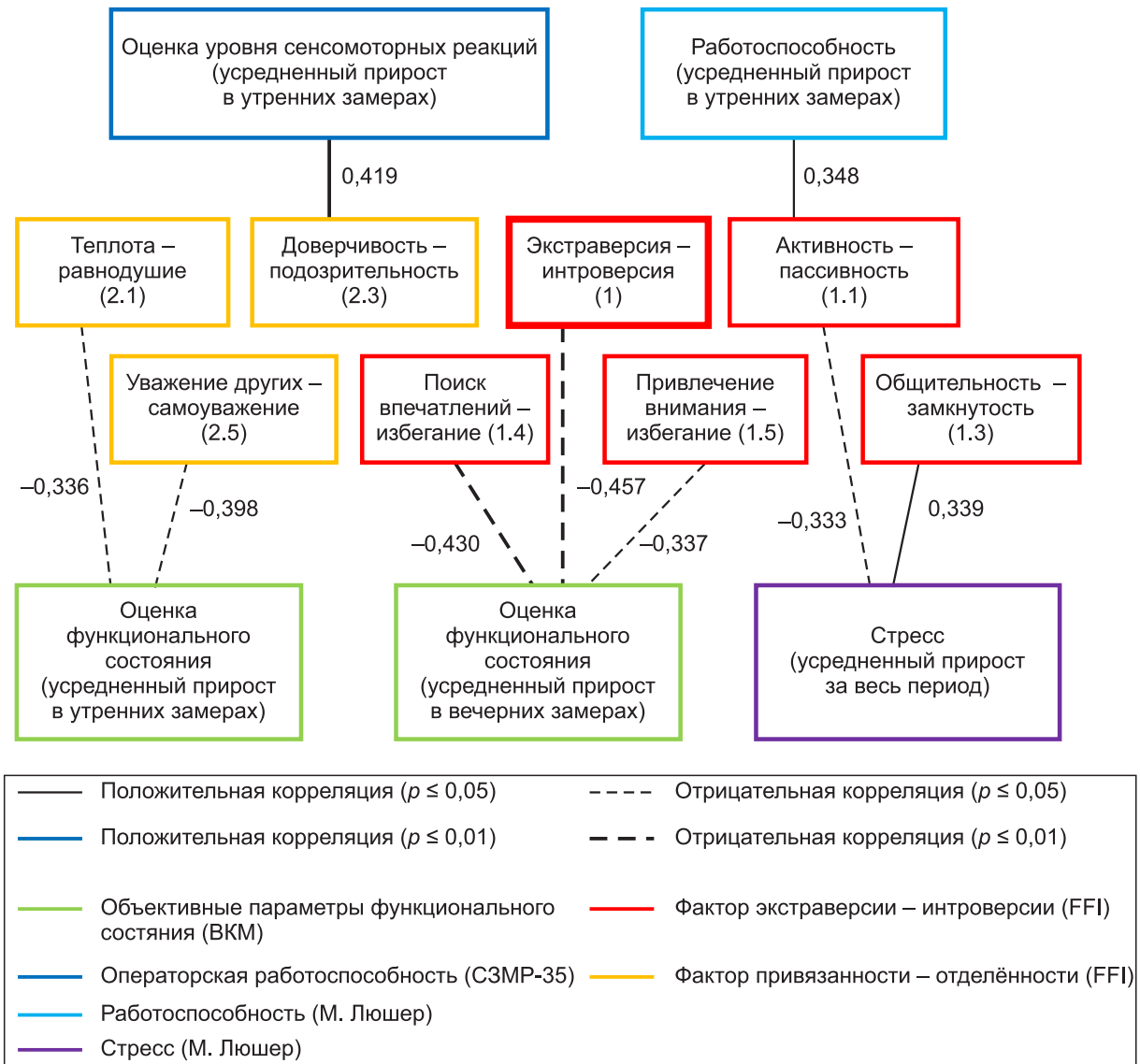


РИС. 2.

Корреляционная плеяда взаимосвязи индивидуально-личностных качеств и коэффициентов среднего прироста значений объективных психофизиологических и проективных психологических параметров функциональных состояний участников в течение морской арктической экспедиции

FIG. 2.

Correlation pleiad of the relationship of individual-personal qualities and coefficients of average increase in the values of objective psycho-physiological and projective psychological parameters of the functional states of participants during the marine Arctic expedition

чем экстраверты, к вечеру, наоборот, имели более благоприятные показатели функционального состояния. Участники, которые брали на себя меньше ответственности в групповой работе, не стремясь занимать лидерское положение, также имели в вечернее время более оптимальное состояние.

Более работоспособными в вечернее время были активные, открытые для общения участники, способные к доверительным отношениям, в том числе к обсуждению своих переживаний и трудностей. У участников с более выраженной подозрительностью, которая может проявляться в переживаниях по поводу недооценки себя в коллективе, быстрее развивалось психофизиологическое напряжение. Более активные люди лучше

сохраняли энергию в вечернее время и способность работать, не замечая усталости.

Общительные участники склонны чаще испытывать стресс. При этом в условиях экспедиции стрессу более подвержены активные люди, предпочитающие заниматься какой-то деятельностью.

Таким образом, выявленные взаимосвязи свидетельствуют о том, что преобладание экстравертированных или интровертированных черт, наряду со склонностью к привязанности, основанной на потребности в тёплых и доверительных отношениях, или отдалённости, предполагающей развитое самоуважение, выступают индивидуально-личностными маркерами в оценке функциональных состояний.

ОБСУЖДЕНИЕ

Говоря о результатах нашего исследования, можно отметить, что в целом они согласуются с данными предыдущих экспедиций «Арктического плавучего университета» в 2013 г. [21] и 2015 г. [22]. Так, в 2013 г. была также выявлена тенденция к преобладанию симпатической нервной системы у участников на протяжении всего рейса. Согласно результатам исследования, в 2015 г. было установлено, что у участников в возрасте до 35 лет наблюдается повышение активности парасимпатических влияний к окончанию рейса, и, наоборот, активность симпатoadренальной системы с вкладом в гуморальный компонент регуляции увеличивается у лиц старше 35 лет. В целом данные, полученные в ходе экспедиции в 2015 г., свидетельствуют об отсутствии значимого негативного воздействия краткосрочного морского рейса в «высоких широтах» на функциональное состояние организма участников. Что также согласуется с результатами, полученными в настоящем исследовании.

Полученные нормальные значения по проективному показателю стресса у участников согласуются с результатами исследования С.А. Alfano, J. Bower, C. Connaboy и коллег (2021) [36], посвящённого психическому здоровью, физическим симптомам и биомаркерам стресса у участников экспедиции во время девятимесячного периода пребывания в экстремальных условиях Антарктиды. При анализе изменений, наблюдаемых по разным месячным показателям и маркерам стресса, исследователям не удалось выявить какой-либо один период как однозначно сложный. Мы предполагаем, что на выраженность стресса оказывает влияние продолжительность пребывания в экстремальных условиях экспедиции. Важно отметить, что при отсутствии ярко выраженного стрессового состояния у участников, был выявлен незначительный положительный прирост стресса в утренние часы, что свидетельствует о тенденции к накоплению стресса. Согласно данным исследования С.В. Пряничникова (2020) [16], у людей, пребывающих более продолжительное время в посёлке Баренцбург (архипелаг Шпицберген), более 6 месяцев, показатели психоэмоционального состояния характеризуются увеличением уровня личностной тревожности, проявляющейся в снижении эмоционального фона и увеличении напряжённости. Также удалось установить, что повышение уровня личностной тревожности связано с показателями кардиогемодинамики.

Полученные результаты исследования, отражающие взаимосвязь функциональных состояний с разными характеристиками личности участников, свидетельствуют в пользу комплексного характера исследования с применением разных групп диагностических методов. Соотношение характеристик функциональных состояний в динамике экспедиционного рейса и индивидуально-личностных качеств открывает перспективы для выявления и прогноза развития процесса адаптации, а также более дифференцированной системы сопровождения сотрудников.

Безусловно, что для более успешного взаимодействия в экспедиционной команде необходимы участники с различными характеристиками: как жизнерадост-

ные и активные люди, способные проявлять инициативу, первыми идти на контакт с окружающими и как следствие объединяющие вокруг себя группу, так и более спокойные, сохраняющие дистанцию в общении люди, лучше справляющиеся с монотонной работой и прорабатывающие детально поставленные задачи. Кроме этого, нельзя исключать профессиональную принадлежность участников, которая оказывает влияние на личностные характеристики. Так, например, в сравнительном исследовании личностных характеристик жителей высоких широт с применением диагностической методики «Большой пятёрки» авторами (G.D. Steel, P. Suedfeld, A. Peri и L.A. Palinkas) [29] было выявлено, что учёные, как профессиональная группа, имели более низкие баллы по шкале экстраверсии, чем военнослужащие, и по шкале доброжелательности, чем технический и обслуживающий персонал.

Одним из ограничений настоящего исследования является относительно небольшой объём выборки. Кроме этого, сезонность проведения исследования влияет на психоэмоциональное и функциональное состояние организма. Проведение более продолжительного исследования с привлечением большего числа участников помогло бы нам глубже изучить тему. А также расширение спектра методов оценки функциональных состояний, включающих также выявление признаков утомления, дезадаптации и др., позволило бы расширить вариативность получаемых связей с индивидуально-личностными качествами.

В статье представлена часть результатов морской научно-исследовательской экспедиции в Арктический регион. Планируется дальнейшее выявление и описание статистически значимых взаимосвязей индивидуально-личностных качеств и динамики функциональных состояний участников экспедиции.

По результатам проведённого исследования можно сформулировать следующие рекомендации и направления оптимизации деятельности участников экспедиции:

- предварительно не допускать истощения психофизиологических резервов перед началом экспедиции;
- в первые дни экспедиции обращать внимание на функциональное состояние, соблюдать баланс между активной деятельностью и отдыхом;
- при возможности организовывать работу в соответствии с собственными биоритмами;
- в период высадок на острова обеспечивать полноценный отдых для сохранения достаточной работоспособности;
- участникам с более выраженными экстравертированными чертами с вниманием относиться к реализации своей активности, связанной с расходом психофизиологических резервов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ динамики объективных психофизиологических и проективных психологических параметров функциональных состояний участников экспедиции в целом

свидетельствуют об отсутствии значимого негативного влияния «высоких широт» на функциональное состояние организма участников 20-дневной морской арктической экспедиции. Согласно объективным данным, функциональное состояние характеризуется тенденцией к преобладанию допустимых значений с умеренным напряжением регуляторных систем. Благодаря достаточным адаптационным возможностям сердечно-сосудистой и вегетативной нервной систем участники сохраняют нормальные показатели самочувствия и работоспособности. Динамика работоспособности в течение рейса характеризовалась тенденцией к средним (достаточным) значениям согласно объективным и проективным данным. Динамика проективного показателя стресса в целом отражает норму, при этом фиксируется незначительный положительный прирост стресса в утренние часы, что свидетельствует о тенденции к накоплению стресса. В целом, полученные объективные и проективные данные не носят противоречивый характер, а скорее дополняют друг друга.

Наиболее значимыми с точки зрения изменений стали 2-й, 11-й и 14-й дни исследования. В начале экспедиции, в утренние часы 2-го дня исследования увеличилось число участников с неблагоприятным функциональным состоянием. Далее в утренние часы 11-го дня исследования, на субъективном уровне наблюдался спад работоспособности, произошло усиление парасимпатического отдела вегетативной нервной системы. И после завершения этапа высадок на острова, с 14-го дня исследования на несколько дней увеличились объективные показатели операторской работоспособности и произошли изменения в динамике вегетативной нервной системы: по проективному показателю вегетативного баланса снизились значения, отражающие тенденцию к преобладанию симпатического тонуса, в динамике объективного показателя функционального состояния стала преобладать тенденция к сбалансированному влиянию отделов вегетативной нервной системы, а по проективному показателю стала преобладать тенденция к усилению парасимпатического влияния.

Выдвинутая нами гипотеза нашла частичное подтверждение. Установлено, что общий уровень функционального состояния организма, измеренный объективным методом, взаимосвязан с интроверсией и избеганием новых впечатлений, а также равнодушием и самоуважением. Участники экспедиции с умеренной выраженностью данных характеристик характеризовались более благоприятным уровнем функционального состояния.

Уровень операторской работоспособности, измеренный объективным методом, взаимосвязан с доверчивостью и открытостью участников экспедиции. У участников экспедиции с более высоким уровнем активности наблюдаются более высокая работоспособность и более сниженный стресс, согласно проективным параметрам. С большей выраженностью стресса также связана общительность как черта личности.

Таким образом, для поддержания оптимального уровня общего функционального состояния организма в условиях морской арктической экспедиции не-

обходима умеренная выраженность интровертированных качеств личности, при этом для сохранения требуемого уровня работоспособности важно развитие открытости и активности как индивидуально-личностных качеств.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках реализации государственного задания на проведение фундаментальных научных исследований по теме «Оценка психологических рисков в профессиональной деятельности специалистов экстремального профиля» (проект FSRU-2020-006, 2020–2022 гг.).

Благодарность

Авторы выражают благодарность участникам исследования и организаторам научно-образовательного проекта «Арктический плавучий университет – 2021» на научно-экспедиционном судне «Михаил Сомов».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванов И.С. (ред.). *Арктический регион: Проблемы международного сотрудничества. Хрестоматия в 3 томах*. М.: Аспект Пресс; 2013.
2. Хаснулин В.И. Здоровье человека и космогеофизические факторы Севера. *Экология человека*. 2013; 12: 3-13.
3. Чашин В.П., Гудков А.Б., Попова О.Н., Одланд Ю.О., Ковшов А.А. Характеристика основных факторов риска нарушений здоровья населения, проживающего на территориях активного природопользования в Арктике. *Экология человека*. 2014; 1: 3-12.
4. Popova T, Kulganov V, Lobanov A, Andronov S. Neuro-psychological adaptation of patients with chronic bronchitis in Arctic conditions. *Eur Respir J*. 2018; 52: PA801. doi: 10.1183/13993003.congress-2018.PA801
5. Атьков О.Ю., Горохова С.Г., Сериков В.В., Алчинова И.Б., Полякова М.В., Панкова Н.Б., и др. Результаты медицинских и психофизиологических исследований во время кругосветного арктического перелёта. *Вестник РАМН*. 2019; 74(4): 261-271. doi: 10.15690/vramn1110
6. Фролков В.К., Нагорнев С.Н., Бобровницкий И.П., Жернов В.А., Зубаркина М.М. Патологические механизмы неблагоприятного влияния климатогеографических факторов Арктики на здоровье человека и технологии восстановительной медицины. *Физиотерапевт*. 2020; 1: 57-63. doi: 10.33920/med-14-2002-10
7. Корчин В.И., Корчина Т.Я., Терникова Е.М., Бикбулатова Л.Н., Лапенко В.В. Влияние климатогеографических факторов Ямало-Ненецкого автономного округа на здоровье населения (обзор). *Журнал медико-биологических исследований*. 2021; 9(1): 77-88. doi: 10.37482/2687-1491-Z046
8. Сергейчик О.И., Ярославская Е.И., Плюснин А.В. Влияние факторов внешней среды на риск сердечно-сосудистых за-

болеваний населения Арктики. *Журнал медико-биологических исследований*. 2022; 10(1): 64-72. doi: 10.37482/2687-1491-Z091

9. Гамбарян М.Г. Эпидемиологические особенности хронических респираторных заболеваний в ряде регионов российской Арктики с развитым промышленным производством. *Профилактическая медицина*. 2014; 17(6): 71-78. doi: 10.17116/profmed201417671-78

10. Хаснулин В.И., Воевода М.И., Хаснулин П.В., Артамонова О.Г. Современный взгляд на проблему артериальной гипертензии в приполярных и арктических регионах. Обзор литературы. *Экология человека*. 2016; 3: 43-51. doi: 10.33396/1728-0869-2016-3-43-51

11. Шопина О.В., Салтыкова М.М., Балакаева А.В., Бобровницкий И.П. Особенности смертности населения в городах Крайнего Севера (на примере Нижневартовска и Якутска). *Анализ риска здоровью – 2021. Внешнесредовые, социальные, медицинские и поведенческие аспекты. Совместно с международной встречей по окружающей среде и здоровью RISE-2021: Материалы XI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием: в 2 т*; под ред. проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН Н.В. Зайцевой. Пермь: Изд-во Пермского национального исследовательского политехнического университета; 2021; 1: 189-200.

12. Décamps G, Rosnet E. A longitudinal assessment of psychological adaptation during a winter-over in Antarctica. *Environ Behav*. 2005; 37(3): 418-435. doi: 10.1177/0013916504272561

13. Palinkas LA, Suedfeld P. Psychological effects of polar expeditions. *Lancet*. 2008; 371(9607): 153-163. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61056-3

14. Симонова Н.Н. Групповая изоляция нефтяников при вахтовом труде на Севере. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2009; 11(4-4): 964-969.

15. Moraes MM, Bruzzi RS, Martins YAT, Mendes TT, Maluf CB, Ladeira RVP, et al. Hormonal, autonomic cardiac and mood states changes during an Antarctic expedition: From ship travel to camping in Snow Island. *Physiol Behav*. 2020; 224: 113069. doi: 10.1016/j.physbeh.2020.113069

16. Пряничников С.В. Психофизиологическое состояние организма в зависимости от длительности пребывания в высоких широтах Арктики. *Экология человека*. 2020; 12: 4-10. doi: 10.33396/1728-0869-2020-12-4-10

17. Pankova NB, Alchinova IB, Cherepov AB, Yakovenko EN, Karganov MY. Cardiovascular system parameters in participants of Arctic expeditions. *Int J Occup Med Environ Health*. 2020; 33(6): 819-828. doi: 10.13075/ijom.1896.01628

18. Корнеева Я.А., Симонова Н.Н. Особенности психологической адаптированности вахтового персонала в условиях Крайнего Севера. *Национальный психологический журнал*. 2021; 44(4): 63-74. doi: 10.11621/nprj.2021.0406

19. Хоменко Ю.Г. Изучение психофизиологических аспектов адаптации к условиям арктической экспедиции в АПУ-2021: предварительные результаты. *Комплексная научно-образовательная экспедиция «Арктический плавучий университет – 2021»: материалы результатов экспедиции*; сост. и отв. ред. Л.Н. Драчкова. Архангельск: КИРА; 2022: 141-152.

20. Депутат И.С., Джос Ю.С. Адаптация человека на севере: медико-биологические аспекты. *Вестник Северного (Арктического) федерального университета. Серия: Медико-биологические науки*. 2013; 1: 100-102.

21. Порохина И.А., Войтехович Т.С., Симонова Н.Н. Изменение социально-психологического климата, настроения коллектива и функциональных состояний участников экспедиции в динамике Арктического рейса. *Экология человека*. 2015; 10: 37-46.

22. Федотов Д.М., Мелькова Л.А., Подоплекин А.Н. Функциональное состояние организма человека при морских транзитных рейсах в условиях Арктики. *Журнал медико-биологических исследований*. 2017; 5(1): 37-47. doi: 10.17238/issn2542-1298.2017.5.1.37

23. Бойко И.М., Мосягин И.Г. *Психофизиологическая безопасность полётов на Европейском Севере России: монография*. Архангельск: Изд-во Северного государственного медицинского университета; 2011.

24. Мосягин И.Г., Хугаева С.Г., Бойко И.М. *Психофизиологические стратегии адаптивного профессиообразования моряков тралового флота в условиях Арктического Севера: монография*. Архангельск: Изд-во Северного государственного медицинского университета; 2013.

25. Корнеева Я.А., Бобырева Н.С., Симонова Н.Н., Дегтева Г.Н. Функциональное состояние работников нефтегазодобывающих компаний в условиях Арктики. *Гигиена и санитария*. 2019; 98(2): 159-165. doi: 10.18821/0016-9900-2019-98-2-159-165

26. McCrae RR, Costa PT Jr. Toward a new generation of personality theories: Theoretical contexts for the five-factor model. In: J.S. Wiggins (ed.). *The five-factor model of personality: Theoretical perspectives*. New York: Guilford Press; 1996: 51-87.

27. Barrick MR, Mount MK. The Big Five personality dimensions and job performance: A meta-analysis. *Pers Psychol*. 1991; 44(1): 1-26. doi: 10.1111/j.1744-6570.1991.tb00688.x

28. Beverly ER. Personality and employee performance. *Int J Curr Res*. 2019; 11(6): 4830-4834. doi: 10.24941/ijcr.35781.06.2019

29. Steel GD, Suedfeld P, Peri A, Palinkas LA. People in high latitudes: the "Big Five" personality characteristics of the circumpolar sojourner. *Environ Behav*. 1997; 29(3): 324-347. doi: 10.1177/001391659702900302

30. Palinkas LA, Gunderson EK, Holland AW, Miller C, Johnson JC. Predictors of behavior and performance in extreme environments: The Antarctic space analogue program. *Aviat Space Environ Med*. 2000; 71(6): 619-625.

31. Леонова А.Б. *Психодиагностика функциональных состояний человека*. М.: Изд-во Московского университета; 1984.

32. Lüscher M, Scott I. *The Lüscher color test*. Random House: New York, USA; 1969.

33. Собчик Л.Н. *Метод цветовой выборки. Модификация восьмицветового теста Люшера. Практическое руководство*. СПб.: Речь; 2001.

34. Аминев Г.А. Инструкция и интерпретация восьмицветового теста на основе математической обработки. Математические методы инженерной психологии. Уфа; 1982: 19-24.

35. Хромов А.Б. *Пятифакторный опросник личности*. Курган: Изд-во Курганского гос. университета; 2000.

36. Alfano CA, Bower J, Connaboy C, Agha NH, Baker FL, Smith KA, et al. Mental health, physical symptoms and biomarkers of stress during prolonged exposure to Antarctica's extreme environment. *Acta Astronautica*. 2021; 181(4). doi: 10.1016/j.actaastro.2021.01.051

REFERENCES

1. Ivanov IS (ed.). *Arctic region: Problems of international cooperation*. Moscow: Aspect Press; 2013. (In Russ.).
2. Hasnulin VI. Human health and cosmogeophysical north factors. *Human Ecology*. 2013; 12: 3-13. (In Russ.).
3. Chashchin VP, Gudkov AB, Popova ON, Odland JÖ, Kovshov AA. Description of main health deterioration risk factors for population living on territories of active natural management in the Arctic. *Human Ecology*. 2014; 1: 3-12. (In Russ.).
4. Popova T, Kulganov V, Lobanov A, Andronov S. Neuro-psychological adaptation of patients with chronic bronchitis in Arctic conditions. *Eur Respir J*. 2018; 52: PA801. doi: 10.1183/13993003.congress-2018.PA801
5. Atkov OYu, Gorokhova SG, Serikov VV, Alchinova IB, Polyakova MV, Pankova NB, et al. The results of medical and psychophysiological examination performed during an Arctic World Oceanic International Flight. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2019; 74(4): 261-271. (In Russ.). doi: 10.15690/vramn1110
6. Frolov VK, Nagornev SN, Bobrovnikskiy IP, Zhernov VA, Zubarkina MM. Pathophysiological mechanisms caused by adverse influence of climatic and geographical factors of the arctic on human health and technologies of rehabilitation medicine. *Fizioterapevt*. 2020; 1: 57-63. (In Russ.). doi: 10.33920/med-14-2002-10
7. Korchin VI, Korchina TYa, Ternikova EM, Bikbulatova LN, Lapenko VV. Influence of climatic and geographical factors of the Yamalo-Nenets autonomous okrug on the health of its population (Review). *Journal of Medical and Biological Research*. 2021; 9(1): 77-88. (In Russ.). doi: 10.37482/2687-1491-Z046
8. Sergeychik OI, Yaroslavskaya EI, Plyusnin AV. Impact of environmental factors on the risk of cardiovascular disease in the population of the Arctic (review). *Journal of Medical and Biological Research*. 2022; 10(1): 64-72. (In Russ.). doi: 10.37482/2687-1491-Z091
9. Gambaryan MG. Epidemiological features of chronic respiratory diseases in a number of regions of the Russian Arctic with developed industry. *Profilakticheskaya meditsina*. 2014; 17(6): 71-78. (In Russ.). doi: 10.17116/profmed201417671-78
10. Hasnulin VI, Voevoda MI, Hasnulin PV, Artamonova OG. Modern approach to arterial hypertension in the circumpolar and Arctic regions. Literature review. *Human Ecology*. 2016; 3: 43-51. (In Russ.). doi: 10.33396/1728-0869-2016-3-43-51
11. Shopina OV, Saltykova MM, Balakaeva AV, Bobrovnikskiy IP. Peculiarities of mortality of the population in cities of the far North (on the example of Nizhnevartovsk and Yakutsk). *Analiz riska zdorov'yu – 2021. Vneshnesredovye, sotsial'nye, meditsinskije i povedencheskie aspekty. Sovmestno s mezhdunarodnoy vstrechey po okruzhayushchey srede i zdorov'yu RISE-2021: Materialy XI Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem: v 2 t. Perm; 2021; 1: 189-200.* (In Russ.).
12. Décamps G, Rosnet E. A longitudinal assessment of psychological adaptation during a winter-over in Antarctica. *Environ Behav*. 2005; 37(3): 418-435. doi: 10.1177/0013916504272561
13. Palinkas LA, Suedfeld P. Psychological effects of polar expeditions. *Lancet*. 2008; 371(9607): 153-163. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61056-3
14. Simonova NN. Oilmen' group isolation at rotation work in the North. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2009; 11(4-4): 964-969. (In Russ.).
15. Moraes MM, Bruzzi RS, Martins YAT, Mendes TT, Maluf CB, Ladeira RVP, et al. Hormonal, autonomic cardiac and mood states changes during an Antarctic expedition: From ship travel to camping in Snow Island. *Physiol Behav*. 2020; 224: 113069. doi: 10.1016/j.physbeh.2020.113069
16. Pryanichnikov SV. Associations between psychophysiological state and duration of stay in High Arctic. *Human Ecology*. 2020; 12: 4-10. (In Russ.). doi: 10.33396/1728-0869-2020-12-4-10
17. Pankova NB, Alchinova IB, Cherepov AB, Yakovenko EN, Karganov MY. Cardiovascular system parameters in participants of Arctic expeditions. *Int J Occup Med Environ Health*. 2020; 33(6): 819-828. doi: 10.13075/ijomeh.1896.01628
18. Korneeva Ya.A., Simonova N.N. The psychological adaptation features of shift personnel in the Far North. *Natsional'nyy psikhologicheskij zhurnal*. 2021; 4(44): 63-74. (In Russ.). doi: 10.11621/npj.2021.0406
19. Khomenko YuG. The study of psychophysiological aspects of adaptation to the conditions of the Arctic expedition in AFU-2021: Preliminary results. *Kompleksnaya nauchno-obrazovatel'naya ekspeditsiya «Arkticheskij plavuchiy universitet – 2021»: Materialy rezul'tatov ekspeditsii*; ed. by Drachkova LN. Arkhangelsk; 2022: 141-152. (In Russ.).
20. Deputat IS, Jos YuS. Human adaptation in the north: biomedical aspects. *Vestnik of the Northern (Arctic) Federal University. Series "Medical and Biological Sciences"*. 2013; 1: 100-102. (In Russ.).
21. Porokhina IA, Voytekovich TS, Simonova NN. Changes in socio-psychological climate, team's mood and expedition member's status in the dynamics of an Arctic voyage. *Human Ecology*. 2015; 10: 37-46. (In Russ.).
22. Fedotov DM, Mel'kova LA, Podoplekin AN. The functional state of the human body during translatitudinal sea voyages in the Arctic. *Journal of Medical and Biological Research*. 2017; 5(1): 37-47. (In Russ.). doi: 10.17238/issn2542-1298.2017.5.1.37
23. Boyko IM, Mosiagin IG. *Psychophysiological flight safety in the European North of Russia*. Arkhangelsk; 2011. (In Russ.).
24. Mosiagin IG, Khugaeva SG, Boyko IM. *Psychophysiological strategy of adaptive genesis of trawler fleet sailors in the Arctic North*. Arkhangelsk; 2013. (In Russ.).
25. Korneeva YaA, Bobyrev NS, Simonova NN, Degteva GN. Complex evaluation of the functional status of oil and gas workers during shift period in the Arctic conditions. *Hygiene and Sanitation, Russian Journal*. 2019; 98(2): 159-165. (In Russ.). doi: 10.18821/0016-9900-2019-98-2-159-165
26. McCrae RR, Costa PT Jr. Toward a new generation of personality theories: Theoretical contexts for the five-factor model. In: Wiggins JS (ed.). *The five-factor model of personality: Theoretical perspectives*. New York: Guilford Press; 1996: 51-87.
27. Barrick MR, Mount MK. The Big Five personality dimensions and job performance: A meta-analysis. *Pers Psychol*. 1991; 44(1): 1-26. doi: 10.1111/j.1744-6570.1991.tb00688.x
28. Beverly ER. Personality and employee performance. *Int J Curr Res*. 2019; 11(6): 4830-4834. doi: 10.24941/ijcr.35781.06.2019
29. Steel GD, Suedfeld P, Peri A, Palinkas LA. People in high latitudes: the "Big Five" personality characteristics of the circumpolar sojourner. *Environ Behav*. 1997; 29(3): 324-347. doi: 10.1177/001391659702900302

30. Palinkas LA, Gunderson EK, Holland AW, Miller C, Johnson JC. Predictors of behavior and performance in extreme environments: The Antarctic space analogue program. *Aviat Space Environ Med.* 2000; 71(6): 619-625.
31. Leonova AB. *Psychodiagnostics of human functional states.* Moscow; 1984. (In Russ.).
32. Luscher M, Scott I. *The Luscher color test.* New York, USA: Random House; 1969.
33. Sobchik LN. *Color selection method. Modification of the eight-color Luscher test. Practical guide.* St. Petersburg; 2001. (In Russ.).
34. Aminev GA. Instruction and interpretation of the eight-color test based on mathematical processing. *Mathematical methods in engineering psychology.* Ufa; 1982: 19-24. (In Russ.).
35. Khromov AB. *Five-factor personality questionnaire.* Kurgan; 2000. (In Russ.).
36. Alfano CA, Bower J, Connaboy C, Agha NH, Baker FL, Smith KA, et al. Mental health, physical symptoms and biomarkers of stress during prolonged exposure to Antarctica's extreme environment. *Acta Astronautica.* 2021; 181(4). doi: 10.1016/j.actaastro.2021.01.051

Сведения об авторах

Тункина Мария Александровна – эксперт отдела целевых научных программ и проектов научно-исследовательского управления, ФГАОУ ВО «Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова», e-mail: masha.tynkina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1403-1639>

Корнеева Яна Александровна – кандидат психологических наук, доцент, доцент кафедры психологии, ФГАОУ ВО «Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова», e-mail: ya.korneeva@narfu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9118-9539>

Симонова Наталья Николаевна – кандидат биологических наук, доктор психологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории психологии труда факультета психологии, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», e-mail: n23117@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5658-6811>

Трофимова Анна Алексеевна – магистрант 2-го курса, ФГАОУ ВО «Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова», e-mail: annatrofimova100@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1751-7773>

Information about the authors

Maria A. Tunkina – Expert at the Department of Targeted Scientific Programs and Projects of the Research Department, Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov University, e-mail: masha.tynkina@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1403-1639>

Yana A. Korneeva – Cand. Sc. (Psychol.), Docent, Associate Professor at the Department of Psychology, Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov University, e-mail: ya.korneeva@narfu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9118-9539>

Natalia N. Simonova – Cand. Sc. (Biol.), Dr. Sc. (Psychol.), Professor, Leading Research Officer at the Laboratory of Occupational Psychology, Faculty of Psychology, Lomonosov Moscow State University, e-mail: n23117@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5658-6811>

Anna A. Trofimova – 2nd year Master's Degree Student, Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov, e-mail: annatrofimova100@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1751-7773>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

ВЛИЯНИЕ ПСИХОСОЦИАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ В РАБОТЕ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СОСТОЯНИЯ СОТРУДНИКОВ ВНЕВЕДОМСТВЕННОЙ ОХРАНЫ РОСГВАРДИИ

Корнеева А.В.,
Корнеева Я.А.

ФГАОУ ВО «Северный
(Арктический) федеральный
университет им. М.В. Ломоносова»
(163002, г. Архангельск,
наб. Северной Двины, 17, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Корнеева Анастасия Валерьевна,
e-mail: arh.a.korneeva@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Анализ современных исследований показал недостаточную изученность факторов труда, влияющих на развитие различных функциональных состояний сотрудников вневедомственной охраны, позволяющих разработать рекомендации по повышению их психологической безопасности.

Цель исследования. Выявить и описать психосоциальные факторы на работе во взаимосвязи с общим функциональным состоянием организма, стрессом и работоспособностью сотрудников вневедомственной охраны.

Методы. Использовались опросник психосоциальных факторов на работе QPSNordic, психофизиологическое тестирование с помощью прибора «Психофизиолог», тест цветовых предпочтений М. Люшера, многомерные статистические методы. В исследовании приняли участие 74 сотрудника вневедомственной охраны Архангельской области.

Результаты. Общее функциональное состояние организма, стресс и работоспособность, измеренные объективными и проективными методами, дифференцировано взаимосвязаны с психосоциальными факторами на работе. Общее функциональное состояние организма имеет большую связь с личным отношением к выполняемой деятельности; стресс и работоспособность – с факторами социальной поддержки, организационной культуры и требованиями к работе. На общее функциональное состояние сотрудников вневедомственной охраны благоприятное влияние оказывают такие факторы, как понимание целей выполняемой работы и ожидаемых результатов, удовлетворённость качеством работы и безопасностью труда; неблагоприятное – недостаточная способность поддерживать хорошие отношения с коллективом. К факторам напряжённости труда относятся однотипные задачи, жёсткий график, повышенное внимание во время работы и большая точность движений. Факторы риска связаны с жёстким регламентом рабочего дня и с недостаточным вниманием к мнению и интересам подчинённых со стороны руководства; при этом средовым ресурсом является возможность реализации профессиональных мотивов и проявления мастерства в работе, а также благоприятная организационная культура.

Ключевые слова: психосоциальные факторы на работе, психологическая безопасность, функциональное состояние, вневедомственная охрана, стресс, работоспособность

Статья поступила: 05.06.2022
Статья принята: 13.09.2022
Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Корнеева А.В., Корнеева Я.А. Влияние психосоциальных факторов в работе на функциональные состояния сотрудников вневедомственной охраны Росгвардии. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 242-258. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.25

INFLUENCE OF PSYCHOSOCIAL FACTORS AT WORK ON THE NON-DEPARTMENTAL SECURITY OFFICERS OF THE NATIONAL GUARD OF THE RUSSIAN FEDERATION

**Korneeva A.V.,
Korneeva Ya.A.**

Northern (Arctic) Federal University
named after M.V. Lomonosov
(Severnaya Dvina embankment 17,
Arkhangelsk 163002,
Russian Federation)

Corresponding author:
Anastasiya V. Korneeva,
e-mail: arh.a.korneeva@gmail.com

ABSTRACT

An analysis of modern research has shown insufficient study of the labor factors that influence the development of various functional states of non-departmental security officers which allow to develop the recommendations to improve their psychological safety.

The aim of the study. *To identify and to describe psychosocial factors at work in relation to the general functional state of the body, stress and performance of non-departmental security officers.*

Methods. *We used the General Nordic Questionnaire for Psychological and Social Factors at Work (QPSNordic), psychophysiological testing using "Psychophysilogist" device, M. Lüscher color preference test, multivariate statistical methods. The study involved 74 non-departmental security officers of the Arkhangelsk region.*

Results. *The general functional state of the body, stress and performance, measured by objective and projective methods, are differentially interconnected with psychosocial factors at work. The general functional state of the body is related with the personal attitude to the work performed; stress and performance – with factors of social support, organizational culture and work requirements. The general functional state of non-departmental security officers is favorably influenced by such factors as understanding the goals of the work performed and the expected results, satisfaction with the quality of work and labor safety. Insufficient ability to maintain good relations with the team unfavorably influences the general functional state of the officers. The factors of work intensity include one-type tasks, tight schedule, increased alertness during work and greater precision in movements. Risk factors are associated with strict working hours and insufficient attention of the management to the opinion and interests of subordinates. At the same time, the environmental resource is the possibility of realizing professional motives and demonstrating mastery in work, as well as a favorable organizational culture.*

Key words: *psychosocial factors at work, psychological safety, functional state, non-departmental security forces, stress, working efficiency*

Received: 05.06.2022
Accepted: 13.09.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Korneeva A.V., Korneeva Ya.A. Influence of psychosocial factors at work on the non-departmental security officers of the National Guard of the Russian Federation. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 242-258. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.25

ОБОСНОВАНИЕ

Сегодня всё больше внимания исследователей привлекают проблемы влияния профессиональной деятельности на состояние психического и соматического здоровья специалистов, работа которых тесно связана с интенсивным и эмоционально насыщенным взаимодействием с людьми.

Федеральная служба войск национальной гвардии Российской Федерации (Росгвардия) является специфическим видом войск, включённых в общую систему вооружённой защиты конституционного строя государства и предназначенных для силовой защиты безопасности Российской Федерации и прав её граждан. В сферу деятельности войск правопорядка входят функции по обеспечению безопасности населения, предупреждению и пресечению преступных проявлений, политического экстремизма и терроризма, поддержанию общественного порядка и эффективному решению служебно-боевых задач в регионах межнациональных конфликтов [1].

Наиболее характерным и хорошо изученным психическим состоянием, развивающимся под влиянием экстремальных условий деятельности, является стресс. Исследованию стрессового состояния в служебной деятельности сотрудников правоохранительных органов посвящены работы многих отечественных и зарубежных авторов: изучены факторы возникновения стрессовых состояний [2–8]; определено влияние стресса на выполнение сотрудниками оперативно-служебных задач [9–11] и изучен контроль стрессовых состояний и формирование психофизической устойчивости сотрудников в различных ситуациях служебной деятельности [12, 13]. При этом значительно меньше исследованы другие виды функциональных состояний и их регуляция: работоспособность [14], утомление [15, 16], адаптационные механизмы [17–20], регуляторные механизмы функциональных систем [21–23].

В связи с возложенными на спецслужбу задачами по обеспечению соблюдения правопорядка, выполнение служебных и профессиональных обязанностей сотрудниками Росгвардии сопряжено с возможным развитием психологических рисков: дезорганизацией поведения, неадекватными реакциями на резкие неожиданные раздражители, торможением прежних навыков [24], формализмом при выполнении должностных обязанностей, переносом части специфических профессиональных действий, стереотипов и установок на внеслужебное поведение [25], снижением организованности, торможением действий и движений [26].

Понятие профессионального риска фактически объединяет в себе, с одной стороны, негативное воздействие окружающей среды и условий профессиональной деятельности, а с другой – вероятностный характер негативной реакции организма и психики сотрудников. Под психологическим риском в профессиональной деятельности понимается «вероятность формирования неблагоприятных функциональных состояний и возникновения профессиональных личностных деструкций у работников при выполнении трудовых функций из-за дли-

тельного воздействия негативных социально-бытовых и производственных факторов при недостаточном личностном и средовом ресурсе» [27].

В настоящее время сотрудники правоохранительных органов сталкиваются со сложными задачами, которые необходимо выполнять в экстремальных ситуациях, опасных для физического и психического здоровья. Для успешного достижения этой цели в различных видах служебной и профессиональной деятельности сотрудники должны выполнять чрезвычайно сложные действия, требующие максимального физического и психического напряжения. В связи с этим проблема личной безопасности сотрудников правоохранительных органов при решении профессиональных задач приобретает особую остроту и актуальность.

Специфика профессиональной деятельности сотрудников военизированных формирований определяется многократным воздействием различных внешних, в том числе стрессовых факторов, которые являются основанием для проведения полноценного медико-психологического исследования [28, 29]. По определению Международной организации труда, понятие психосоциального риска связано, с одной стороны, с производственной средой, содержанием труда и его организационными условиями, а с другой – со способностями, потребностями, культурой и личностными внепроизводственными представлениями и суждениями работников, и может через восприятие и опыт влиять на состояние здоровья, производительность и удовлетворённость работой [30].

Всемирная организация здравоохранения [31] разработала перечень связанных с работой психосоциальных опасностей для Европейской системы управления психосоциальными рисками. Для оценки этих факторов созданы и апробированы опросники, к числу которых относится Общий опросник психологических и социальных факторов на работе (QPSNordic, General Nordic Questionnaire for Psychological and Social Factors at Work), который предназначен для оценки психологических, социальных и организационных условий труда: обеспечения организационного развития; исследования взаимосвязей между работой и здоровьем; документации изменений условий труда [32].

На основе изученных исследований современных отечественных и зарубежных авторов можно утверждать о важности изучения психосоциальных факторов на рабочем месте у сотрудников вневедомственной охраны. Оценка психосоциальных факторов риска во взаимосвязи с диагностикой функционального состояния сотрудников вневедомственной охраны позволит определить ключевые организационные и личностные условия, влияющие на психологическую безопасность труда, под которой мы понимаем психическое состояние подконтрольности субъекту комплекса внешних и внутренних факторов эргатической системы, обеспечивающее актуализацию внутренних средств личности для эффективности профессиональной деятельности на психофизиологическом и психологическом уровне, и разработать адресные рекомендации по улучшению условий труда [33] и повышению эффективности их профессиональной деятельности.

Зачастую в исследованиях основное внимание уделено изучению неблагоприятных функциональных состояний сотрудников (стресса, напряжения, утомления, монотонии и др.), которые повышают риск возникновения несчастных случаев на рабочем месте. В то же время необходимо оценивать влияние факторов труда на развитие позитивных состояний, к числу которых относится работоспособность, позволяющая качественно и оперативно выполнять служебные задачи.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить и описать психосоциальные факторы на работе во взаимосвязи с общим функциональным состоянием организма, стрессом и работоспособностью сотрудников вневедомственной охраны.

ГИПОТЕЗЫ ИССЛЕДОВАНИЯ:

1. Предполагаем, что общее функциональное состояние организма, стресс и работоспособность, измеренные объективными и субъективными методами, будут дифференцировано взаимосвязаны с психосоциальными факторами на работе. Общее функциональное состояние организма будет иметь большую связь с факторами напряжённости служебной деятельности, а стресс и работоспособность, согласно субъективным оценкам, – с факторами социальной поддержки, организационной культуры и требованиями к работе.

2. Предполагаем, что из всего многообразия психосоциальных факторов на работе у сотрудников вневедомственной охраны можно выделить три ключевые группы: 1) факторы напряжённости труда, характеризующие специфику условий и организацию служебной деятельности (более устойчивые и не предполагающие существенных изменений); 2) позитивные психосоциальные факторы или средовой ресурс, поддерживающие необходимый уровень функциональных состояний и благополучия сотрудников; 3) негативные психосоциальные факторы или факторы риска, способствующие развитию неблагоприятных функциональных состояний служащих и которые могут быть изменены средствами организационных мероприятий и изменений. Ожидаем, что к первой группе будут относиться жёсткие требования к графику работы, отсутствие внимания к мнению сотрудников со стороны руководителей в связи со спецификой деятельности сотрудников вневедомственной охраны. Ко второй группе будут отнесены факторы профессионального мастерства и мотивы служебной деятельности. В качестве негативных психосоциальных факторов выступают ограничения организации труда (негибкий график работы, жёсткая субординация).

Гипотезы базируются также на предыдущем исследовании, проведённом на выборке лесозаготовителей при сменном режиме труда и отдыха [34].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на базе вневедомственной охраны войск национальной гвардии России в Архангельской области в период с июня 2020 г. по ноябрь 2021 г.; в нём приняли участие 23 сотрудника Новодвинского филиала и 51 сотрудник Северодвинского филиала. Общей объём выборки – 74 сотрудника, включая 73 мужчины и 1 женщину, в возрасте от 22 до 52 лет (средний возраст $34,35 \pm 0,957$ года), со средним стажем службы $10,11 \pm 0,927$ года (максимальный стаж – 28 лет). Участники исследования принимали участие на добровольной основе. Программа и методы исследования рассмотрены на этическом комитете Высшей школы психологии, педагогики и физической культуры Северного (Арктического) федерального университета и рекомендованы к применению (протокол № 2, 2020 г.). Мероприятия психологических исследований в подразделениях проведены с соблюдением норм Российского законодательства, в том числе Федерального Закона № 152 от 27.07.2006 «О персональных данных». Проведение исследования согласовано с руководством соответствующих ведомств.

Относительно занимаемой должности все обследуемые распределяются следующим образом: 35,5 % сотрудников (от общего объёма выборки) – старшие полицейские, 34,2 % – полицейские (водители), 21 % занимают руководящие должности, 9,3 % – другие должности. Участники исследования принимали участие на добровольной основе.

Функциональными обязанностями старшего полицейского и полицейского (водителя) являются участие в охране общественного порядка, обеспечении общественной безопасности охрана имущества граждан, особо важных и режимных объектов, объектов, подлежащих обязательной охране войсками национальной гвардии. Сотрудники руководящих должностей (командиры отделения/взвода и их заместители) отвечают за успешное выполнение отделением/взводом задач; морально-психологическое состояние и безопасность военной службы; организацию работы подчинённого личного состава по выполнению индивидуальных планов работы. К группе других должностей относятся старший специалист по работе с личным составом, старший группы задержания, инспектор по кадрам, стажёр и др.

При разработке дизайна настоящего исследования учитывались собственные предыдущие исследования по оценке функциональных состояний вахтового персонала (нефтегазодобывающего производства, лесозаготовительных предприятий на Крайнем Севере) [27, 35], которые предполагали необходимость диагностики состояний объективными, проективными и субъективными методами для получения комплексной информации об изучаемом феномене. Работа вахтовым методом на Крайнем Севере и в Арктике сопровождается повышением риска формирования негативных функциональных состояний и критического снижения профессиональной надёжности и безопасности труда [36, 37]. В этом контексте негативные функциональные со-

стояния, включая рабочий стресс, необходимо рассматривать как психологическое напряжение или набор негативных психофизиологических ответов и реакций [38], которые возникают при превышении требований рабочей среды возможностей и ресурсов работника, а также при отсутствии удовлетворения потребностей работника рабочей средой [39]. Полагаем возможным применить данный подход к описанию функциональных состояний сотрудников вневедомственной охраны в силу схожести особенностей профессиональной деятельности: экстремальность и напряжённость условий труда, сменный график работы.

Для диагностики функциональных состояний сотрудников применялись аппаратные методы с использованием прибора психофизиологического тестирования УПФТ-1/30 «Психофизиолог», включая следующие:

1. Сложная зрительно-моторная реакция (СЗРМ) – время сложной зрительно-моторной реакции (реакция с переключением); характеризует скорость проведения возбуждения по рефлекторной дуге. Позволяет определить скорость и качество выполнения заданий. На сочетании этих двух параметров делается вывод об уровне операторской работоспособности (высокий, средний или низкий) по параметрам 2-альтернативной сложной зрительно-моторной реакции (75 стимулов). Сущность методики СЗРМ заключается в определении времени и стабильности зрительно-моторной реакции на световые стимулы (зелёный и красный квадраты в центре экрана монитора).

2. «Вариационная кардиоинтервалометрия» (ВКМ) – позволяет оценить функциональное состояние и адаптационные возможности сердечно-сосудистой системы на основе электрокардиографии 128 кардиоциклов. Методика выявляет шесть типов состояний работников: критическое, негативное, предельно допустимое, допустимое, близкое к оптимальному и оптимальное, – а также уровень их функциональных возможностей (низкий, средний или высокий).

3. Проективные показатели функционального состояния измерены с помощью теста цветовых предпочтений М. Люшера, адаптированного Л.Н. Собчик [40], с расчётом коэффициентов интерпретации Г.А. Аминев (цит. по [41]). На основе факторного анализа Г.А. Аминев выделил следующие коэффициенты: гетерономность; концентричность; баланс личностных свойств; баланс автономной (вегетативной) нервной системы; работоспособность; наличие стрессового состояния. Все эти коэффициенты рассчитываются по соответствующим формулам, отражающим ту или иную комбинацию цветов [40]. Более подробное описание каждого параметра и его расчёт на основе выбора цветов респондентом представлены в нашей предыдущей работе [42]. В этом исследовании использовались только коэффициенты оценки работоспособности и стресса. Интерпретирующие коэффициенты Г.А. Аминев неоднократно использовались в эмпирических исследованиях и хорошо согласуются с другими параметрами функциональных состояний человека [41, 42].

Оценка функционального состояния с применением данных аппаратных методик и теста М. Люшера про-

водилась трижды у одного и того же сотрудника в разные смены. Замеры осуществлялись до и после смены, в дневную, ночную смену и выходной.

4. Оценка психосоциальных факторов риска проводилась с помощью общего опросника психосоциальных факторов на работе QPSNordic [32]. Он включает оценку частоты проявлений 123 психосоциальных факторов, объединённых в 14 блоков: личная информация; требования к работе; ролевые ожидания; контроль в работе; прогнозирование в работе; мастерство в работе; социальное взаимодействие; руководство; организационная культура; взаимодействие между работой и личной жизнью; рабочая центральность; приверженность организации; групповая работа; рабочие мотивы. Ответы по всем пунктам даются по 5-балльной шкале Лайкерта (очень редко или никогда; довольно редко; иногда; довольно часто; очень часто или всегда).

Статистический анализ данных проводился с помощью пакета программ SPSS Statistics 23.00 (IBM Corp., США; лицензионное соглашение № Z125-3301-14; САФУ им. М.В. Ломоносова) с использованием методов описательных статистик, анализа частот, множественного пошагового регрессионного анализа.

Для проверки первой гипотезы применялись три множественных пошаговых регрессионных анализа для зависимых (общее функциональное состояние организма, работоспособность и стресс) и независимых (психосоциальные факторы на работе) переменных. Множественному регрессионному анализу были подвергнуты оценки по QPSNordic. Качество регрессионной модели оценивалось по критерию ANOVA и коэффициенту множественной детерминации. Применён пошаговый метод *stepwise*. Критерии шагового отбора: вероятность F-включения – 0,05; вероятность исключения – 0,1.

Для проверки второй гипотезы проводился частотный анализ субъективных оценок сотрудников психосоциальных факторов на работе (балльная шкала от 1 до 5), который продемонстрировал характер распределения оценок по отдельным пунктам анкеты. Анализ вопросов анкеты QPSNordic позволили сделать вывод о том, что часть из них носят позитивную формулировку (как, например, «Ваш непосредственный начальник поощряет Вас высказываться, когда у Вас разные мнения»), и, следовательно, чем выше балл, тем чаще это проявляется в работе и более благоприятен результат воздействия на сотрудника. Часть вопросов анкеты носят негативную формулировку: например, «Ваши рабочие задачи слишком сложны для Вас» или «Подвергались ли Вы запугиванию или преследованию на рабочем месте в течение последних шести месяцев», – то есть высокая оценка по данному параметру может означать максимально неблагоприятное воздействие на сотрудника. Также были факторы, которые не имели явного позитивного или негативного полюса в формулировке (например, «Работа включает контакты с гражданами»), – как правило, это факторы из числа требований к работе и организации труда.

Далее мы отобрали факторы всех трёх категорий, которые имели максимально высокие (5 и 4) или макси-

мально низкие (1 и 2) значения у большинства опрошенных сотрудников. Выбирались не только крайние оценки, так как у части респондентов была тенденция не давать крайние оценки. Отобранные факторы мы распределили на три группы: 1) факторы напряжённости труда, характеризующие специфику условий и организацию служебной деятельности; 2) позитивные психосоциальные факторы или средовой ресурс, поддерживающие необходимый уровень функциональных состояний и благополучия сотрудников; 3) негативные психосоциальные факторы или факторы риска, способствующие развитию неблагоприятных функциональных состояний служащих.

ЭТАПЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Описание уровня общего функционального состояния организма, работоспособности и стресса сотрудников вневедомственной охраны.
2. Определение взаимосвязи функционального состояния, работоспособности и стресса с психосоциальными факторами на работе сотрудников вневедомственной охраны средствами множественного пошагового регрессионного анализа.
3. Описание общих, позитивных и негативных психосоциальных факторов на работе сотрудников вневедомственной охраны.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе настоящего исследования проводилась оценка функционального состояния сотрудников вневедомственной охраны с помощью объективных аппаратных и субъективных методов (табл. 1, 2).

Как видно из данных таблицы 1, функциональное состояние сотрудников в дневную смену преимущественно оптимальное, в то время как в ночную смену – предельно допустимое, а в выходной день – допустимое. Снижение уровня общего функционального состояния организма сотрудника свидетельствует о низкой адаптивности к определённому типу смены, недостаточности внутренних ресурсов, а также указывает на большую трудоёмкость работы в ночное время.

Шесть видов общего функциональных состояний организма (по методике ВКМ) были распределены нами

на две группы (рис. 1): благоприятные (допустимое, близкое к оптимальному, оптимальное состояния) и неблагоприятные (негативное, критическое, предельно допустимое состояния), – и установлены статистически значимые различия в распределении сотрудников вневедомственной охраны с благоприятным и неблагоприятным состояниями, работающих в разные смены ($\chi^2 = 6,037$; $p = 0,049$).

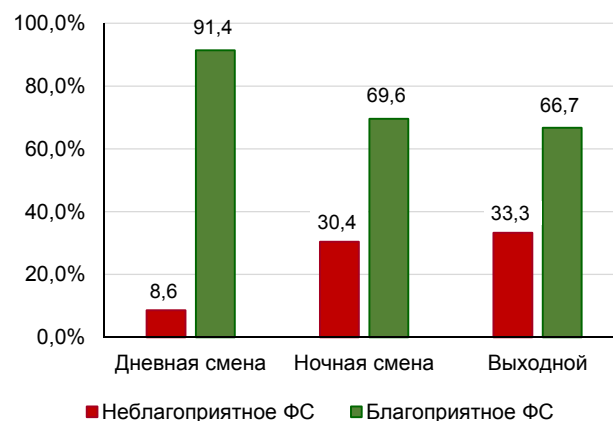


РИС. 1.

Уровень функционального состояния у сотрудников вневедомственной охраны, работающих в разные смены (%)

FIG. 1.

The level of functional state of non-departmental security officers working different shifts (%)

В дневную смену наблюдается максимальное количество служащих с благоприятным уровнем функционального состояния (91,4 %), при этом большее количество сотрудников с неблагоприятным состоянием отмечается при работе в ночную смену (30,4 %) и выходной день (33,3 %). Мы предполагаем, что негативное состояние во время ночной смены можно связать с низкой адаптивностью сотрудников к данному типу смены. В выходной день наблюдается большее количество сотрудников с неблагоприятными функциональными состояниями по сравнению с дневной сменой, что может быть связано с отсутствием полноценного восстановления сил во время отдыха (например, выходной день посвящают интенсивной активности, другим делам и недостаточно времени уделяют отдыху).

ТАБЛИЦА 1

СРЕДНИЕ ЗНАЧЕНИЯ И СТАНДАРТНЫЕ ОШИБКИ СРЕДНЕГО ОБЩЕГО ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА СОТРУДНИКОВ ВНЕВЕДОМСТВЕННОЙ ОХРАНЫ ПРИ РАБОТЕ В РАЗНЫЕ СМЕНЫ

TABLE 1

MEAN VALUES AND STANDARD ERRORS OF THE AVERAGE GENERAL FUNCTIONAL STATE OF THE BODY OF NON-DEPARTMENTAL SECURITY OFFICERS WHEN WORKING DIFFERENT SHIFTS

Показатель	Дневная смена		Ночная смена		Выходной день	
	M ± SE	уровень	M ± SE	уровень	M ± SE	уровень
Функциональное состояние (ВКМ)	1,42 ± 0,550	оптимальное	0,36 ± 0,048	предельно допустимое	0,59 ± 0,114	допустимое

Как видно из данных таблицы 2, общая характеристика функциональных состояний сотрудников вневедомственной охраны позволяет сделать вывод о достаточно высоком уровне их психологической безопасности и адаптированности к работе служащих.

На следующем этапе исследования последовательно проведены три множественных пошаговых регрессионных анализа, где в качестве зависимых переменных использовались уровень общего функционального состояния организма (по методике ВКМ), стресс и работоспособность (по методике М. Люшера), в качестве независимой переменной – оценка психосоциальных факторов на работе (по методике QPSNordic).

Коэффициенты множественных корреляций для окончательных моделей статистически значимы ($p < 0,001$; табл. 3), поэтому модели множествен-

ных регрессий могут быть содержательно интерпретированы.

Коэффициенты множественной корреляции соответствуют высокой силе связи (от 0,62 до 0,91) и объясняют до 83 % дисперсии переменных, отражающих общее функциональное состояние организма, стресс и работоспособность (табл. 4).

Анализ регрессионного уравнения (табл. 5) демонстрирует следующие взаимосвязи: чем четче понимание того, чего ждут от работника, чем выше удовлетворенность качеством выполняемой работы и ощущение безопасной среды, тем позитивнее общее функциональное состояние организма сотрудника вневедомственной охраны. В связи с тем, что их работа является экстремальной и сопряжена с риском для жизни и здоровья не только для самих служащих, но и для населе-

ТАБЛИЦА 2

СРЕДНИЕ ЗНАЧЕНИЯ И СТАНДАРТНЫЕ ОШИБКИ СРЕДНЕГО ОБЩЕГО ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА, СТРЕССА И РАБОТОСПОСОБНОСТИ СОТРУДНИКОВ ВНЕВЕДОМСТВЕННОЙ ОХРАНЫ

Показатели	M ± SE	Уровень
Функциональное состояние (ВКМ)	1,21 ± 0,329	оптимальное
Стресс (М. Люшер)	10,22 ± 0,418	низкий
Работоспособность (М. Люшер)	18,37 ± 0,134	высокий

TABLE 2

MEAN VALUES AND STANDARD ERRORS OF THE AVERAGE GENERAL FUNCTIONAL STATE OF THE BODY, STRESS AND WORKING EFFICIENCY OF NON-DEPARTMENTAL SECURITY OFFICERS

ТАБЛИЦА 3

ANOVA ДЛЯ РЕГРЕССИОННЫХ МОДЕЛЕЙ

Модели	Сумма квадратов	Степени свободы	Средний квадрат	F	p
Для зависимой переменной – общее функциональное состояние организма	1,901	4	0,475	17,122	< 0,001
Для зависимой переменной – стресс	211,070	3	70,357	33,163	< 0,001
Для зависимой переменной – работоспособность	1386,108	5	277,222	41,083	< 0,001

TABLE 3

ANOVA FOR REGRESSION MODELS

ТАБЛИЦА 4

СВОДКА РЕГРЕССИОННЫХ МОДЕЛЕЙ

Модель	R	R-квадрат	Скорректированный R-квадрат	Стандартная ошибка оценки	Статистика изменений				
					изменение R-квадрат	изменение F	степень свободы 1	степень свободы 2	знач. изменение F
Для зависимой переменной – общее функциональное состояние организма	0,626	0,589	0,16660	0,075	8,212	1	41	0,007	0,626
Для зависимой переменной – стресс	0,833	0,693	0,672	1,4566	0,036	5,179	1	44	0,028
Для зависимой переменной – работоспособность	0,915	0,837	0,817	2,5977	0,037	9,071	1	40	0,004

TABLE 4

SUMMARY OF REGRESSION MODELS

ния, уверенность в результате своих действий и чувство защищённости благоприятно сказываются на состоянии персонала.

Работа сотрудников вневедомственной охраны в парах как особенность организации труда обуславливает значимость коммуникации между коллегами по подразделению в целом. Чем меньше сотрудники довольны своей способностью поддерживать хорошие контакты с сослуживцами, тем более оптимальным является функциональное состояние сотрудника. Это также может быть связано с тем, что, помимо своего напарника, работник может общаться с коллективом только в условиях отсутствия срочных задач (в условиях монотонии).

Регрессионное уравнение (табл. 6) относительно зависимой переменной работоспособности включает следующие связи: чем большей физической выносливостью требует работа и чем полезнее имеющиеся знания и навыки для работы, тем выше работоспособность сотрудников вневедомственной охраны. Как и в ситуации с уровнем общего функционального состояния организма, меньшая готовность коллег – при необходимости – выслушать рабочие проблемы положительно воздействует на работоспособность. Возможность самостоятельно руководить процессом, прибегая к собственным способностям и квалификации, способствует поддержанию высокого уровня рассматриваемого параметра.

Регрессионное уравнение (табл. 7) относительно зависимой переменной стресса выявило ряд стрессоров: медленный темп работы, лёгкие рабочие задачи, недо-

статочность общения с коллегами, освоение новых знаний. Несмотря на то, что персоналу необходимы трудные задачи, индивидуальный подход к их решениям, они благоприятно воздействуют на работников при условии, что навыков и знаний, которыми они обладают, будет достаточно для выполнения деятельности. Исходя из этого, можно утверждать, что развитию стресса на работе в большей степени способствуют факторы организационной культуры, нежели требования в работе.

Для проверки второй гипотезы мы провели частотный анализ субъективных оценок сотрудников психосоциальных факторов на работе. Вопросы, отображённые в анкете QPSNordic, имеют два вектора: положительно сформулированные вопросы, например, «Если необходимо, можете ли вы получить поддержку и помощь в работе от коллег?», и чем выше балл ответа, тем чаще фактор проявляется на службе и благоприятнее влияет на служащего; негативно сформулированные вопросы, например, «Есть ли перебои, которые мешают вашей работе?», высокий балл по которым указывает на неблагоприятное воздействие на сотрудника. Третья группа вопросов – нейтральные: сюда включены вопросы, которые не имели явного позитивного или негативного окрашивания; зачастую это требования к работе и организации труда («Включает ли ваша работа контакты с покупателями или клиентами?»). Определить нейтральность возможно при условии соотнесения вопроса с квалификацией служащего, а также с его рабочей мотивацией.

ТАБЛИЦА 5

ВКЛАД ОЦЕНОК ПСИХОСОЦИАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ (КОЭФФИЦИЕНТЫ РЕГРЕССИОННОГО УРАВНЕНИЯ) В ИЗМЕНЧИВОСТЬ ОБЩЕГО ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА СОТРУДНИКОВ ВНЕВЕДОМСТВЕННОЙ ОХРАНЫ

TABLE 5

CONTRIBUTION OF ASSESSMENTS OF PSYCHOSOCIAL FACTORS (REGRESSION EQUATION COEFFICIENTS) TO THE VARIABILITY OF THE GENERAL FUNCTIONAL STATE OF NON-DEPARTMENTAL SECURITY OFFICERS

Модель	Нестандартизованные коэффициенты		Стандартизованные коэффициенты		t	p	95% ДИ для В	
	В	стандартная ошибка	бета				нижняя граница	верхняя граница
Константа	-1,111	0,282			-3,941	< 0,001	-1,680	-0,542
Рольевые ожидания. Вы точно знаете, чего от вас ждут на работе?	0,172	0,052	0,434		3,306	0,002	0,067	0,277
Мастерство. Довольны ли вы качеством выполняемой работы?	0,435	0,062	0,988		6,977	< 0,001	0,309	0,561
Мастерство. Довольны ли вы своей способностью поддерживать хорошие отношения с коллегами по работе?	-0,356	0,056	-0,864		-6,305	< 0,001	-0,470	-0,242
Рабочие мотивы. Иметь безопасную и здоровую физическую рабочую среду	0,149	0,052	0,416		2,866	0,007	0,044	0,254

Примечание. 95% ДИ – 95%-й доверительный интервал.

Далее мы отобрали факторы всех трёх категорий, которые имели максимально высокие (5 и 4) или максимально низкие (1 и 2) значения у большинства опрошенных сотрудников. Отобранные факторы мы распределили на три группы: 1) факторы напряжённости труда, характеризующие специфику условий и организацию служебной деятельности; 2) позитивные психосоциальные факторы или средовой ресурс, поддерживающие необходимый уровень функциональных состояний и благо-

получия сотрудников; 3) негативные психосоциальные факторы или факторы риска, способствующие развитию неблагоприятных функциональных состояний служащих (табл. 8–10). Отбирались те факторы, которые имели схожие максимальные или минимальные оценки у большинства сотрудников.

Как видно из данных таблицы 8, труд сотрудников вневедомственной охраны характеризуется однотипными задачами, жёстким графиком, требует повышен-

ТАБЛИЦА 6
КОЭФФИЦИЕНТЫ РЕГРЕССИОННОЙ
МОДЕЛИ ДЛЯ ЗАВИСИМОЙ ПЕРЕМЕННОЙ –
РАБОТОСПОСОБНОСТЬ

Модель	Нестандартизованные коэффициенты		Стандартизованные коэффициенты		t	p	95% ДИ для В	
	В	стандартная ошибка	бета				нижняя граница	верхняя граница
Константа	12,086	1,299	–		9,304	< 0,001	9,468	14,704
Требования к работе. Нужно ли работать в быстром темпе?	2,794	0,313	0,783		8,920	< 0,001	2,163	3,425
Соцподдержка. Если необходимо, готовы ли ваши коллеги выслушать ваши рабочие проблемы?	–1,448	0,288	–0,609		–5,027	< 0,001	–2,028	–0,867
Требования к работе. Ваши навыки и знания полезны для вашей работы?	1,000	0,439	0,279		2,276	0,028	0,114	1,885

Примечание. 95% ДИ – 95%-й доверительный интервал.

TABLE 6
REGRESSION MODEL COEFFICIENTS
FOR THE DEPENDENT VARIABLE – WORKING EFFICIENCY

ТАБЛИЦА 7
КОЭФФИЦИЕНТЫ РЕГРЕССИОННОЙ МОДЕЛИ
ДЛЯ ЗАВИСИМОЙ ПЕРЕМЕННОЙ – СТРЕСС

Модель	Нестандартизованные коэффициенты		Стандартизованные коэффициенты		t	p	95% ДИ для В	
	В	стандартная ошибка	бета				нижняя граница	верхняя граница
Константа	10,611	1,733			6,122	0,000	15,809	30,980
Требования к работе. Нужно ли работать в быстром темпе?	–5,407	0,599	–0,674		–9,021	0,000	–6,618	–4,195
Организационная культура. Достаточно ли коммуникаций в вашем отделе?	1,731	0,408	0,288		4,240	0,000	0,906	2,556
Требования к работе. Требуется ли ваша работа приобретения новых знаний и новых навыков?	4,090	0,671	0,476		6,094	0,000	2,733	5,446
Прогнозирование. Вы предпочитаете трудные задания, связанные с частым выполнением новых рабочих задач?	–2,846	0,775	–0,310		–3,670	0,001	–4,413	–1,279
Требования к работе. Ваша работа требует сложных решений?	–2,095	0,696	–0,218		–3,012	0,004	–3,501	–0,689

Примечание. 95% ДИ – 95%-й доверительный интервал.

TABLE 7
REGRESSION MODEL COEFFICIENTS FOR THE DEPENDENT
VARIABLE – STRESS

ного внимания и большой точности движений. Общение с гражданами носит периодичный характер, а также при необходимости требуется физическая выносливость.

Исходя из таблицы 9, можно сделать вывод о том, что в подразделениях вневедомственной охраны, где проводилось исследование, в целом созданы благоприятные условия труда и организационная культура, о чём свидетельствует обширный перечень позитивных психосоциальных факторов на работе. Сотрудники обладают необходимой квалификацией для решения профессиональных задач, имеют чёткое представление о целях своей деятельности и понимают их необходимость, положительно оценивают свои профессиональные навыки, получают необходимую поддержку от других коллег. Организационная культура благоприятная, между сотрудниками доверительные отношения, отсутствуют притеснения и проявления дискриминации со стороны руководства и коллег. Ведущие рабочие мотивы персонала – чувство безопасности, материальный достаток и значимость их деятельности.

Согласно данным таблицы 10, факторы риска для сотрудников вневедомственной охраны больше связаны с контролем и руководством деятельностью служащих и включают следующие: жесткое регулирование рабочего времени; строго обозначенное время для перерыва; отсутствие внимания к мнению и интересам подчинённых со стороны вышестоящего руководства. Выявленные особенности обусловлены спецификой деятельности вневедомственной охраны. В то же время учёт

интересов служащих в изменениях графика, перерывах при необходимости (значимые события) может позволить снизить риск возникновения неблагоприятных функциональных состояний.

Следовательно, по данным связям мы можем сделать вывод относительно оптимальности затрат организма работников на выполнение профессиональных задач в конкретных условиях труда, а также выявить ключевые факторы, которые в большей степени способствуют напряжению адаптивных ресурсов работника.

Работоспособность и стресс, измеренные с помощью проективной методики, отражают малоосознаваемые психические реакции и эмоциональные проявления, связанные с работой. Поэтому мы наблюдаем большую их связь с факторами социальной поддержки, руководства и организационной культуры. Комфортность этих условий позволяет сотрудникам чувствовать большую удовлетворённость трудом и, как следствие, повышать их работоспособность; дискомфортность, наоборот, способствует появлению стрессовых состояний.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании уровень общего функционального состояния организма в ночные смены у сотрудников вневедомственной охраны значительно ниже, чем при работе в дневную смену. В исследованиях показано, что работа в ночную смену является одной из наи-

ТАБЛИЦА 8
ОБЩИЕ ФАКТОРЫ ТРУДА СОТРУДНИКОВ
ВНЕВЕДОМСТВЕННОЙ ОХРАНЫ
(% ОТ ОБЩЕЙ ВЫБОРКИ)

Блоки факторов	Факторы риска	Очень редко или никогда	Довольно редко	Иногда	Довольно часто	Очень часто или всегда
Требования к работе	Ваша работа требует физической выносливости?	4,8	19,0	38,1	23,8	14,3
Требования к работе	Ваша работа требует максимального внимания?	0,0	0,0	14,3	42,9	42,9
Требования к работе	Ваша работа требует большой точности движений?	0,0	23,8	28,6	33,3	14,3
Требования к работе	Ваша работа однообразна?	14,3	23,8	42,9	14,3	4,8
Требования к работе	Вам нужно повторять одну и ту же рабочую процедуру с интервалом в несколько минут	42,9	19,0	23,8	9,5	4,8
Требования к работе	Работа включает контакты с гражданами	28,6	4,8	19,0	14,3	9,5
Контроль	Можете ли вы установить собственное рабочее время (гибкий график)?	81,0	0,0	19,0	0,0	0,0
Контроль	Сможете ли вы решить, когда связаться с гражданами?	47,6	4,8	14,3	23,8	9,5

TABLE 8
GENERAL LABOR FACTORS OF NON-DEPARTMENTAL
SECURITY OFFICERS (% OF THE TOTAL SAMPLE)

ТАБЛИЦА 9

**ПОЗИТИВНЫЕ ПСИХОСОЦИАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ
НА РАБОТЕ СОТРУДНИКОВ ВНЕВЕДОМСТВЕННОЙ
ОХРАНЫ (% ОТ ОБЩЕЙ ВЫБОРКИ)**

TABLE 9

**POSITIVE PSYCHOSOCIAL FACTORS AT WORK
OF NON-DEPARTMENTAL SECURITY OFFICERS
(% OF THE TOTAL SAMPLE)**

Блоки факторов	Факторы риска	Очень редко или никогда	Довольно редко	Иногда	Довольно часто	Очень часто или всегда
Требования к работе	Ваша рабочая нагрузка нерегулярна, так что работа скапливается?	33,3	47,6	14,3	4,8	0,0
Требования к работе	Ваши рабочие задачи слишком сложны для вас?	42,9	42,9	9,5	4,8	0,0
Требования к работе	Ваши навыки и знания полезны для вашей работы?	0,0	4,8	23,8	57,1	14,3
Требования к работе	Считаете ли вы свою работу значимой?	0,0	9,5	19,0	66,7	4,8
Требования к работе	Связаны ли ошибки в вашей работе с риском экономических потерь?	52,4	19,0	23,8	4,8	0,0
Рольевые ожидания	Вы знаете, в чём заключаются ваши обязанности?	0,0	0,0	4,8	38,1	57,1
Рольевые ожидания	Включает ли ваша работа задачи, которые противоречат вашим личным ценностям?	61,9	19,0	19,0	0,0	0,0
Прогнозирование	Демонстрация способностей и компетентности для получения новых задач/проектов?	47,6	23,8	23,8	4,8	0,0
Мастерство	Довольны ли вы качеством выполняемой работы?	0,0	0,0	9,5	71,4	19,0
Мастерство	Довольны ли вы объёмом проделанной работы?	4,8	0,0	4,8	66,7	23,8
Мастерство	Довольны ли вы своей способностью решать проблемы на работе?	0,0	0,0	14,3	66,7	19,0
Мастерство	Довольны ли вы своей способностью поддерживать хорошие отношения с коллегами по работе?	0,0	0,0	14,3	61,9	23,8
Мастерство	Можете ли вы сами сразу оценить, хорошо ли вы выполнили свою работу?	0,0	0,0	14,3	66,7	19,0
Соцподдержка	Если необходимо, можете ли вы получить поддержку и помощь в работе от коллег?	0,0	0,0	19,0	52,4	23,8
Соцподдержка	Если необходимо, можете ли вы получить поддержку и помощь в работе от вашего непосредственного начальника?	0,0	0,0	23,8	52,4	19,0
Издевательства	Подвергались ли вы запугиванию или преследованию на рабочем месте в течение последних шести месяцев?	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Руководство	Ваш непосредственный начальник справедливо и одинаково обращается с работниками?	4,8	4,8	14,3	71,4	0,0
Руководство	Являются ли отношения между вами и вашим непосредственным начальником источником стресса для вас?	66,7	23,8	4,8	0,0	0,0
Организационная культура	Недоверчивый и подозрительный	66,7	14,3	9,5	4,8	0,0
Организационная культура	Замечали ли вы какое-либо неравенство в отношении к старшим и молодым сотрудникам на вашем рабочем месте?	61,9	19,0	19,0	0,0	0,0
Взаимодействие	Мешают ли требования вашей работы вашему дому и семейной жизни?	52,4	33,3	4,8	4,8	4,8
Взаимодействие	Мешают ли требования вашей семьи или супруга/партнёра вашей деятельности, связанной с работой?	71,4	19,0	4,8	0,0	4,8
Рабочие мотивы	Иметь мирную и упорядоченную работу	0,0	0,0	28,6	47,6	23,8
Рабочие мотивы	Чтобы почувствовать, что достигли чего-то стоящего	0,0	4,8	19,0	52,4	23,8
Рабочие мотивы	Что работа безопасна и приносит регулярный доход	4,8	0,0	23,8	38,1	33,3

Примечание. Красным шрифтом обозначены вопросы с негативной формулировкой, зелёным – с позитивной формулировкой.

ТАБЛИЦА 10
НЕГАТИВНЫЕ ПСИХОСОЦИАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ
НА РАБОТЕ (ФАКТОРЫ РИСКА) СОТРУДНИКОВ
ВНЕВЕДОМСТВЕННОЙ ОХРАНЫ
(% ОТ ОБЩЕЙ ВЫБОРКИ)

TABLE 10
NEGATIVE PSYCHOSOCIAL FACTORS AT WORK
(RISK FACTORS) OF NON-DEPARTMENTAL SECURITY
OFFICERS (% OF THE TOTAL SAMPLE)

Блоки факторов	Факторы риска	Очень редко или никогда	Довольно редко	Иногда	Довольно часто	Очень часто или всегда
Контроль	Можете ли вы выбрать продолжительность перерыва?	38,1	4,8	42,9	14,3	0,0
	Можете ли вы установить собственное рабочее время (гибкий график)?	81,0	0,0	19,0	0,0	0,0
Прогнозирование	Считаете ли вы, что у вас есть кто-то или организация, которые заботятся о ваших интересах?	23,8	19,0	42,9	14,3	0,0
Руководство	Ваш непосредственный начальник поощряет вас высказываться, когда у вас разные мнения?	14,3	33,3	38,1	4,8	4,8

Примечание. Зелёным шрифтом обозначены вопросы с позитивной формулировкой.

более частых причин нарушения циркадианных ритмов, что отражается на физическом и психологическом самочувствии, снижении работоспособности [43, 44].

В.Л. Марищук и М.А. Евдокимов предложили классификацию основных факторов риска, способствующих возникновению стрессовых состояний у сотрудников правоохранительных органов (цит. по [45]). Одной из таких групп стресс-факторов является группа социально-бытовых факторов, в которую включено недовольство условиями службы, отношением к себе командиров, начальников. В исследовании В. Talavera-Velasco и соавт. [46] отсутствие достаточной поддержки на рабочем месте было в значительной степени связано с высоким уровнем эмоциональной усталости. Это находит подтверждение и в нашем исследовании.

Нами было обнаружено, что быстрый темп работы благоприятно влияет на работоспособность. В исследованиях отечественных авторов физическая активность является одним из ведущих способов повышения работоспособности сотрудников правоохранительных органов. По мнению А.В. Алдошина [47], большое значение в этом процессе принадлежит идеомоторной тренировке, особенно при обучении профессиональным двигательным действиям, а также в профилактике нервно-эмоциональной напряжённости. Ю.А. Щербак [14] считает, что методом повышения уровня работоспособности является формирование здорового образа жизни, который также включает в себя физическую активность.

Анализ научных исследований отмечает необходимость рассмотрения каждого блока психосоциальных факторов на работе. Так, отсутствие социальной поддержки внутри организации – одна из переменных, которая лучше всего объясняет стресс у сотрудников правоохранительных органов. Ощущение поддержки со стороны коллег и начальства имеет решающее значение для этих специалистов [48]. Кроме того, сотрудники полиции подвергаются высокому риску сердечно-сосуди-

стых заболеваний, если они ощущают низкий уровень контроля в работе, высокие требования или давление при выполнении задач и слабую поддержку [49]. Источником стресса руководящего состава правоохранительных органов, по мнению Ю.П. Платонова, является высокая служебная нервно-психическая нагрузка [50]; в исследовании Н.А. Кору в качестве одного из факторов выявлены дополнительные нагрузки, связанные с необходимостью выполнять часть задач подчинённых, которые периодически не справляются со служебными обязанностями [29].

В работе А.Н. Макуриной и соавт. проведён обзор современных исследований по проблеме профессионального стресса, а также отмечены психосоциальные риски, которые оказывают на него влияние. Стресс на работе может вызывать эмоциональное истощение, проблемы со сном, недостаточную концентрацию внимания, депрессию, тревогу, суицидальные мысли, а также может оказывать влияние на способность выполнять задачи. Это может выражаться, в частности, в отсутствии концентрации, снижении мотивации и эффективности принимаемых решений, апатии, беспокойстве [30].

Ограничениями настоящего исследования являются относительно небольшой объём выборки, отсутствие сравнения с подразделениями в других регионах. Перспективные исследования на более крупных выборках, собранных в других подразделениях и других регионах, могли бы помочь нам глубже изучить эту тему. Также расширение спектра методов оценки функциональных состояний: добавление субъективных опросниковых методов, оценивающих не только работоспособность и стресс, но и утомление, психическое напряжение и дезадаптацию, – позволило бы расширить вариативность получаемых связей с психосоциальными факторами на работе.

По результатам проведённого исследования можно сформулировать следующие рекомендации и направле-

ния оптимизации служебной деятельности сотрудников вневедомственной охраны:

- обращая внимание на факторы риска, связанные с руководителем, рекомендуется провести их дополнительное обучение, направленное на развитие навыков мотивирования сотрудников и принципов эффективной обратной связи о выполненной работе;

- в связи с тем, что сотрудники отмечают частую необходимость работать в условиях монотонии, важно не только предоставлять возможность самостоятельного выбора времени для перерывов, но и разъяснять целесообразность частоты и длительности перерывов для восстановления своего состояния, улучшения концентрации внимания и собственной саморегуляции в течение смены;

- рекомендуется уделить внимание интересам сотрудникам в тех случаях, когда им необходимо внести корректировки в свой рабочий график. Проявление заинтересованности к подчинённым со стороны руководителя также благоприятно скажется на их функциональном состоянии и эффективности деятельности.

Предлагаемые мероприятия по оптимизации организации труда позволяют повысить профессиональную эффективность и безопасность труда за счёт повышения удовлетворённости трудом и возможностей восстановления внутренних резервов, которые затрачиваются работниками на выполнение профессиональных обязанностей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что в дневную смену наблюдается максимальное количество служащих с благоприятным уровнем функционального состояния (91,4 %); при этом большее количество сотрудников с неблагоприятным состоянием отмечается при работе в ночную смену (30,4 %) и в выходной день (33,3 %). Общая характеристика функциональных состояний сотрудников вневедомственной охраны позволяет сделать вывод о достаточно высоком уровне их психологической безопасности и адаптированности к служебной деятельности.

Таким образом, наша гипотеза о том, что общее функциональное состояние организма, стресс и работоспособность, измеренные объективными и проективными методами, дифференцировано взаимосвязаны с психосоциальными факторами на работе, подтвердилась. Установлено, что общее функциональное состояние организма, измеренное с помощью объективной аппаратурной психофизиологической методики ВКМ, имеет большую связь с личным отношением к служебной деятельности, а именно с ролевыми ожиданиями, мастерством сотрудника и его рабочими мотивами. Стресс и работоспособность, измеренные с помощью проективной психологической методики М. Люшера, имеют большую связь с факторами социальной поддержки, организационной культуры и требованиями к работе. Требования, предъявляемые к работе и не требующие дополнительного обучения, являются ресурсом для повышения ра-

ботоспособности и снижения вероятности возникновения стрессового состояния.

На общее функциональное состояние сотрудников вневедомственной охраны благоприятное влияние оказывают такие факторы, как чёткое понимание того, чего ждут от работника, удовлетворённость качеством выполняемых задач и работа в безопасной и здоровой физической рабочей среде; неблагоприятное – недостаточная способность поддерживать хорошие отношения с коллективом.

На работоспособность сотрудников вневедомственной охраны благоприятное влияние оказывают такие психосоциальные факторы, как необходимость физической выносливости, возможность использовать имеющиеся знания и навыки при решении трудовых задач; неблагоприятное – отсутствие готовности коллег при необходимости выслушать рабочие проблемы.

На развитие стрессовых состояний сотрудников вневедомственной охраны оказывают влияние следующие психосоциальные факторы: медленный темп работы; лёгкие рабочие задачи; недостаточная коммуникация с коллегами; освоение новых знаний. Противостоят развитию стресса у работников наличие трудных задач и поиск сложных решений.

Частотный анализ оценок психосоциальных факторов на работе сотрудников вневедомственной охраны позволил определить три группы факторов: 1) факторы напряжённости труда, характеризующие специфику условий и организацию служебной деятельности; 2) позитивные психосоциальные факторы или средовой ресурс, поддерживающие необходимый уровень функциональных состояний и благополучия сотрудников; 3) негативные психосоциальные факторы или факторы риска, способствующие развитию неблагоприятных функциональных состояний служащих.

К общим факторам труда сотрудников вневедомственной охраны относятся однотипные задачи, жёсткий график, повышенное внимание во время работы и большая точность движений. Общение с гражданами носит периодичный характер, а также при необходимости требуется физическая выносливость.

К позитивным психосоциальным факторам сотрудников относятся: наличие необходимой квалификации для решения профессиональных задач, чёткое представление о целях своей деятельности и понимание их значимости, позитивное оценивание своих профессиональных навыков, возможность получения необходимой поддержки от коллег, благоприятная и комфортная организационная культура.

К факторам риска сотрудников вневедомственной охраны относятся следующие: жёсткое регулирование рабочего времени; строго обозначенное время для перерыва; отсутствие внимания к мнению и интересам подчинённых со стороны вышестоящего руководства.

Соотнесение количества позитивных факторов к факторам риска в данных подразделениях Росгвардии позволяет нам сделать вывод о повышенной психологической безопасности работников.

Финансирование

Исследование финансировано проектом FSRU-2020-006 в рамках выполнения государственного задания на проведение фундаментальных научных исследований на тему «Оценка психологических рисков в профессиональной деятельности специалистов экстремально-профиля».

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шипулин А.В. Роль и место подразделений Росгвардии в государственной системе профилактики правонарушений в Российской Федерации. *Вестник Барнаульского юридического института МВД России*. 2019; 1(36): 101-103.
2. Катунин А.П. Теоретический анализ стресс-факторов профессиональной деятельности сотрудников пограничных органов. *Юридическая психология*. 2015; (4): 10-11.
3. Першина Е.А. Психологические особенности возникновения стрессовых состояний у сотрудников органов внутренних дел в условиях экстремальной ситуации. *Проблемы совершенствования учебного процесса по дисциплинам кафедры тактико-специальной и огневой подготовке: Материалы межвузовского научно-практического семинара (Иркутск, 29 ноября 2018 г.)*. Иркутск: Восточно-Сибирский институт Министерства внутренних дел Российской Федерации; 2018: 58-62.
4. Танаева З.Р., Казарцева Г.А. Факторы развития профессионального стресса сотрудников правоохранительных органов. *Правопорядок: история, теория, практика*. 2019; 2(21): 96-101.
5. Черникова Е.Г., Черникова С.С. Факторы развития профессионального стресса сотрудников правоохранительных органов. *Здравоохранение, образование и безопасность*. 2017; 1(9): 104-109.
6. Galanis P, Fragkou D, Katsoulas TA. Risk factors for stress among police officers: A systematic literature review. *Work*. 2021; (8): 1-18. doi: 10.3233/WOR-213455
7. Shane J. Organizational stressors and police performance. *Journal of Criminal Justice*. 2010; (38): 807-818. doi: 10.1016/j.jcrimjus.2010.05.008
8. White JW, Lawrence PS, Biggerstaff C, Grubb TD. Factors of stress among police officers. *Criminal Justice and Behavior*. 1985; (12): 111-128. doi: 10.1177/0093854885012001008
9. Чевгаева К.И. Стресс и его влияние на сотрудников ОВД при выполнении оперативно-служебных задач. *Юридические науки: актуальные вопросы теории и практики: Сборник статей III Международной научно-практической конференции (Пенза, 30 июля 2021 г.)*. Пенза: ООО «Наука и просвещение»; 2021: 69-71.
10. Gershon R, Barocas B, Canton A, Li X, Vlahov D. Mental, physical and behavioral outcomes associated with perceived work stress in police officers. *Crim Justice Behav*. 2009; 36: 275-289. doi: 10.1177/0093854808330015
11. Jonyo EO. Effects of occupational stress on work performance of police officers in Nakuru Police Division, Kenya. *IOSR Journal of Computer Engineering*. 2015; 17(6): 61-88.
12. Корехова М.В., Новикова И.А., Соловьев А.Г. Профилактика организационного стресса у сотрудников правоохранительных органов. *Экология человека*. 2015; 22(8): 3-9. doi: 10.33396/1728-0869-2015-8-3-9
13. Устюжанина А.А. Контроль стрессового состояния и формирование психофизической устойчивости в процессе оперативно-служебной деятельности сотрудников ОВД. *Физическая культура и спорт в структуре профессионального образования: ретроспектива, реальность и будущее: Материалы региональной конференции (Иркутск, 29 ноября 2019 г.)*. Иркутск: Восточно-Сибирский институт Министерства внутренних дел Российской Федерации; 2019: 210-212.
14. Щербакова Ю.А. Работоспособность сотрудника органов внутренних дел и методы её повышения. *E-Scio*. 2019; 10(37): 483-488.
15. Даутов Р.Р., Симонова Н.И. Психофизиологические особенности развития утомления у сотрудников органов внутренних дел в процессе труда. *Медицина труда и промышленная экология*. 2002; (5): 24-29.
16. Красилов О.В., Мананников С.В., Мальченков Е.В. Влияние утомления на работоспособность организма в профессиональной деятельности сотрудников ОВД. *Актуальные проблемы борьбы с преступлениями и иными правонарушениями*. 2017; 17(2): 153-155.
17. Гончарова Н.А., Попинако Е.А. Анализ доминирующих состояний личности в прогнозе адаптации к профессиональной деятельности сотрудников органов внутренних дел. *Прикладная юридическая психология*. 2020; 2(51): 41-50. doi: 10.33463/2072-8336.2020.2(51).041-050
18. Сложеникин А.П. *Социокультуральная адаптация сотрудников правоохранительных органов к служебной деятельности в Чеченской Республике*. Архангельск: СГМУ; 2007.
19. Цыреторов Ч.Ч. Работоспособность оперативного сотрудника правоохранительных органов: факторы и причины ее возможных кризисов. *Юридическая психология*. 2016; (2): 6-10.
20. Черменев Д.А. Повышение уровня работоспособности сотрудников правоохранительных органов в экстремальных условиях служебной деятельности. *Физическая культура и спорт в профессиональной деятельности: современные направления и образовательные технологии: Сборник материалов III Международной научно-практической конференции (Хабаровск, 22-24 октября 2015 г.)*. Хабаровск: Дальневосточный юридический институт Министерства внутренних дел Российской Федерации; 2015: 277-281.
21. Боев О.И. *Прогнозирование личностных, поведенческих и невротических расстройств у военнослужащих комбатантов*. Ставрополь: Изд. СтГМА; 2005.
22. Крук В.М., Колючкин С.Н. К проблеме контроля психофизиологического состояния функциональной надежности сотрудника органов внутренних дел. *Психопедагогика в правоохранительных органах*. 2016; 4(67): 11-17.
23. Neylan T. Attention, learning, and memory in post-traumatic stress disorder. *J Trauma Stress*. 2004; 17(1): 41-46. doi: 10.1023/B:JOTS.0000014675.75686.ee
24. Смирнов Б.А., Долгополова Е.В. *Психология деятельности в экстремальных ситуациях*. Харьков: Изд-во Гуманитарный Центр; 2007.
25. Усов Е.Г. К вопросу о профессиональной деформации сотрудников ОВД. *Подготовка кадров для силовых структур*:

современные направления и образовательные технологии: Материалы XVII Всероссийской научно-методической конференции (Иркутск, 1 марта 2012 г.). Иркутск: Восточно-Сибирский институт Министерства внутренних дел Российской Федерации; 2012: 363-366.

26. Гольцева Т.П. Особенности профессиональной деятельности сотрудников полиции, влияющие на возникновение негативных психических состояний. *Вестник Томского государственного педагогического университета*. 2012; 6(121): 226-232.

27. Корнеева Я.А., Симонова Н.Н., Дегтева Г.Н. Понятия «Психологического риска» в профессиональной деятельности работников вахтовых форм труда на примере нефтегазодобывающих предприятий в условиях Крайнего Севера. *Гигиена и санитария*. 2013; (4): 60-64.

28. Юдин В.Е., Климов В.В., Шкарупа О.Ф., Гузенко И.Е. Совершенствование системы медицинской реабилитации раненых и больных на позднем госпитальном этапе. *Военно-медицинский журнал*. 2012; (11): 4-12.

29. Кора Н.А. Влияние профессионального стресса на психическое здоровье сотрудников полиции. *Вестник Амурского государственного университета. Серия: Гуманитарные науки*. 2017; (76): 100-108.

30. Макурина А.П., Шпорт С.В., Московская М.С. Клинико-социальные последствия профессионального стресса. *Российский психиатрический журнал*. 2019; (2): 11-16. doi: 10.24411/1560-957X-2019-11915

31. Laschi A, Marchi E, Foderi C, Neri F. Identifying causes, dynamics and consequences of work accidents in forest operations in an alpine context. *Saf Sci*. 2016; (89): 28-35. doi: 10.1016/j.ssci.2016.05.017

32. Leka S, van Wassenhove W, Jain A. Is psychosocial risk prevention possible? Deconstructing common presumptions. *Saf Sci*. 2015; (71): 61-67. doi: 10.1016/j.ssci.2014.03.014

33. Тюлюбаева Т.О., Корнеева Я.А., Симонова Н.Н. Психологическая безопасность работников нефтегазодобывающих компаний различных профессиональных групп при вахтовой организации труда в условиях Арктики. *Вестник Костромского государственного университета*. 2017; (1): 80-85.

34. Korneeva YaA, Simonova NN, Shadrina NO. The psychosocial risk factors evaluation and management of shift personnel at forest harvesting. *Forests*. 2022; 13: 1447. doi: 10.3390/f13091447

35. Korneeva Ya, Simonova N. Job stress and working capacity among fly-in-fly-out workers in the oil and gas extraction industries in the Arctic. *Int J Environ Res Public Health*. 2020; (17): 77-59. doi: 10.3390/ijerph17217759

36. Christensen JaO, Knardahl S. Work and neck pain: A prospective study of psychological, social, and mechanical risk factors. *Pain*. 2010; 151(1): 162-173. doi: 10.1016/j.pain.2010.07.001

37. Cook R, Weisberg S. Applied regression including computing and graphics. *Technometrics*. 2000; 42(4). doi: 10.2307/1270953

38. Hinze A, Königa JL, Bowena J. Worker-fatigue contributing to workplace incidents in New Zealand Forestry. *J Saf Res*. 2021; (79): 304-320. doi: 10.1016/j.jsr.2021.09.012

39. Jankovsky M, Allman M, Allmanova Z. What are the occupational risks in forestry? Results of a long-term study in Slovakia. *Int J Environ Res Public Health*. 2019; 16(24): 49-31. doi: 10.3390/ijerph16244931

40. Eyayo F. Evaluation of occupational health hazards among oil industry workers: A case study of refinery workers. *IOSR J Environ Sci Toxicol Food Technol*. 2014; (8): 12.

41. Рустамов М.М., Хамракулова М.А., Эрматов Н.Ж. Условно труда работников нефтегазодобывающей промышленности. *Проблемы науки*. 2018; 8(32): 48-50.

42. Korneeva Ya. The adverse environmental impact factors analysis on fly-in-fly-out personnel at industrial enterprises. *Int J Environ Res Public Health*. 2022; 19(2): 997. doi: 10.3390/ijerph19020997

43. Burch JB, Yost MG, Johnson W, Allen E. Melatonin, sleep, and shift work adaptation. *J Occup Environ Med*. 2005; 47(9): 893-901. doi: 10.1097/01.jom.0000177336.21147.9f

44. Costa G. Shift work and health: Current problems and preventive actions. *Saf Health Work*. 2010; 1(2): 112-123. doi: 0.5491/SHAW.2010.1.2.112

45. Леонова А.Б., Чернышева О.Н. *Психология труда и организационная психология. Современное состояние и перспективы различия*. М.: Радекс; 2015.

46. Talavera-Velasco B, Luceño-Moreno L, Martín García J, Vázquez-Estévez D. Assessment of occupational stress in police. Confirmatory factor analysis of the original model. *PLoS One*. 2018; 13(10): e0205028. doi: 10.1371/journal.pone.0205028

47. Алдошин А.В. Основные средства восстановления работоспособности у сотрудников органов внутренних дел. *Наука-2020*. 2020; 4(40): 13-18.

48. Page K, Jacobs S. Surviving the shift: rural police stress and counseling services. *Psychol Serv*. 2011; (8): 12-22. doi: 10.1037/a0021796

49. Hartley TA, Burchfiel CM, Fekedulegn D, Andrew ME, Knox SS, Violanti JM. Associations between police officer stress and the metabolic syndrome. *Int J Emerg Ment Health*. 2011; (13): 243-256.

50. Платонов Ю.П. *Путь к лидерству*. СПб.: Речь; 2006.

REFERENCES

1. Shipulin AV. The role and place of the divisions National Guard of the Russian Federation in the state system of crime prevention in the Russian Federation. *Vestnik Barnaul'skogo yuridicheskogo instituta MVD Rossii*. 2019; 1(36): 101-103. (In Russ.).

2. Katunin AP. Theoretical analysis of professional stress factors of border authorities employees. *Juridical Psychology*. 2015; (4): 10-11. (In Russ.).

3. Pershina EA. Psychological features of the stress conditions occurrence among Internal Affairs Agency officers in an emergency situation. *Problemy sovershenstvovaniya uchebnogo protsesssa po distsiplinam kafedry taktiko-spetsial'noy i ognevoy podgotovke: Materialy mezhvuzovskogo nauchno-prakticheskogo seminara (Irkutsk, 29 noyabrya 2018 g.)*. Irkutsk; 2018: 58-62. (In Russ.).

4. Tanaeva ZR, Kazartseva G.A. Factors of development of professional stress of law enforcement officers. *Legal Order: History, Theory, Practice*. 2019; 2(21): 96-101. (In Russ.).

5. Chernikova EG, Chernikova SS. Development factors of occupational stress of law enforcement officers. *Healthcare, Education and Security*. 2017; 1(9): 104-109. (In Russ.).

6. Galanis P, Fragkou D, Katsoulas TA. Risk factors for stress among police officers: A systematic literature review. *Work*. 2021; (8): 1-18. doi: 10.3233/WOR-213455

7. Shane J. Organizational stressors and police performance. *Journal of Criminal Justice*. 2010; (38): 807-818. doi: 10.1016/j.jcrimjus.2010.05.008
8. White JW, Lawrence PS, Biggerstaff C, Grubb TD. Factors of stress among police officers. *Criminal Justice and Behavior*. 1985; (12): 111-128. doi: 10.1177/0093854885012001008
9. Chevgaeva KI. Stress and its impact on police officers in the performance of operational tasks. *Yuridicheskie nauki: aktual'nye voprosy teorii i praktiki: Sbornik statey III Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii (Penza, 30 iyulya 2021 g.)*. Penza; 2021: 69-71. (In Russ.).
10. Gershon R, Barocas B, Canton A, Li X, Vlahov D. Mental, physical and behavioral outcomes associated with perceived work stress in police officers. *Crim Justice Behav*. 2009; 36: 275-289. doi: 10.1177/0093854808330015
11. Jonyo EO. Effects of occupational stress on work performance of police officers in Nakuru Police Division, Kenya. *IOSR Journal of Computer Engineering*. 2015; 17(6): 61-88.
12. Korehova MV, Novikova IA, Soloviev AG. Prevention of organizational stress in law enforcement officials. *Human Ecology*. 2015; 22(8): 3-9. (In Russ.). doi: 10.33396/1728-0869-2015-8-3-9
13. Ustyuzhanina AA. Stress control and the formation of psychophysical stability in the process of operational activities of police officers. *Fizicheskaya kul'tura i sport v strukture professional'nogo obrazovaniya: retrospektiva, real'nost' i budushchee: Materialy regional'noy konferentsii (Irkutsk, 29 noyabrya 2019 g.)*. Irkutsk; 2019: 210-212. (In Russ.).
14. Scherbakova YuA. Efficiency of employees of internal affairs agencies and the methods for its increase. *E-Scio*. 2019; 10(37): 483-488. (In Russ.).
15. Dautov RR, Simonova NI. Psychophysiologic features of fatigue in police officers during the service. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 2002; (5): 24-29. (In Russ.).
16. Krasilov OV, Manannikov SV, Malchenkov EV. The effect of fatigue on the body's performance in the professional activities of police officers. *Aktual'nye problemy bor'by s prestupleniyami i inymi pravonarusheniyami*. 2017; 17(2): 153-155. (In Russ.).
17. Goncharova NA, Popinako EA. Analysis of dominant personality states in the forecast of adaptation to professional activity among employees of internal affairs bodies. *Applied Legal Psychology*. 2020; 2(51): 41-50. (In Russ.). doi: 10.33463/2072-8336.2020.2(51).041-050
18. Slozhenikin AP. *Socio-cultural adaptation of law enforcement officers to official activities in the Chechen Republic*. Arkhangelsk; 2007. (In Russ.).
19. Tsyretorov CC. Efficiency of an operative officer of law enforcement agencies: Factors and causes of its possible crises. *Juridical Psychology*. 2016; (2): 6-10. (In Russ.).
20. Chermenev DA. Increasing the level of efficiency of law enforcement officers in extreme conditions of official activity. *Fizicheskaya kul'tura i sport v professional'noy deyatel'nosti: sovremennye napravleniya i obrazovatel'nye tekhnologii: Sbornik materialov III Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii (Khabarovsk, 22-24 oktyabrya 2015 g.)*. Khabarovsk; 2015: 277-281. (In Russ.).
21. Boev OI. *Prediction of personality, behavioral and neurotic disorders in military combatants*. Stavropol; 2005. (In Russ.).
22. Kruk VM, Kolyuchkin SN. On the problem of controlling the psychophysiological state of the functional reliability of an employee of the internal affairs bodies. *Psychopedagogy in Law Enforcement*. 2016; 4(67): 11-17. (In Russ.).
23. Neylan T. Attention, learning, and memory in post-traumatic stress disorder. *J Trauma Stress*. 2004; 17(1): 41-46. doi: 10.1023/B:JOTS.0000014675.75686.ee
24. Smirnov BA, Dolgoplova EV. *Psychology of activity in extreme situations*. Kharkov; 2007. (In Russ.).
25. Usov EG. On the issue of professional deformation of police officers. *Podgotovka kadrov dlya silovykh struktur: sovremennye napravleniya i obrazovatel'nye tekhnologii: Materialy XVII Vserossiyskoy nauchno-metodicheskoy konferentsii (Irkutsk, 1 marta 2012 g.)*. Irkutsk; 2012: 363-366. (In Russ.).
26. Goltseva TP. Peculiarities of the professional activity of police officers with impact on development of negative mental condition. *Tomsk State Pedagogical University Bulletin*. 2012; 6(121): 226-232. (In Russ.).
27. Korneeva YaA, Simonova NN, Degteva GN. The concept of "psychological risk" in the professional activity of employees in watch-based method of labor organization on the example of oil and gas companies in the Far North. *Hygiene and Sanitation*. 2013; (4): 60-64. (In Russ.).
28. Yudin VE, Klimko VV, Shkarupa OF, Guzenko IE. Main ways of improvements of the system of medical rehabilitation of military servicemen after cardiovascular surgery. *Voenno-meditsinskij zhurnal*. 2012; (11): 4-12. (In Russ.).
29. Kora NA. Influence of professional stress on the mental health of police officers. *Vestnik Amurskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Gumanitarnye nauki*. 2017; (76): 100-108. (In Russ.).
30. Makurina AP, Shport SV, Moskovskaya MS. Clinical and social consequences of occupational stress. *Russian Journal of Psychiatry*. 2019; (2): 11-16. (In Russ.). doi: 10.24411/1560-957X-2019-11915
31. Laschi A, Marchi E, Foderi C, Neri F. Identifying causes, dynamics and consequences of work accidents in forest operations in an alpine context. *Saf Sci*. 2016; (89): 28-35. doi: 10.1016/j.ssci.2016.05.017
32. Leka S, van Wassenhove W, Jain A. Is psychosocial risk prevention possible? Deconstructing common presumptions. *Saf Sci*. 2015; (71): 61-67. doi: 10.1016/j.ssci.2014.03.014
33. Tyulyubaeva TO, Korneeva YaA, Simonova NN. Psychological safety of oil and gas workers of different professional groups at the shift work organisation in the Arctic. *Vestnik of Kostroma State University*. 2017; (1): 80-85. (In Russ.).
34. Korneeva YaA, Simonova NN, Shadrina NO. The psychosocial risk factors evaluation and management of shift personnel at forest harvesting. *Forests*. 2022; 13: 1447. doi: 10.3390/f13091447
35. Korneeva Ya, Simonova N. Job stress and working capacity among fly-in-fly-out workers in the oil and gas extraction industries in the Arctic. *Int J Environ Res Public Health*. 2020; (17): 77-59. doi: 10.3390/ijerph17217759
36. Christensen JaO, Knardahl S. Work and neck pain: A prospective study of psychological, social, and mechanical risk factors. *Pain*. 2010; 151(1): 162-173. doi: 10.1016/j.pain.2010.07.001
37. Cook R, Weisberg S. Applied regression including computing and graphics. *Technometrics*. 2000; 42(4). doi: 10.2307/1270953
38. Hinzea A, Königa JL, Bowena J. Worker-fatigue contributing to workplace incidents in New Zealand Forestry. *J Saf Res*. 2021; (79): 304-320. doi: 10.1016/j.jsr.2021.09.012
39. Jankovsky M, Allman M, Allmanova Z. What are the occupational risks in forestry? Results of a long-term study in Slovakia.

Int J Environ Res Public Health. 2019; 16(24): 49-31. doi: 10.3390/ijerph16244931

40. Eyayo F. Evaluation of occupational health hazards among oil industry workers: A case study of refinery workers. *IOSR J Environ Sci Toxicol Food Technol*. 2014; (8): 12.

41. Rustamov MM, Khamrakulova MA, Ermatov NZh. Working conditions of workers in the oil and gas industry. *Problemy nauki*. 2018; 8(32): 48-50.

42. Korneeva Ya. The adverse environmental impact factors analysis on fly-in-fly-out personnel at industrial enterprises. *Int J Environ Res Public Health*. 2022; 19(2): 997. doi: 10.3390/ijerph19020997

43. Burch JB, Yost MG, Johnson W, Allen E. Melatonin, sleep, and shift work adaptation. *J Occup Environ Med*. 2005; 47(9): 893-901. doi: 10.1097/01.jom.0000177336.21147.9f

44. Costa G. Shift work and health: Current problems and preventive actions. *Saf Health Work*. 2010; 1(2): 112-123. doi: 0.5491/SHAW.2010.1.2.112

45. Leonova AB, Chernysheva ON. *Psychology of work and organizational psychology. Current state and perspectives of difference*. Moscow; 2015. (In Russ.).

46. Talavera-Velasco B, Luceño-Moreno L, Martín García J, Vázquez-Estévez D. Assessment of occupational stress in police. Confirmatory factor analysis of the original model. *PLoS One*. 2018; 13(10): e0205028. doi: 10.1371/journal.pone.0205028

47. Aldoshin AV. The main means of restoring the working capacity of Internal Affairs Agencies officers. *Nauka-2020*. 2020; 4(40): 13-18. (In Russ.).

48. Page K, Jacobs S. Surviving the shift: rural police stress and counseling services. *Psychol Serv*. 2011; (8): 12-22. doi: 10.1037/a0021796

49. Hartley TA, Burchfiel CM, Fekedulegn D, Andrew ME, Knox SS, Violanti JM. Associations between police officer stress and the metabolic syndrome. *Int J Emerg Ment Health*. 2011; (13): 243-256.

50. Platonov YuP. *Path to leadership*. Saint Petersburg; 2006. (In Russ.).

Сведения об авторах

Корнеева Анастасия Валерьевна – эксперт отдела целевых научных программ и проектов научно-исследовательского управления, ФГАОУ ВО «Северный (Арктический) федеральный университет им. М.В. Ломоносова», e-mail: arh.a.korneeva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7146-0800>

Корнеева Яна Александровна – кандидат психологических наук, доцент, доцент кафедры психологии, ФГАОУ ВО «Северный (Арктический) федеральный университет им. М.В. Ломоносова», e-mail: ya.korneeva@narfu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9118-9539>

Information about the authors

Anastasiya V. Korneeva – Expert at the Department of Target-Oriented Scientific Programs and Projects, Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov, e-mail: arh.a.korneeva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7146-0800>

Yana A. Korneeva – Cand. Sc. (Psychol.), Docent, Associate Professor at the Department of Psychology, Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov, e-mail: ya.korneeva@narfu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9118-9539>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ PHARMACOLOGY AND PHARMACY

ПРОДУКЦИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА НЕЙТРОФИЛАМИ И МАКРОФАГАМИ МЫШЕЙ ГИБРИДОВ F1 (C57Bl6xCBA) В ОТВЕТ НА СТИМУЛЯЦИЮ КУКУРБИТ(Н)УРИЛАМИ (n = 6, 7, 8)

Актанова А.А.¹,
Пашкина Е.А.¹,
Боева О.С.²,
Феофанова Н.А.¹,
Козлов В.А.¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14, Россия)

² ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Пашкина Екатерина Александровна,
e-mail: pashkina.e.a@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Благодаря очень маленьким размерам наноматериалы, в частности кукурбитурилы, имеют уникальные физические и химические свойства, которые находят применение в медицине. Однако вопросы токсичности кукурбитурилов не до конца изучены, в частности нас интересует иммунологическая безопасность их применения. Одним из механизмов нанотоксичности является образование активных форм кислорода (АФК) макрофагами и нейтрофилами. Гиперпродукция АФК может повлечь за собой окислительный стресс и дальнейшее повреждение ДНК клеток с потерей физиологической функции и развитием патологии.

Цель. Оценка влияния кукурбит[н]урилов (n = 6, 7, 8) на продукцию активных форм кислорода макрофагами и нейтрофилами мышей.

Материалы и методы. В работе были использованы мыши гибриды F1 (CBAxC57Bl/6) в возрасте 2 мес. (n = 11). Оценка продукции супероксидного радикала перитонеальными нейтрофилами и макрофагами мыши проводилась спектрофотометрическим методом определения восстановления р-нитросинего тетразолия (НСТ) до формазана.

Результаты. Было показано, что СВ[6] и СВ[7] в концентрациях 0,5 и 0,3 мМ не оказывают ингибирующего эффекта на синтез АФК, а, наоборот, статистически значимо увеличивают продукцию АФК макрофагами. Кроме того, СВ[6] 0,3 мМ повышает уровень АФК в нейтрофилах.

Заключение. Кукурбитурилы в зависимости от используемой концентрации (0,3 мМ и выше) могут приводить к повышению продукции АФК в иммунокомпетентных клетках мышей.

Ключевые слова: макрофаги, нейтрофилы, наночастицы, кукурбитурилы, АФК, активные формы кислорода

Статья поступила: 03.06.2022

Статья принята: 07.10.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Актанова А.А., Пашкина Е.А., Боева О.С., Феофанова Н.А., Козлов В.А. Продукция активных форм кислорода нейтрофилами и макрофагами мышей гибридов F1 (C57Bl6xCBA) в ответ на стимуляцию кукурбит(н)урилами (n = 6, 7, 8). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 259-265. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.26

PRODUCTION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES BY NEUTROPHILS AND MACROPHAGES OF F1 HYBRID MICE (C57Bl6xCBA) IN RESPONSE TO STIMULATION WITH CUCURBIT(n)URILS (n = 6, 7, 8)

Aktanova A.A.¹,
Pashkina E.A.¹,
Boeva O.S.²,
Feofanova N.A.¹,
Kozlov V.A.¹

¹ Scientific Research Institute
of Fundamental and Clinical Immunology
(Yadrintsevskaya str. 14, Novosibirsk
630099, Russian Federation)

² Novosibirsk National Research State
University (Pirogova str. 2, Novosibirsk
630090, Russian Federation)

Corresponding author:
Ekaterina A. Pashkina,
e-mail: pashkina.e.a@yandex.ru

ABSTRACT

Background. Due to their very small size, nanomaterials, in particular cucurbiturils, have unique physical and chemical properties that find their application in medicine. However, the toxicity of cucurbiturils is not fully understood; in particular, we are interested in the immunological safety of their use. One of the mechanisms of nanotoxicity is the formation of reactive oxygen species (ROS) by macrophages and neutrophils. Hyperproduction of ROS can lead to oxidative stress and further damage to cell DNA with loss of physiological function and development of pathology.

The aim. Evaluation of the effect of cucurbit[n]urils (n = 6, 7, 8) on the production of reactive oxygen species by mice macrophages and neutrophils.

Materials and methods. F1 hybrid mice (CBAx57Bl/6) aged 2 months (n = 11) were used in the work. Evaluation of superoxide radical production by peritoneal mouse neutrophils and macrophages was carried out by spectrophotometric method for determining the reduction of p-nitroblue tetrazolium (NBT) to formazan.

Results. It was shown that CB[6] and CB[7] at concentrations of 0.5 and 0.3 mM do not have an inhibitory effect on ROS synthesis, but, on the contrary, significantly increase ROS production by macrophages. In addition, CB[6] 0.3 mM increases the level of ROS in neutrophils.

Conclusion. Cucurbiturils can lead to an increase in the production of ROS in immunocompetent cells, depending on the concentration used (0.3 mM and higher).

Key words: macrophages, neutrophils, nanoparticles, cucurbiturils, ROS, reactive oxygen species

Received: 03.06.2022
Accepted: 07.10.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Aktanova A.A., Pashkina E.A., Boeva O.S., Feofanova N.A., Kozlov V.A. Production of reactive oxygen species by neutrophils and macrophages of F1 hybrid mice (C57Bl6xCBA) in response to stimulation with cucurbit(n)urils (n = 6, 7, 8). *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 259-265. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.26

ВВЕДЕНИЕ

Активные формы кислорода (АФК) легко вступают в химические реакции с макромолекулами, такими как липиды, белки, углеводы и нуклеиновые кислоты, вызывая их окислительную модификацию, что приводит к потере их функции [1].

Некоторые исследователи связывают токсичность наночастиц с генерацией АФК [2, 3]. Так ли это на самом деле? Наночастицы в биологических целях создаются и применяются, в основном, для использования в качестве высокоактивных антибактериальных или противоопухолевых агентов. В случае с неорганическими наночастицами (наночастицы на основе металлов) их токсичность связывают с некрозом, апоптозом, аутофагией, фрагментацией, ингибированием синтеза ДНК вплоть до мутагенеза, повреждением или полным разрушением клеточных мембран, нарушением их проницаемости, внутриклеточным окислением, изменением мембранных потенциалов и нарушением процессов переноса электронов, ингибированием ферментов или подавлением их активности (например, АТФазы), а также остановкой клеточного цикла и митоза, ингибированием пролиферации клеток [4]. С органическими полимерами всё гораздо сложнее. Например, известные дендримеры полиамидамина (poly(amidoamine) – PAMAM) вызывают повышенную продукцию внутриклеточных активных форм кислорода (АФК), генотоксичность и апоптоз при воздействии *in vitro* дендримерами поколений G4, G5 и G6. Наблюдается зависимость от поколения дендримеров PAMAM усиление продукции АФК. Токсические проявления хорошо коррелируют с химией поверхности наночастиц, в частности, с количеством поверхностных аминогрупп в поколениях PAMAM [5]. Исследования с фуллереном Бакминстера (C(60)) и фуллеренолом показали, что условия окружающей среды, включая воздействие света и концентрацию кислорода, могут влиять на образование токсичных АФК при воздействии фуллеренами [6]. Однако карбоксилированный C60 известен как наноматериал с мощной биоантиоксидантной способностью, которая может предотвратить дисфункцию тканей, вызванную окислительным стрессом. Некоторые исследования показали, что в различных патологических моделях *in vivo* и *in vitro* разнонаправленные положительные биологические эффекты карбоксилированного C60 опосредуются его антирадикальной активностью [7]. Касательно кукурбитурилов (CB) сообщалось о комплексообразовании дифенилениодония – биоактивного иона галония – с CB[7] и CB[8], при этом комплексообразование изменяло ингибирующую активность дифенилениодония по отношению к продукции АФК [8]. Следующий гибрид – супрамолекулярная нанокапсула азобензола (Азо) и метилвиологена (MV) на основе CB[8] может имитировать систему защиты внутриклеточных ферментативных АФК, то есть выступать в качестве антиоксиданта [9]. Накопившихся данных по органическим наночастицам и их влиянии на продукцию АФК на сегодняшний день недостаточно, поскольку существуют различные модификации наночастиц. Один и тот же полимер,

но с различной «начинкой» в виде иона металла или частицы лекарственного средства может либо вызывать продукцию АФК, либо её ингибировать, а также выступать в роли антиоксиданта. Следовательно, существуют критические детерминанты, которые могут повлиять на генерацию АФК. Эти критические детерминанты включают: размер, форму, площадь поверхности частицы, поверхностные положительные заряды, поверхностные группы, растворение частиц, высвобождение иона металла из наночастиц на основе металлов либо оксидов металлов, активацию ультрафиолетовым светом, агрегацию, режим взаимодействия с клетками, влияние на pH среды, а также иммунологическое окружение, которое по-особенному взаимодействует со сложными органическими наночастицами, такими как кукурбитурилы [10].

Широкому терапевтическому применению наночастиц препятствует эффективно работающая иммунная система организма. При введении в организм кукурбитурилов клетки иммунной системы способны поглощать их. В целях иммунологической защиты макрофаги и нейтрофилы используют респираторный взрыв в ответ на чужеродное проникновение в макроорганизм химических соединений, хотя так же активные формы кислорода принимают участие в передаче сигналов клетке [11, 12, 13]. Показано, что комплексы CB[7] с молекулами красителя (флуорофоры, конъюгированные со спермидином и адамантиламином) могут проникать через клеточные мембраны клеток макрофагов мыши; в течение 20 минут 86 % клеток включили комплекс [14]. Соответственно, CB теоретически могут активировать макрофаги и могут оказывать влияние на продукцию АФК.

Наночастицы усиливают экспрессию провоспалительных цитокинов и активируют макрофаги, что увеличивает образование АФК [3, 15].

Наночастицы широко используются в качестве систем доставки лекарственных средств, поскольку наночастицы могут не только увеличивать биосовместимость и растворимость лекарств, но также увеличивать время их циркуляции в крови [16]. Образование комплексов кукурбитурилов с лекарственными средствами предлагается применять для достижения следующих преимуществ [17]: увеличение стабильности лекарственного средства и снижение коэффициента деградации *in vivo*; увеличение растворимости; контроль клиренса; изменение способа приёма (с парентерального на пероральный); маскировка вкуса. Кукурбитурилы и комплексы на их основе обладают широким спектром иммуномодуляторной и противоопухолевой активностей [18–21].

Целью данной работы является оценка влияния кукурбит[*n*]урилов (*n* = 6, 7, 8) на продукцию активных форм кислорода макрофагами и нейтрофилами мышей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были использованы мыши гибриды F1 (CBA×C57Bl/6) в возрасте 2 мес. (*n* = 11). Животных содержали в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите животных, использу-

емых для экспериментальных или иных научных целей [22]. Макрофаги и нейтрофилы перитонеальной полости, получаемые для проведения данного исследования, выделяли методом вымывания с помощью питательной среды из брюшной полости животных после умерщвления после декапитации. Для привлечения в брюшную полость нейтрофилов и макрофагов животным проводилась инъекция в брюшную полость 1 мл 10%-го стерильного пептона за 3 часа до эксперимента в случае выделения нейтрофилов, и за 72 часа для получения макрофагов. После выделения клетки разделяли на прилипающую и неприлипающую фракции для сокращения примеси иных клеточных популяций. Культивирование полученных клеточных культур проводили в присутствии CB[n], где (n = 6, 7, 8) в концентрациях 0,1, 0,3 и 0,5 мМ – CB[6,7] и 0,01 мМ – CB[8], в качестве контроля использовались клетки, активированные зимозаном, а также клетки без стимуляции наночастицами либо зимозаном. Уровень продукции супероксидного радикала перитонеальными нейтрофилами и макрофагами мыши оценивался с помощью восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) до формазана [23, 24]. К монослою клеток добавляли 0,5 мл раствора фосфатно-солевого буфера с 0,1 % глюкозы с добавлением 2 мг/мл зимозана, предварительно опсонизированного сывороткой мышей, и 1 мг/мл НСТ. Планшет с пробами термостатировали при 37 °C в течение 30 минут, гранулы формазана растворяли в 0,5 мл диметилсульфоксида. Далее детектировали оптическую плотность в лунках планшета на мультимодальном планшетном ридере («Berthold Technologies», США) при длине волны 540 нм. Результаты выражали в условных единицах оптической плотности.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя медиану (Me), 25-й и 75-й перцентиль (LQ, HQ), и представляли в виде Me (LQ, HQ). Оценку различий между клетками, культивированными в различных условиях, проводили при помощи непараметрического критерия Вилкоксона, статистически значимыми считали результаты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные (рис. 1) указывают на то, что CB[6] и CB[7] в концентрациях 0,5 и 0,3 мМ не оказывают ингибирующего эффекта на синтез АФК, а, наоборот, статистически значимо увеличивают продукцию АФК макрофагами. Так же CB[6] 0,3 мМ повышает уровень АФК в нейтрофилах (рис. 2). CB[8] не оказывал влияния на продукцию АФК ни нейтрофилами, ни макрофагами.

В случае нейтрофилов по уровню генерации АФК и способности к инактивации они дифференцированы на два функционально неравнозначных класса. Первые взаимодействуют с чужеродным веществом и инактивируются, активно генерируя АФК, а вторые не инактивируются и в меньшей степени производят АФК. Очевидно, *in vivo* клетки первого класса являются фагоцитами, а клетки второго выполняют иные функции [25]. Взаимодействие кукурбитурилов с нейтрофилами не изучено, поэтому, вероятно, они лучше взаимодействуют с кукурбит[6]урилом в определенной концентрации. В случае макрофагов, поскольку они яв-

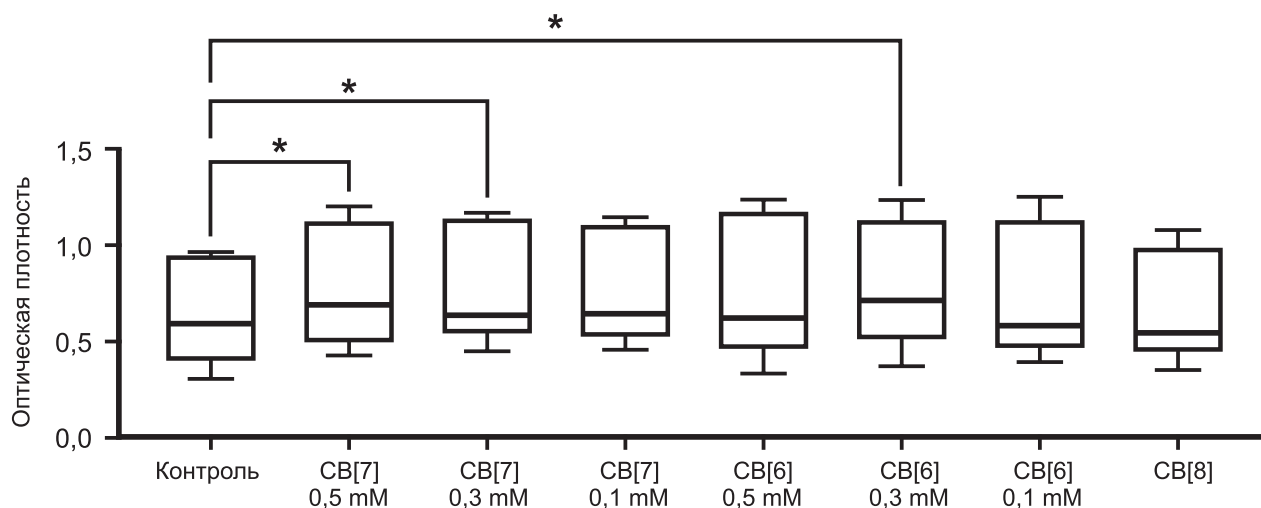


РИС. 1.

Влияние CB[6, 7, 8] на продукцию активных форм кислорода макрофагами мышей-гибридов F1(CBA×C57Bl/6). Данные представлены в виде диаграмм размаха, где верхний и нижний квартили (25 % и 75 %) – верхняя и нижняя границы прямоугольника соответственно; горизонтальная линия – медиана; верхние и нижние границы фигуры – максимальное и минимальное значения соответственно; * – статистически значимые различия по сравнению с контролем ($p < 0,05$)

FIG. 1.

Effect of CB[6, 7, 8] on production of reactive oxygen species by macrophages of F1(CBA×C57Bl/6) hybrid mice. Data are presented as box-and-whisker plots, with boxes extending from the 25th to the 75th percentile, with a horizontal line at the median, while the whiskers extend to the lowest and highest data points; * – difference is significant ($p < 0.05$) vs. control

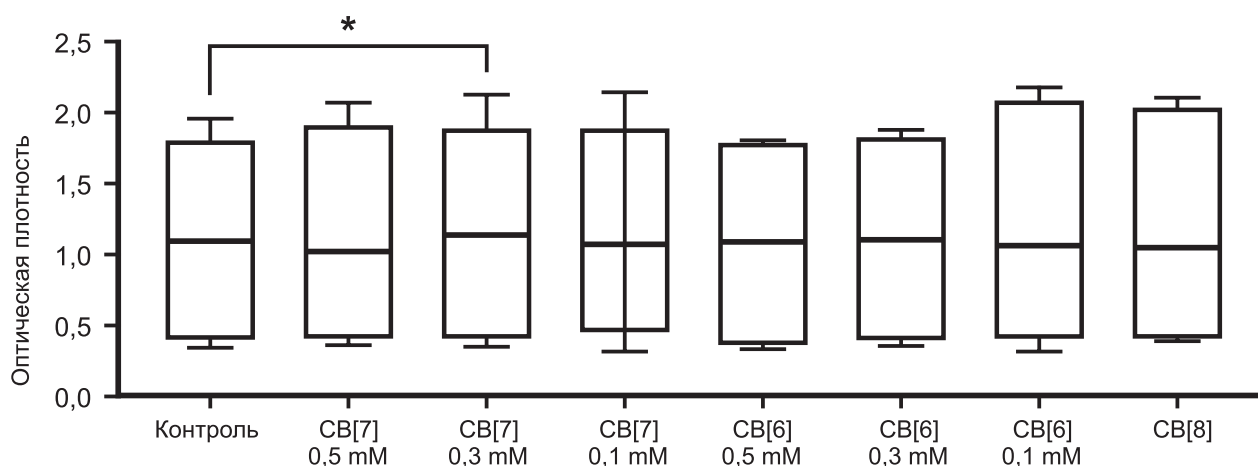


РИС. 2.

Влияние CB[6, 7, 8] на продукцию активных форм кислорода нейтрофилами мышей-гибридов F1(CBAx57BL/6). Данные представлены в виде диаграмм размаха, где верхний и нижний квартили (25 % и 75 %) – верхняя и нижняя границы прямоугольника соответственно; горизонтальная линия – медиана; верхние и нижние границы фигуры – максимальное и минимальное значения соответственно; * – статистически значимые различия по сравнению с контролем ($p < 0,05$)

FIG. 2.

Effect of CB[6, 7, 8] on production of reactive oxygen species by neutrophils of F1(CBAx57BL/6) hybrid mice. Data are presented as box-and-whisker plots, with boxes extending from the 25th to the 75th percentile, with a horizontal line at the median, while the whiskers extend to the lowest and highest data points; * – difference is significant ($p < 0.05$) vs. control

ляются первой линией защиты от чужеродного воздействия, вероятно, при встрече макрофага с кукурбитурилом происходит более тесное взаимодействие, также и спектр молекул для взаимодействия у макрофагов значительно шире.

Предположительно, влияние кукурбитурилов зависит от дозировки и молекулы, которая находится в полости кукурбитурилов. Так, включение молекулы ресвератрола (и подобных соединений) в полость кукурбитурила позволяет данному комплексу улавливать радикалы и выступать в качестве антиоксиданта [26]. Таким образом, кукурбитурилы способны быть внешними модуляторами активных форм кислорода.

ВЫВОД

Влияние кукурбитурилов на нейтрофилы и макрофаги мышей зависит от дозировки, чем меньше концентрация кукурбитурилов, тем ниже уровень продукции активных форм кислорода. Следовательно, в низких концентрациях (0,1 мМ и ниже) кукурбитурилы при использовании их в качестве биомедицинского агента не будут приводить к усилению продукции АФК.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Выполнено при финансовой поддержке Российского Научного Фонда в рамках научного проекта РНФ № 19-15-00192.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bartosz G. Reactive oxygen species: Destroyers or messengers? *Biochem Pharmacol.* 2009; 77(8): 1303-1315. doi: 10.1016/j.bcp.2008.11.009
2. Manke A, Wang L, Rojanasakul Y. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. *BioMed Res Int.* 2013; 2013: 942916. doi: 10.1155/2013/942916
3. Nel A, Xia T, Madler L, Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science.* 2006; 311(5761): 622-627. doi: 10.1126/science.1114397
4. Yu Z, Li Q, Wang J, Yu Y, Wang Y, Zhou Q, et al. Reactive oxygen species-related nanoparticle toxicity in the biomedical field. *Nanoscale Res Lett.* 2020; 15(1): 115. doi: 10.1186/s11671-020-03344-7
5. Naha PC, Byrne HJ. Generation of intracellular reactive oxygen species and genotoxicity effect to exposure of nano-sized polyamidoamine (PAMAM) dendrimers in PLHC-1 cells in vitro. *Aquat Toxicol.* 2013; 132-133: 61-72. doi: 10.1016/j.aquatox.2013.01.020
6. Kong L, Zepp RG. Production and consumption of reactive oxygen species by fullerenes. *Environ Toxicol Chem.* 2011; 31(1): 136-143. doi: 10.1002/etc.711
7. Li X, Wang L, Liu H, Fu J, Zhen L, Li Y, et al. C60 fullerenes suppress reactive oxygen species toxicity damage in boar sperm. *Nanomicro Lett.* 2019; 11(1): 104. doi: 10.1007/s40820-019-0334-5
8. Das D, Assaf KI, Nau WM. Applications of cucurbiturils in medicinal chemistry and chemical biology. *Front Chem.* 2019; 7: 619. doi: 10.3389/fchem.2019.00619
9. Liu S, Tian R, Xu J, Wang L, Sun J, Jiang X, et al. Cucurbit[8]uril-based supramolecular nanocapsules with a multienzyme-cascade antioxidative effect. *Chem Commun (Camb).* 2019; 55(92): 13820-13823. doi: 10.1039/c9cc07085k

10. Fu PP, Xia Q, Hwang HM, Ray PC, Yu H. Mechanisms of nanotoxicity: Generation of reactive oxygen species. *J Food Drug Anal.* 2014; 22(1): 64-75. doi: 10.1016/j.jfda.2014.01.005

11. Forman HJ, Torres M. Redox signaling in macrophages. *Mol Aspects Med.* 2001; 22(4-5): 189-216. doi: 10.1016/s0098-2997(01)00010-3

12. Sena LA, Chandel NS. Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. *Mol Cell.* 2012; 48(2): 158-167. doi: 10.1016/j.molcel.2012.09.025

13. Shadel GS, Horvath TL. Mitochondrial ROS signaling in organismal homeostasis. *Cell.* 2015; 163(3): 560-569. doi: 10.1016/j.cell.2015.10.001

14. Hettiarachchi G, Nguyen D, Wu J, Lucas D, Ma D, Isaacs L, et al. Toxicology and drug delivery by cucurbit[n]uril type molecular containers. *PLoS One.* 2010; 5(5): e10514. doi: 10.1371/journal.pone.0010514

15. Gojova A, Guo B, Kota RS, Rutledge JC, Kennedy IM, Barakat AI. Induction of inflammation in vascular endothelial cells by metal oxide nanoparticles: Effect of particle composition. *Environ Health Perspect.* 2007; 115(3): 403-409. doi: 10.1289/ehp.8497

16. Yang S, Gao H. Nanoparticles for modulating tumor microenvironment to improve drug delivery and tumor therapy. *Pharmacol Res.* 2017; 126: 97-108. doi: 10.1016/j.phrs.2017.05.004

17. Das D, Assaf KI, Nau WM. Applications of cucurbiturils in medicinal chemistry and chemical biology. *Front Chem.* 2019; 7: 619. doi: 10.3389/fchem.2019.00619

18. Пашкина Е.А., Гришина Л.В., Любимов Г.Ю., Козлов В.А. Влияние комплекса тафтина с кукурбит[7]урилом на гуморальный и клеточный иммунный ответ *in vivo*. *Российский иммунологический журнал.* 2014; 8(3(17)): 367-369.

19. Kovalenko EA, Pashkina EA, Kanazhevskaya LY, Masliy AN, Kozlov VA. Chemical and biological properties of a supramolecular complex of tuftsin and cucurbit[7]uril. *Int Immunopharmacol.* 2017; 47: 199-205. doi: 10.1016/j.intimp.2017.03.032

20. Pashkina E, Aktanova A, Blinova E, Mirzaeva I, Kovalenko E, Knauer N, et al. Evaluation of the immunosafety of cucurbit[n]uril on peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Molecules.* 2020; 25(15): 3388. doi: 10.3390/molecules25153388

21. Pashkina E, Aktanova A, Mirzaeva I, Kovalenko E, Andrienko I, Knauer N, et al. The effect of cucurbit[7]uril on the antitumor and immunomodulating properties of oxaliplatin and carboplatin. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(14): 7337. doi: 10.3390/ijms22147337

22. Кополадзе Р.А. Регламентация экспериментов на животных – этика, законодательство, альтернативы. *Успехи физиологических наук.* 1998; 29(4): 74-92.

23. Любимов Г.Ю., Зенков Н.К., Вольский Н.Н. Хемилюминесценция перитонеальных макрофагов при действии макрофагаактивирующего фактора. *Иммунология.* 1992; 13(1): 40-43.

24. Amano D, Kagasaki Y, Usui T, Yamamoto S, Hayaishi O. Inhibitory effects of superoxide dismutases and various other proteins on the nitroblue tetrazolium reduction by phagocytizing guinea pig polymorphonuclear leukocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 1975; 66(1): 272-279. doi: 10.1016/s0006-291x(75)80324-x

25. Герасимов И.Г., Игнатов Д.Ю. Функциональная неравнозначность нейтрофилов крови человека: генерация активных форм человека. *Цитология.* 2001; 43(5): 432-436.

26. Lee JS, Song IH, Shinde PB, Nimse SB. Macrocycles and supramolecules as antioxidants: Excellent scaffolds for development

of potential therapeutic agents. *Antioxidants (Basel).* 2020; 9(9): 859. doi: 10.3390/antiox9090859

REFERENCES

1. Bartosz G. Reactive oxygen species: Destroyers or messengers? *Biochem Pharmacol.* 2009; 77(8): 1303-1315. doi: 10.1016/j.bcp.2008.11.009

2. Manke A, Wang L, Rojanasakul Y. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. *BioMed Res Int.* 2013; 2013: 942916. doi: 10.1155/2013/942916

3. Nel A, Xia T, Madler L, Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science.* 2006; 311(5761): 622-627. doi: 10.1126/science.1114397

4. Yu Z, Li Q, Wang J, Yu Y, Wang Y, Zhou Q, et al. Reactive oxygen species-related nanoparticle toxicity in the biomedical field. *Nanoscale Res Lett.* 2020; 15(1): 115. doi: 10.1186/s11671-020-03344-7

5. Naha PC, Byrne HJ. Generation of intracellular reactive oxygen species and genotoxicity effect to exposure of nanosized poly-amidoamine (PAMAM) dendrimers in PLHC-1 cells in vitro. *Aquat Toxicol.* 2013; 132-133: 61-72. doi: 10.1016/j.aquatox.2013.01.020

6. Kong L, Zepp RG. Production and consumption of reactive oxygen species by fullerenes. *Environ Toxicol Chem.* 2011; 31(1): 136-143. doi: 10.1002/etc.711

7. Li X, Wang L, Liu H, Fu J, Zhen L, Li Y, et al. C60 fullerenes suppress reactive oxygen species toxicity damage in boar sperm. *Nanomicro Lett.* 2019; 11(1): 104. doi: 10.1007/s40820-019-0334-5

8. Das D, Assaf KI, Nau WM. Applications of cucurbiturils in medicinal chemistry and chemical biology. *Front Chem.* 2019; 7: 619. doi: 10.3389/fchem.2019.00619

9. Liu S, Tian R, Xu J, Wang L, Sun J, Jiang X, et al. Cucurbit[8]uril-based supramolecular nanocapsules with a multienzyme-cascade antioxidative effect. *Chem Commun (Camb).* 2019; 55(92): 13820-13823. doi: 10.1039/c9cc07085k

10. Fu PP, Xia Q, Hwang HM, Ray PC, Yu H. Mechanisms of nanotoxicity: Generation of reactive oxygen species. *J Food Drug Anal.* 2014; 22(1): 64-75. doi: 10.1016/j.jfda.2014.01.005

11. Forman HJ, Torres M. Redox signaling in macrophages. *Mol Aspects Med.* 2001; 22(4-5): 189-216. doi: 10.1016/s0098-2997(01)00010-3

12. Sena LA, Chandel NS. Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. *Mol Cell.* 2012; 48(2): 158-167. doi: 10.1016/j.molcel.2012.09.025

13. Shadel GS, Horvath TL. Mitochondrial ROS signaling in organismal homeostasis. *Cell.* 2015; 163(3): 560-569. doi: 10.1016/j.cell.2015.10.001

14. Hettiarachchi G, Nguyen D, Wu J, Lucas D, Ma D, Isaacs L, et al. Toxicology and drug delivery by cucurbit[n]uril type molecular containers. *PLoS One.* 2010; 5(5): e10514. doi: 10.1371/journal.pone.0010514

15. Gojova A, Guo B, Kota RS, Rutledge JC, Kennedy IM, Barakat AI. Induction of inflammation in vascular endothelial cells by metal oxide nanoparticles: Effect of particle composition. *Environ Health Perspect.* 2007; 115(3): 403-409. doi: 10.1289/ehp.8497

16. Yang S, Gao H. Nanoparticles for modulating tumor microenvironment to improve drug delivery and tumor therapy. *Pharmacol Res.* 2017; 126: 97-108. doi: 10.1016/j.phrs.2017.05.004

17. Das D, Assaf KI, Nau WM. Applications of cucurbiturils in medicinal chemistry and chemical biology. *Front Chem.* 2019; 7: 619. doi: 10.3389/fchem.2019.00619
18. Pashkina EA, Grishina LV, Lyubimov GYu, Kozlov VA. Effect of tuftsin complex with cucurbit[7]uril on humoral and cellular immune response in vivo. *Russian Journal of Immunology.* 2014; 8(3(17)): 367-369. (In Russ.).
19. Kovalenko EA, Pashkina EA, Kanazhevskaya LY, Masliy AN, Kozlov VA. Chemical and biological properties of a supramolecular complex of tuftsin and cucurbit[7]uril. *Int Immunopharmacol.* 2017; 47: 199-205. doi: 10.1016/j.intimp.2017.03.032
20. Pashkina E, Aktanova A, Blinova E, Mirzaeva I, Kovalenko E, Knauer N, et al. Evaluation of the immunosafety of cucurbit[n]uril on peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Molecules.* 2020; 25(15): 3388. doi: 10.3390/molecules25153388
21. Pashkina E, Aktanova A, Mirzaeva I, Kovalenko E, Andrienko I, Knauer N, et al. The effect of cucurbit[7]uril on the antitumor and immunomodulating properties of oxaliplatin and carboplatin. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(14): 7337. doi: 10.3390/ijms22147337
22. Kopoladze RA. Regulation of animal experiments – ethics, legislation, alternatives. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk.* 1998; 29(4): 7493. (In Russ.).
23. Lyubimov GYu, Zenkov NK, Volsky NN. Chemiluminescence of peritoneal macrophages under the action of a macrophage activating factor. *Immunologiya.* 1992; 13(1): 40-43. (In Russ.).
24. Amano D, Kagasaki Y, Usui T, Yamamoto S, Hayaishi O. Inhibitory effects of superoxide dismutases and various other proteins on the nitroblue tetrazolium reduction by phagocytizing guinea pig polymorphonuclear leukocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 1975; 66(1): 272-279. doi: 10.1016/s0006-291x(75)80324-x
25. Gerasimov IG, Ignatov DYU. Functional inequivalence of human blood neutrophils: Generation of human active forms. *Tsitologiya.* 2001; 43(5): 432-436. (In Russ.).
26. Lee JS, Song IH, Shinde PB, Nimse SB. Macrocycles and supramolecules as antioxidants: Excellent scaffolds for development of potential therapeutic agents. *Antioxidants (Basel).* 2020; 9(9): 859. doi: 10.3390/antiox9090859

Сведения об авторах

Актанова Алина Александровна – аспирант, лаборант-исследователь лаборатории клинической иммунопатологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: aktanova_al@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2075-8551>

Пашкина Екатерина Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунопатологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: pashkina.e.a@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4912-5512>

Боева Ольга Сергеевна – студентка Института медицины и психологии В. Зельмана, ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», e-mail: starchenkova97@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2720-0961>

Феофанова Наталья Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клинической иммунопатологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: nataly.feofanova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2591-1623>

Козлов Владимир Александрович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель института, заведующий лабораторией клинической иммунопатологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», e-mail: vakoz40@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1756-1782>

Information about the authors

Alina A. Aktanova – Postgraduate, Laboratory Assistant at the Laboratory of Clinical Immunopathology, Scientific Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: aktanova_al@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2075-8551>

Ekaterina A. Pashkina – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Clinical Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: pashkina.e.a@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4912-5512>

Olga S. Boeva – Student at the V. Zelman Institute of Medicine and Psychology, Novosibirsk National Research State University, e-mail: starchenkova97@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2720-0961>

Natalia A. Feofanova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Clinical Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: nataly.feofanova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2591-1623>

Vladimir A. Kozlov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Academician of RAS, Scientific Supervisor, Head of the Laboratory of Clinical Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, e-mail: vakoz40@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1756-1782>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии»

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

ВЛИЯНИЕ ЭНДОМОРФИНОВ-1,2 НА ПРОДУКЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И ПОГЛОТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ВРОЖДЁННОГО ИММУНИТЕТА *IN VITRO* И *IN VIVO*

Кадочникова Я.А.¹,
Гейн С.В.^{1,2}

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН (614081, г. Пермь, ул. Голева, 13, Россия)

² ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет» (614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Кадочникова Яна Алексеевна,
e-mail: yana0277@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Высокий процент людей в мире страдает от острой или хронической боли, лечение которой основывается на введении морфина и его производных, агонистов μ -опиоидных рецепторов, приводящих к развитию у пациентов зависимости. Вследствие этого, актуальной задачей является изучение свойств эндогенных опиоидных пептидов, которые способны проявлять не только выраженную анальгетическую активность, но также оказывать ряд других эффектов на периферии, при этом обладающих значительно меньшим спектром побочных эффектов. Особый интерес представляют иммуномодулирующие эффекты пептидных агонистов μ -рецепторов – эндоморфинов, тетрапептидов, эффекты которых не так подробно описаны в литературе. Благодаря своей структуре и свойствам эндоморфины могут рассматриваться как потенциальные заменители низкомолекулярных опиатов.

Цель исследования. Исследовать влияние эндоморфинов-1,2 на синтез кислородных радикалов и поглотительную активность клеток врождённого иммунитета *in vitro*, *in vivo*.

Методы. Объект исследования *in vitro* – лейкоциты периферической венозной крови доноров-добровольцев от 22 до 40 лет; объект исследования *in vivo* – клетки перитонеального смыва белых мышей-самцов породы Swiss. Оценку кислородзависимой микробицидной активности осуществляли с помощью реакции люминолзависимой хемилюминесценции. Оценку фагоцитарной активности проводили методом проточной цитометрии.

Результаты. Установлено, что эндоморфины угнетали спонтанную продукцию активных форм кислорода *in vitro*, *in vivo*. Эндоморфин-2 снижал интенсивность респираторного взрыва в стимулированных культурах перитонеальных макрофагов. Блокада опиатных рецепторов налоксоном *in vitro*, *in vivo* не отменяла эффектов эндоморфинов. Оба пептида, а также налоксон не оказывали влияния на фагоцитарную активность макрофагов перитонеальной полости мышей *in vivo*, однако *in vitro* эндоморфины приводили к увеличению процента фагоцитоза лейкоцитов периферической крови.

Заключение. *In vitro* и *in vivo* эффекты эндоморфинов носят преимущественно угнетающий характер.

Ключевые слова: эндоморфин-1, эндоморфин-2, активные формы кислорода, фагоцитоз, перитонеальные макрофаги, лейкоциты

Статья поступила: 02.06.2022

Статья принята: 07.10.2022

Статья опубликована: 08.12.2022

Для цитирования: Кадочникова Я.А., Гейн С.В. Влияние эндоморфинов-1,2 на продукцию активных форм кислорода и поглотительную активность клеток врождённого иммунитета *in vitro* и *in vivo*. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 266-273. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.27

THE EFFECT OF ENDOMORPHINS-1, -2 ON THE PRODUCTION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES AND THE ABSORPTION ACTIVITY OF INNATE IMMUNITY CELLS *IN VITRO* AND *IN VIVO*

Kadochnikova Ya.A.¹,
Gein S.V.^{1, 2}

¹ Institute of Ecology and Genetics
of Microorganisms, Ural Branch Russian
Academy of Sciences (Goleva str. 13,
Perm 614081, Russian Federation)

² Perm State University (Bukireva str. 15,
Perm 614990, Russian Federation)

Corresponding author:
Yana A. Kadochnikova,
e-mail: yana0277@mail.ru

ABSTRACT

Background. A high percentage of people in the world suffer from acute or chronic pain, the treatment of which is based on the introduction of morphine and its derivatives, agonists of the μ -opioid receptors, leading to the development of addiction in patients. An urgent task is to study the properties of endogenous opioid peptides, which are capable of showing not only pronounced analgesic activity, but also have a number of other effects on the periphery, while having a much smaller spectrum of side effects. Of particular interest are the immunomodulatory effects of peptide agonists of μ -receptors – endomorphins, tetrapeptides, the effects of which are not described in detail in the literature. Due to their structure and properties, endorphins can be considered as potential substitutes for low-molecular-weight opiates.

The aim. To investigate the effect of endorphins-1,2 on the synthesis of oxygen radicals and the absorption activity of innate immunity cells *in vitro*, *in vivo*.

Materials and methods. The object of the *in vitro* study is peripheral venous blood leukocytes from donors aged 22–40 years; the object of the *in vivo* study is peritoneal flush cells of Swiss white male mice. Oxygen-dependent microbicidal activity was evaluated using a luminol-dependent chemiluminescence reaction. Phagocytic activity was evaluated by flow cytometry.

Results. It has been found that endomorphins inhibited spontaneous production of reactive oxygen species *in vitro*, *in vivo*. Endomorphin-2 reduced the intensity of respiratory explosion in stimulated cultures of peritoneal macrophages. Blockade of opiate receptors with naloxone *in vitro*, *in vivo* did not cancel the effects of endomorphins. Both peptides and naloxone had no effect on the phagocytic activity of macrophages of the peritoneal cavity of mice *in vivo*, but *in vitro* endomorphins led to an increase in the percentage of phagocytosis of peripheral blood leukocytes.

Conclusions. The effects of endomorphins *in vitro*, *in vivo* are predominantly depressive.

Key words: endomorphin-1, endomorphin-2, reactive oxygen species, phagocytosis, peritoneal macrophages, leukocytes

Received: 02.06.2022
Accepted: 07.10.2022
Published: 08.12.2022

For citation: Kadochnikova Ya.A., Gein S.V. The effect of endomorphins-1, -2 on the production of reactive oxygen species and the absorption activity of innate immunity cells *in vitro* and *in vivo*. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 266-273. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.27

ОБОСНОВАНИЕ

На протяжении многих веков опиоиды (вещества, отличающиеся по структуре от структуры морфина, но действующие на организм по сходному механизму через опиоидные рецепторы) были и остаются основными терапевтическими средствами, применяемыми в лечении сильных болевых синдромов. Открытие опиоидных рецепторов (μ , δ , κ), а также идентификация в 1970-х годах эндогенных опиоидных пептидов значительно расширили представления в понимании нейрохимических механизмов боли. Совокупность опиоидных рецепторов, широко экспрессированных не только в ЦНС, но и в различных органах, тканях, и их лигандов представляет собой эндогенную опиоидную систему, которая обычно находится в состоянии покоя, но переходит в активное состояние под влиянием стимулирующих факторов [1].

В настоящее время достаточно подробно описано иммуномодулирующее действие энкефалинов, динорфинов и эндорфинов [2]. Значительно меньше информации представлено об эффектах эندоморфинов, которые были открыты в конце XX века. Данные пептиды не обладают общей N-концевой последовательностью, что отличает их от упомянутых выше опиоидных пептидов, а также в литературе до сих пор нет данных об их предшественнике [3, 4]. Эндоморфины являются высокоаффинными селективными агонистами μ -рецептора [5]. В дополнение можно так же отметить, что они являются частичными агонистами опиатных рецепторов, поэтому, теоретически, введение их в высокой дозе может ослабить эффекты других семейств опиоидных пептидов [6].

Опиоидные пептиды проявляют выраженную анальгетическую активность, а также способны оказывать дополнительные эффекты на периферии (в литературе отмечено их участие в процессах воспаления, репродукции, пищеварения, патогенеза общего адаптационного синдрома, модуляции функциональной активности клеток иммунной системы) [3, 6]. Широкое распространение в иммунной системе позволяет предположить их активное участие в модуляции функций клеток врождённого и адаптивного иммунитета.

Основной мишенью данного исследования являются клетки врождённого иммунитета, которые продуцируют ряд важных противомикробных факторов, в том числе активных форм кислорода (АФК), образующихся в процессе активации клетки. АФК используются фагоцитами для уничтожения патогенов, участвуют в широком спектре клеточных процессов (рост клеток, пролиферация, дифференцировка, старение и апоптоз), однако их гиперпродукция приводит к окислительному стрессу, вызывающему развитие ряда заболеваний [7].

ЦЕЛЬ НАСТОЯЩЕЙ РАБОТЫ

Исследовать влияние эндоморфинов-1,2 на продукцию кислородных радикалов и фагоцитарную ак-

тивность клеток врождённого иммунитета в системе *in vitro* и *in vivo*.

МЕТОДЫ

Объект исследования в системе *in vitro* – лейкоциты периферической венозной крови 11 здоровых доноров-добровольцев от 22 до 40 лет. Венозную кровь добавляли в пробирки, содержащие гепарин, после чего помещали в термостат и выдерживали в течение 2 часов при 37 °C для получения плазмы. Для получения лейкоцитарной фракции плазму центрифугировали 15 минут при 1500 об./мин. Полученный осадок ресуспендировали в 1 мл раствора Хенкса. Эндоморфины использовали в концентрации 10^{-8} М (Sigma), выбор концентрации осуществлялся на основе проведённых ранее экспериментов [8]. Продукцию кислородных радикалов лейкоцитами осуществляли с помощью реакции люминолзависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ). Реакцию проводили в плоскостонных 96-луночных планшетах (Greiner, Германия), в каждой из которых содержалось 10^5 клеток в 100 мкл раствора Хенкса, в качестве индуктора добавляли опсонизированный зимозан 150 мкг/мл, в качестве маркера выраженности реакции использовали люминол 10^{-5} М. Изучение влияния эндоморфинов проведено на фоне блокады налоксоном в концентрации 10^{-6} М. Налоксон является полным антагонистом, действующим на все типы опиоидных рецепторов, в большей степени к μ -рецепторам, который вытесняет опиоиды, тем самым устраняя их воздействие на организм. Регистрацию активных форм кислорода проводили в течение 60 минут с интервалом в 5 минут с помощью многофункционального спектрофотометра TECAN (Австрия). Для отображения результатов ЛЗХЛ *in vitro* на графиках нами были выбраны 20-я и 40-я минуты наблюдений, поскольку именно в это время происходит регистрация пиковых значений люминесценции (продукция АФК достигает максимума на 20-й минуте и с 40-й минуты наблюдается её уменьшение). Для оценки влияния эндоморфинов на фагоцитарную активность лейкоцитов периферической крови использовали метод проточной цитометрии. Эндоморфины использовали в концентрациях 10^{-6} , 10^{-8} , 10^{-10} , 10^{-12} М. Цельную гепаринизированную кровь с пептидом раскапывали по эппендорфам, которые затем выдерживали 1 час при температуре 37 °C. В качестве объекта фагоцитоза использовали FITC-меченые *St. aureus* (предварительно разведённые раствором Хэнкса 1 : 10), которые добавляли в пробы и отправляли в термостат на 30 минут при 37 °C. Анализ проводили на проточно-лазерном цитометре BD FACSCalibur (Beckman Coulter, США).

Экспериментальные исследования *in vivo* были выполнены на 144 белых мышах-самцах породы Swiss массой тела 21–23 г. Животные содержались в условиях лабораторного вивария, при естественном освещении, с неограниченным доступом к воде и пище.

Экспериментальные животные были разбиты на шесть групп: 1) контроль; 2) налоксон 0,2 мг/кг; 3) эндоморфин-1 100 мкг/кг; 4) налоксон 0,2 мг/кг, за 20 минут до введения эндоморфина-1 в дозе 100 мкг/кг; 5) эндоморфин-2 100 мкг/кг; 6) налоксон 0,2 мг/кг, за 20 минут до введения эндоморфина-2 в дозе 100 мкг/кг. Выведение мышей из эксперимента проводили путём декапитации под эфирным наркозом по прохождению 1 часа с момента введения эндоморфинов. Перитонеальные клетки выделяли из брюшной полости по стандартной методике [9].

Анализ продукции кислородных радикалов перитонеальными макрофагами проводили с применением реакции ЛЗХЛ, как описано выше. Для оценки показателя фагоцитарной активности к клеткам (2×10^6 кл./мл) добавляли равный объём FITC-меченых *St. cohnii* (10^9 КОЕ/мл, предварительно разведённых в соотношении 1 : 10) и убирали на 30 минут в термостат при 37 °C. По истечении времени проводили отмывку раствором буфера на центрифуге (300 g 5 минут при температуре 4 °C). Регистрацию результатов проводили на проточном цитофлюориметре CytoFLEX S (Beckman Coulter, США).

Статистическую обработку данных, полученных в системе *in vitro*, проводили с применением парного однофакторного дисперсионного анализа и LSD-критерия Фишера для post-hoc сравнения. Статистическую обработку данных, полученных *in vivo*, проводили с применением непарного однофакторного дисперсионного анализа и LSD-критерия Фишера для post-hoc сравнения. Все данные на рисунках и таблице представлены в виде средней и её стандартной ошибки ($M \pm m$).

Исследования *in vitro* проведены в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулирован-

ными в Хельсинкской декларации 1964 г. и её последующих обновлениях, и одобрены локальным биоэтическим комитетом «ИЭГМ УрО РАН» (Пермь). Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утверждённым правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям локального биоэтического комитета Института экологии и генетики микроорганизмов – филиала ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН (Пермь), IRB00010009. Каждый участник исследования *in vitro* представил добровольное письменное информированное согласие, подписанное им после разъяснения ему потенциальных рисков и преимуществ, а также характера предстоящего исследования.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ воздействия эндоморфинов на синтез кислородных радикалов *in vitro* показал, что оба пептида выражено угнетали спонтанную и не влияли на стимулированную продукцию АФК фракцией лейкоцитов периферической крови, что подтверждает ранее полученные результаты [8]. Исследование влияния пептидов на фоне предварительной блокады опиоидных рецепторов налоксоном показало, что налоксон не отменял подавляющее воздействие эндоморфинов на синтез АФК фракцией лейкоцитов (рис. 1).

Проведённый дисперсионный анализ показал статистически значимое влияние эндоморфинов на спонтанную ($F = 24,35$; $p = 0,000$) и стимулированную ($F = 19,76$; $p = 0,000$) продукцию активных форм кислорода *in vivo*. Введение эндоморфина-1 в дозе 100 мкг/кг приводило к снижению выработки кислородных радикалов ма-

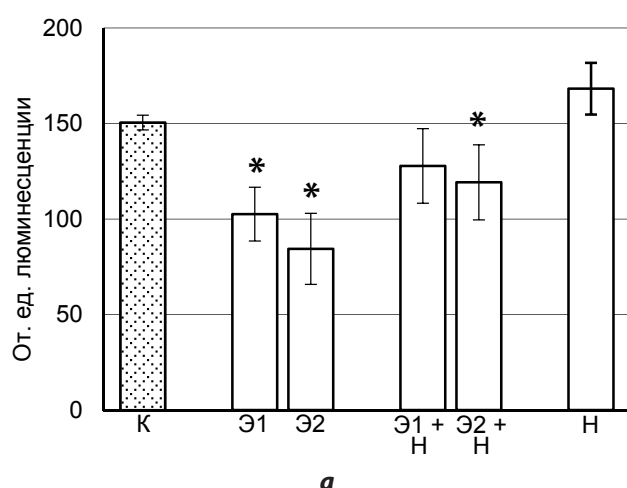


РИС. 1.

Влияние эндоморфина-1 и эндоморфина-2 на спонтанную (без индуктора) продукцию активных форм кислорода фракцией лейкоцитов периферической крови *in vitro* на 20-й (а) и 40-й (б) минутах исследования: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем ($n = 6$)

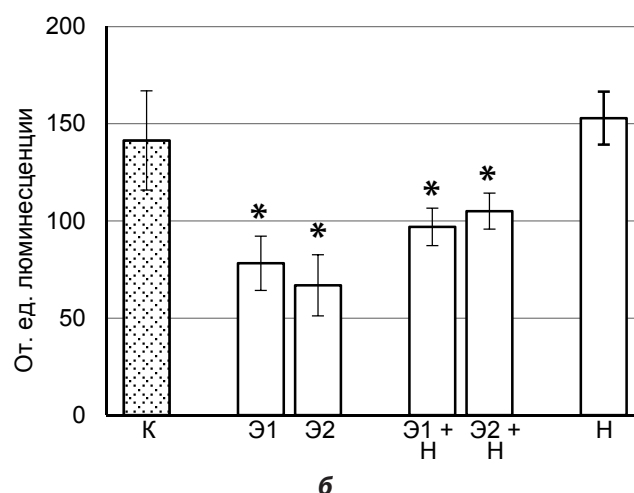


FIG. 1.

Effect of endomorphin-1 and endomorphin-2 on spontaneous (without inducer) production of reactive oxygen species by the fraction of peripheral blood leukocytes *in vitro* at the 20th (а) and the 40th (б) minutes of the study: * – $p < 0.05$ compared to the control ($n = 6$)

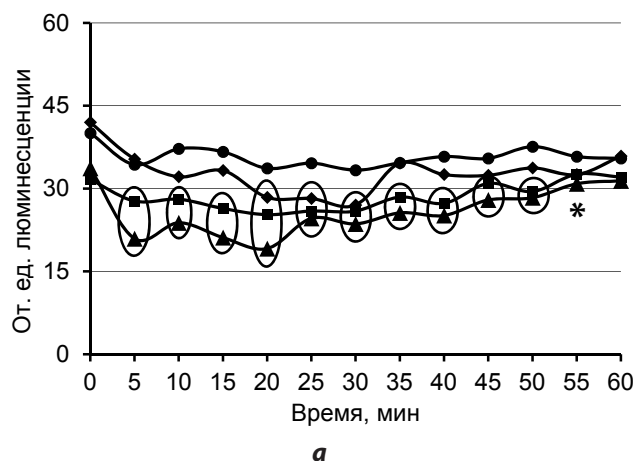


РИС. 2.

Влияние эндоморфина-1 (а) и эндоморфина-2 (б) на спонтанную (без индуктора) продукцию активных форм кислорода перитонеальными макрофагами *in vivo*: ● – контроль; ■ – E1/E2; ▲ – налоксон; ◆ – E1/E2 + налоксон; * и 0 – значения кривых, где $p < 0,05$ по сравнению с контролем ($n = 15$)

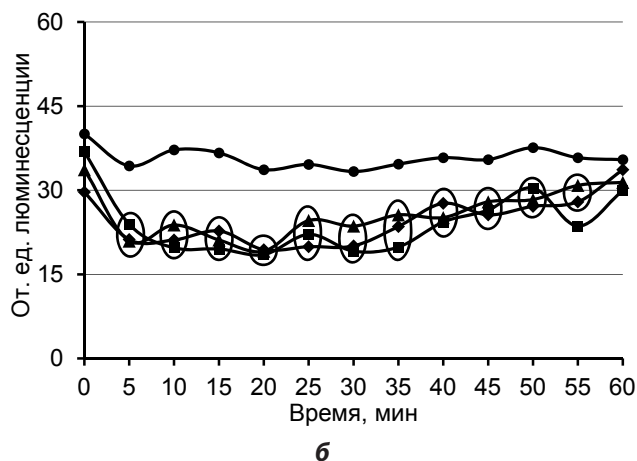


FIG. 2.

Effect of endomorphin-1 (a) and endomorphin-2 (б) on spontaneous (without inducer) production of reactive oxygen species by peritoneal macrophages *in vivo*: ● – control; ■ – E1/E2; ▲ – naloxone; ◆ – E1/E2 + naloxone. * and 0 – the values of the curves, where $p < 0.05$ compared to the control ($n = 15$)

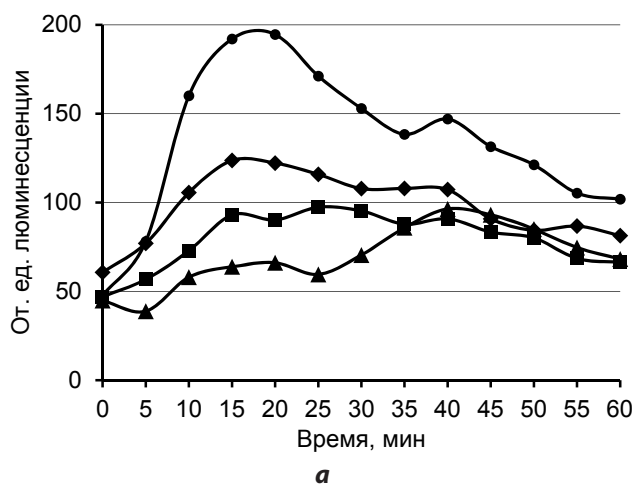


РИС. 3.

Влияние эндоморфина-1 (а) и эндоморфина-2 (б) на индуцированную зимозаном продукцию активных форм кислорода перитонеальными макрофагами *in vivo*: ● – контроль; ■ – E1/E2; ▲ – налоксон; ◆ – E1/E2 + налоксон; * и 0 – значения кривых, где $p < 0,05$ по сравнению с контролем ($n = 11$)

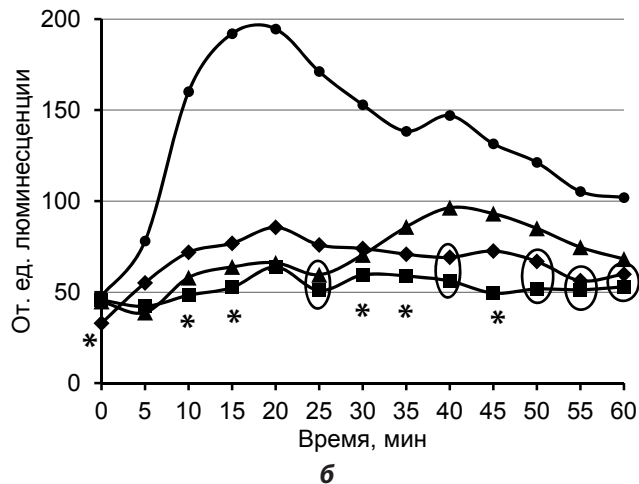


FIG. 3.

Effect of endomorphin-1 (A) and endomorphin-2 (B) on zymosan-induced production of reactive oxygen species by peritoneal macrophages *in vivo*: ● – control; ■ – E1/E2; ▲ – naloxone; ◆ – E1/E2 + naloxone. * and 0 – the values of the curves, where $p < 0.05$ compared to the control ($n = 11$)

крофагами в спонтанных культурах во всём диапазоне наблюдений (рис. 2). Блокада опиатных рецепторов показала, что налоксон не отменял угнетающее действие эндоморфина-1.

В ходе исследования влияния эндоморфинов на синтез АФК *in vivo* в индуцированных зимозаном культурах (рис. 3) установлено, что эндоморфин-1 статистически значимого воздействия на продукцию кислородных радикалов не оказывал. Введение мышам эндоморфина-2 приводило к выраженному угнетению спонтанной и стимулированной выработки активных форм кислорода. Предварительное введение экспериментальным

животным налоксона также не приводило к отмене эффектов эндоморфинов.

Оценка влияния эндоморфинов на поглотительную активность лейкоцитов периферической крови *in vitro* показала, что эндоморфин-1 не влиял на изменение процента фагоцитоза лейкоцитов периферической крови. В то же время эндоморфин-2 оказывал статистически значимый эффект на фагоцитарную активность лейкоцитов ($F = 4,384$; $p = 0,004$). Пептид оказывал активирующее влияние на поглотительную активность лейкоцитов в концентрациях 10^{-6} , 10^{-10} М (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1

ВЛИЯНИЕ ЭНДОМОРФИНА-1 И ЭНДОМОРФИНА-2 НА ПОГЛОТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ *IN VITRO*

TABLE 1

EFFECT OF ENDORPHIN-1 AND ENDOMORPHIN-2 ON THE ABSORPTION ACTIVITY OF PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTES *IN VITRO*

Концентрация пептида	Процент фагоцитоза, %
Контроль	36,188 ± 3,221
Эндоморфин-1	
10 ⁻⁶ М	39,833 ± 2,949
10 ⁻⁸ М	37,866 ± 2,903
10 ⁻¹⁰ М	37,445 ± 3,063
10 ⁻¹² М	38,036 ± 2,609
Эндоморфин-2	
10 ⁻⁶ М	41,478 ± 3,175*
10 ⁻⁸ М	38,412 ± 2,839
10 ⁻¹⁰ М	40,474 ± 2,877*
10 ⁻¹² М	35,290 ± 3,009

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем ($n = 11$).

В дальнейшем нами была проведена оценка влияния эндоморфинов на поглотительную активность перитонеальных макрофагов *in vivo*. В ходе исследования установлено, что оба пептида в системе *in vivo* статистически значимого влияния на изменение процента фагоцитоза не оказали (рис. 4). Введение мышам налоксона на динамику фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов также не влияло.

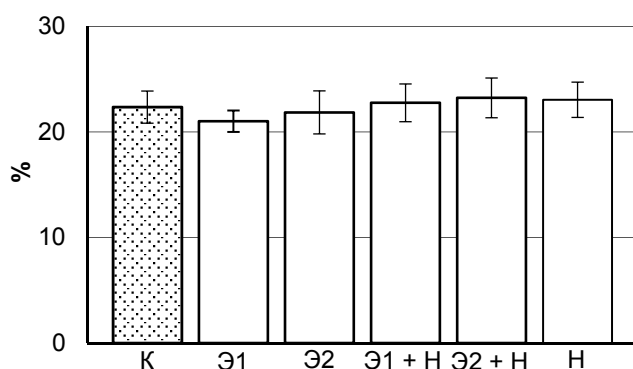


РИС. 4.

Влияние эндоморфина-1 и эндоморфина-2 на поглотительную активность перитонеальных макрофагов *in vivo*: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем ($n = 9$)

FIG. 4.

Effect of endorphin-1 and endomorphin-2 on the absorption activity of peritoneal macrophages *in vivo*: * – $p < 0.05$ compared to the control ($n = 9$)

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, эндоморфины-1 и -2 оказывали угнетающее влияние на продукцию кислородных радикалов как *in vivo*, так и *in vitro*, увеличивали поглотительную активность лейкоцитов периферической крови *in vitro* и не влияли на поглотительную активность макрофагов перитонеальной полости мышей в системе *in vivo*. Налоксон не приводил к отмене угнетающего воздействия обоих пептидов на функции клеток врожденного иммунитета как *in vitro*, так и *in vivo*.

Ранее в экспериментах по изучению воздействия эндоморфинов на продукцию АФК фракциями нейтрофилов и моноцитов *in vitro* было установлено, что эндоморфины могут оказывать не только эффекты угнетающей направленности, но также и стимулирующей, что сильно зависит от того, какую клеточную фракцию использовали в виде объекта исследований [8, 10]. По литературным данным, в статье A. Saric и соавт. представлена информация о стимулирующем влиянии эндоморфин-1 на синтез оксида азота (II) [11]. В другой работе было подтверждено супрессирующее действие эндоморфинов на выброс оксида азота (II) мышинными перитонеальными макрофагами *in vivo*, данный эффект полностью блокировался на фоне введения β-фуналтрексамина (β-FNA). Однако в системе *in vitro* при добавлении эндоморфинов в культуры перитонеальных макрофагов не было зарегистрировано никаких модулирующих эффектов в отношении NO [12]. Такой характер влияния, как мы считаем, важен с точки зрения защиты организма, поскольку с одной стороны повышенное количество кислородных радикалов влияет на усиление микробицидного потенциала клеток врожденного иммунитета, но с другой стороны это может привести к повреждению липидных мембран клеток, а также к угнетению иммунного ответа [13].

При изучении иммунорегуляторных эффектов эндоморфинов на поглотительную активность макрофагов перитонеальной полости мышей *in vivo* нами не было установлено никаких значимых эффектов. Однако *in vitro* эндоморфин-2 приводил к повышению поглотительной активности лейкоцитов периферической крови, что подтверждает полученные ранее данные, в которых оба эндоморфина также увеличивали процент фагоцитоза нейтрофилов и моноцитов периферической крови *in vitro* [8]. В системе *in vivo* эти данные нам подтвердить не удалось. По данным литературы, эндоморфины способны модулировать поглотительную активность эффекторов врожденного иммунитета: эндоморфин-2 приводил к усилению экспрессии CR-3 (Mac-1) на поверхности перитонеальных макрофагов крыс, увеличивал адгезию макрофагов к фибронектину, приводил к снижению хемотаксиса макрофагов и спонтанной продукции супероксиданионов, угнетал фагоцитоз опсонизированной *E. coli* [14]. Аналогичное влияние эндоморфина-2 на поглотительную активность и хемотаксис было получено в культурах моноцитов человека [15] и THP-1 клеточной линии [14]. Влияние эндоморфинов на поглотительную активность и бактери-

цидность перитонеальных макрофагов крыс также согласуется с упомянутыми выше результатами. В работе Y. Azuma и K. Ohura показано, что эндоморфин-2 приводит к угнетению фагоцитоза перитонеальных макрофагов крысы [6, 16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог, можно сказать, что в системах *in vitro* и *in vivo* эффекты эндоморфинов носят преимущественно угнетающий характер. В то же время необходимо отметить, что направленность воздействия эндоморфинов, как и других регуляторных пептидов, зависит от модели исследования, вводимой дозы, состава клеточной фракции и от наличия дополнительного активационного стимула. Блокада опиатных рецепторов налоксоном *in vitro* и *in vivo* не отменяла эффектов эндоморфинов. Также, основываясь на полученных данных, можно предположить, что эндоморфин-2 является более сильным иммуномодулятором как *in vitro*, так и *in vivo*.

Финансирование

Исследования проведены в рамках государственного задания, номер государственной регистрации темы № АААА-А19-119112290007-7.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Janecka A, Staniszevska R, Fichna J. Endomorphin analogs. *Curr Med Chem*. 2007; 14(30): 3201-3208. doi: 10.2174/092986707782793880
2. Pomorska DK, Gach K, Janecka A. Immunomodulatory effects of endogenous and synthetic peptides activating opioid receptors. *Mini Rev Med Chem*. 2014; 14(14): 1148-1155. doi: 10.2174/1389557515666150101095237
3. Bodnar RJ. Endogenous opiates and behavior. *Peptides*. 2010; 31(12): 2325-2359. doi: 10.1016/j.peptides.2010.09.016
4. Fichna J, Janecka A, Costentin J, Do Rego JC. The endomorphin system and its evolving neurophysiological role. *Pharmacol Rev*. 2007; 59(1): 88-123. doi: 10.1124/pr.59.1.3
5. Sedqi M, Roy S, Ramakrishnan S, Elde R, Loh HH. Complementary DNA cloning of a mu-opioid receptor from rat peritoneal macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995; 209(2): 563-574. doi: 10.1006/bbrc.1995.1538
6. Гейн С.В., Баева Т.А. Эндоморфины: структура, локализация, иммунорегуляторная активность. *Проблемы эндокринологии*. 2020; 66(1): 78-86. doi: 10.14341/probl10364
7. Yang Y, Bazhin A, Werner J, Karakhanova S. Reactive oxygen species in the immune system. *Int Rev Immunol*. 2013; 32(3): 249-270. doi: 10.3109/08830185.2012.755176
8. Гейн С.В., Кадочникова Я.А. Влияние эндоморфинов-1,2 на функциональную активность нейтрофилов и моноцитов

периферической крови *in vitro*. *Физиология человека*. 2021; 47(6): 65-71. doi: 10.31857/S0131164621060023

9. Frimel G. *Immunological methods*. Moscow: Meditsina Publ.; 1987.
10. Plein LM, Rittner HL. Opioids and the immune system – friend or foe. *Br J Pharmacol*. 2018; 175(14): 2717-2725. doi: 10.1111/bph.13750
11. Sarić A, Balog T, Sobocanec S, Marotti T. Endomorphin 1 activates nitric oxide synthase 2 activity and downregulates nitric oxide synthase 2 mRNA expression. *Neuroscience*. 2007; 144(4): 1454-1461. doi: 10.1016/j.neuroscience.2006.11.020
12. Balog T, Sarić A, Sobocanec S, Kusić B, Marotti T. Endomorphin-suppressed nitric oxide release from mice peritoneal macrophages. *Neuropeptides*. 2010; 44(1): 25-29. doi: 10.1016/j.npep.2009.11.004
13. Riquelme P, Tomiuk S, Kammler A, Fändrich F, Schlitt HJ, Geissler EK, et al. IFN-γ-induced iNOS expression in mouse regulatory macrophages prolongs allograft survival in fully immunocompetent recipients. *Mol Ther*. 2013; 21(2): 409-422. doi: 10.1038/mt.2012.168
14. Azuma Y, Ohura K. Endomorphins 1 and 2 inhibit IL-10 and IL-12 production and innate immune functions, and potentiate NF-κB DNA binding in THP-1 differentiated to macrophage-like cells. *Scand J Immunol*. 2002; 56(3): 209-260. doi: 10.1046/j.1365-3083.2002.01128.x
15. Inui Y, Azuma Y, Ohura K. Differential alteration of functions of rat peritoneal macrophages responsive to endogenous opioid peptide endomorphin-1. *Int Immunopharmacol*. 2002; 2(8): 1133-1142. doi: 10.1016/s1567-5769(02)00065-6
16. Azuma Y, Ohura K. Endomorphin-2 modulates productions of TNF-α, IL-1β, IL-10, and IL-12, and alters functions related to innate immune of macrophages. *Inflammation*. 2002; 26(5): 223-232. doi: 10.1023/a:1019766602138

REFERENCES

1. Janecka A, Staniszevska R, Fichna J. Endomorphin analogs. *Curr Med Chem*. 2007; 14(30): 3201-3208. doi: 10.2174/092986707782793880
2. Pomorska DK, Gach K, Janecka A. Immunomodulatory effects of endogenous and synthetic peptides activating opioid receptors. *Mini Rev Med Chem*. 2014; 14(14): 1148-1155. doi: 10.2174/1389557515666150101095237
3. Bodnar RJ. Endogenous opiates and behavior. *Peptides*. 2010; 31(12): 2325-2359. doi: 10.1016/j.peptides.2010.09.016
4. Fichna J, Janecka A, Costentin J, Do Rego JC. The endomorphin system and its evolving neurophysiological role. *Pharmacol Rev*. 2007; 59(1): 88-123. doi: 10.1124/pr.59.1.3
5. Sedqi M, Roy S, Ramakrishnan S, Elde R, Loh HH. Complementary DNA cloning of a mu-opioid receptor from rat peritoneal macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995; 209(2): 563-574. doi: 10.1006/bbrc.1995.1538
6. Gein SV, Baeva TA. Endomorphins: Structure, localization, immunoregulatory activity. *Problems of endocrinology*. 2020; 66(1): 78-86. (in Russ.). doi: 10.14341/probl10364
7. Yang Y, Bazhin A, Werner J, Karakhanova S. Reactive oxygen species in the immune system. *Int Rev Immunol*. 2013; 32(3): 249-270. doi: 10.3109/08830185.2012.755176

8. Gein SV, Kadochnikova YaA. The effect of endomorphins-1,2 on the functional activity of neutrophils and peripheral blood monocytes *in vitro*. *Human Physiology*. 2021; 47(6): 65-71. (In Russ.). doi: 10.31857/S0131164621060023
9. Frimel G. *Immunological methods*. Moscow: Meditsina Publ.; 1987.
10. Plein LM, Rittner HL. Opioids and the immune system – friend or foe. *Br J Pharmacol*. 2018; 175(14): 2717-2725. doi: 10.1111/bph.13750
11. Sarić A, Balog T, Sobocanec S, Marotti T. Endomorphin 1 activates nitric oxide synthase 2 activity and downregulates nitric oxide synthase 2 mRNA expression. *Neuroscience*. 2007; 144(4): 1454-1461. doi: 10.1016/j.neuroscience.2006.11.020
12. Balog T, Sarić A, Sobocanec S, Kusić B, Marotti T. Endomorphin-suppressed nitric oxide release from mice peritoneal macrophages. *Neuropeptides*. 2010; 44(1): 25-29. doi: 10.1016/j.npep.2009.11.004
13. Riquelme P, Tomiuk S, Kammler A, Fändrich F, Schlitt HJ, Geissler EK, et al. IFN- γ -induced iNOS expression in mouse regulatory macrophages prolongs allograft survival in fully immunocompetent recipients. *Mol Ther*. 2013; 21(2): 409-422. doi: 10.1038/mt.2012.168
14. Azuma Y, Ohura K. Endomorphins 1 and 2 inhibit IL-10 and IL-12 production and innate immune functions, and potentiate NF- κ B DNA binding in THP-1 differentiated to macrophage-like cells. *Scand J Immunol*. 2002; 56(3): 209-260. doi: 10.1046/j.1365-3083.2002.01128.x
15. Inui Y, Azuma Y, Ohura K. Differential alteration of functions of rat peritoneal macrophages responsive to endogenous opioid peptide endomorphin-1. *Int Immunopharmacol*. 2002; 2(8): 1133-1142. doi: 10.1016/s1567-5769(02)00065-6
16. Azuma Y, Ohura K. Endomorphin-2 modulates productions of TNF- α , IL-1 β , IL-10, and IL-12, and alters functions related to innate immune of macrophages. *Inflammation*. 2002; 26(5): 223-232. doi: 10.1023/a:1019766602138

Сведения об авторах

Кадочникова Яна Алексеевна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, e-mail: yana0277@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5120-3436>

Гейн Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, директор, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН; профессор кафедры микробиологии и иммунологии, ФGAOU BO «Пермский государственный национальный исследовательский университет», e-mail: gein@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4428-2874>

Information about the authors

Yana A. Kadochnikova – Junior Research Officer at the Laboratory of Molecular Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences, e-mail: yana0277@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5120-3436>

Sergei V. Gein – Dr. Sc. (Med.), Director, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences; Professor at the Department of Microbiology and Immunology, Perm State University, e-mail: gein@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4428-2874>

Статья опубликована в рамках V Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии».

Формат А4 (60х84/8). Бумага офсетная. Сдано в печать 21.10.2022.
Подписано в печать 02.12.2022, дата выхода в свет 08.12.2022.
Печ. л. 34,25. Усл. печ. л. 31,85. Уч. изд. л. 24,8. Зак. 050-22. Тир. 500

Отпечатано в редакционно-издательском отделе ИНЦХТ.
Адрес типографии: 664003, Иркутск, ул. Борцов Революции, 1.
Тел. (3952) 29-03-37, 29-03-70. E-mail: arleon58@gmail.com

