

2

МАРТ – АПРЕЛЬ

Том 98
2021

Ж
М
Э
И

ISSN 2686-7613 (Online)
ISSN 0372-9311 (Print)

ЖУРНАЛ
МИКРОБИОЛОГИИ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И
ИММУНОБИОЛОГИИ

JOURNAL

OF MICROBIOLOGY
EPIDEMIOLOGY
AND
IMMUNOBIOLOGY

2

MARCH – APRIL

VOLUME 98
2021

УЧРЕДИТЕЛИ:
ФБУН ЦНИИ ЭПИДЕМИОЛОГИИ РОСПОТРЕБНАДЗОРА
ВСЕРОССИЙСКОЕ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО ЭПИДЕМИОЛОГОВ,
МИКРОБИОЛОГОВ И ПАРАЗИТОЛОГОВ

ЖУРНАЛ МИКРОБИОЛОГИИ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ИММУНОБИОЛОГИИ

(Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii)

Двухмесячный научно-практический журнал

Основан в 1924 г.

Рецензируемый «Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии» рассматривает актуальные проблемы мировой науки и обеспечивает синтез новейших результатов исследований в области микробиологии, вирусологии, эпидемиологии, вакцинологии, иммунобиологии, профилактики и контроля инфекционных заболеваний. Междисциплинарный подход дает возможность интеграции передовых научных знаний смежных специальностей, широкого видения проблем фундаментальной и прикладной инфектологии, а также комплексного подхода к созданию биомедицинских технологий. К публикации принимаются научные труды российских и зарубежных исследователей, лекции, а также методические материалы и законодательные документы в области сохранения эпидемиологического благополучия населения.

Журнал входит в базу данных SCOPUS и рекомендованный ВАК «Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук» по специальностям:
03.02.02 Вирусология (медицинские и биологические науки);
03.02.03 Микробиология (медицинские и биологические науки);
14.02.02 Эпидемиология (медицинские и биологические науки);
14.03.09 Клиническая иммунология, аллергология (медицинские и биологические науки)

2

МАРТ – АПРЕЛЬ

**ТОМ 98
2021**

Журнал зарегистрирован
Федеральной службой по надзору
в сфере связи, информационных
технологий и массовых
коммуникаций.
Свидетельство ПИ № ФС77-75442
ISSN 0372-9311 (Print)
ISSN 2686-7613 (Online)
DOI: 10.36233

Журнал открытого доступа,
не берущий плату за публикации.

Контент доступен под лицензией
Commons Attribution International
4.0 CC-BY.

Используется сервис CrossMark
для поддержания контента журнала
в актуальном состоянии и информиро-
вания читателей об изменениях
в опубликованных статьях.

При публикации статьи на русском
и английском языках статья
размещается под одним DOI.
Переводы публикуются на сайте
журнала.

**Журнал представлен
в международных базах данных
и информационно-справочных
системах:**
SCOPUS, Russian Science Citation
Index (RSCI), интегрированная с
платформой Web of Science; DOAJ;
Ulrich's Periodicals Directory, ROAD;
EBSCO Publishing (на платформе
EBSCOhost).

ПОДПИСКА:
«Объединенный каталог. Пресса
России. Газеты и журналы»,
подписные индексы: E71436, 71436.

**Полные тексты статей журнала
доступны на сайтах:**
<https://www.microbiol.elpub.ru/>;
<https://www.elibrary.ru/>;
<https://www.cyberleninka.ru/>;
<https://www.rucont.ru/>;
<https://www.ebsco.com>.

ИЗДАТЕЛЬ:
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора

111123, Москва,
ул. Новогиреевская, д. 3А.
Тел.: +7(495) 974-96-46.
E-mail: crie@pcr.ru

РЕДАКЦИЯ:
105064 г. Москва,
Малый Казенный пер., д. 5А.
Тел.: +7(925)011-87-79.
E-mail: jmei@crie.ru

*Начальник редакционно-
издательского отдела:*
Осокина Ольга Владимировна
Заведующая редакцией:
Устинкова Ольга Владимировна

Редакция не несет ответственности
за содержание рекламных
материалов.

К публикации принимаются только
статьи, подготовленные в соответ-
ствии с правилами для авторов
(см. www.microbiol.elpub.ru).

Направляя статью в редакцию,
авторы принимают условия
договора публичной оферты
(<https://microbiol.elpub.ru/jour>).

Подписано в печать 24.04.2021.
Формат 60×90¹/₈. Тираж 280 экз.
Усл.-печ. л. 6,5.

Отпечатано в «Объединенный
полиграфический комплекс».
115114, Москва, Дербеневская
набережная, 7с2.
E-mail: info@opk.bz.
www.opk.bz

© ФБУН ЦНИИ эпидемиологии
Роспотребнадзора, 2021

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Зверев В.В., д.б.н., проф., acad. РАН, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Заместитель главного редактора

Семенов Т.А., д.м.н., проф., руководитель отдела эпидемиологии ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

Ответственный секретарь

Платонов А.Е., д.м.н., проф., главный научный сотрудник лабораторией эпидемиологии природно-очаговых инфекций, ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Российские члены редакционной коллегии

Акимкин В.Г., д.м.н., проф., acad. РАН, директор ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Брико Н.И., д.м.н., проф., acad. РАН, директор Института общественного здоровья, зав. кафедрой эпидемиологии и доказательной медицины, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва

Брусина Е.Б., д.м.н., проф., зав. кафедрой эпидемиологии, Кемеровский государственный медицинский университет, Кемерово

Бухарин О.В., д.м.н., проф., acad. РАН, главный научный сотрудник, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН, Оренбург

Гинцбург А.Л., д.б.н., проф., acad. РАН, директор ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва

Горелов А.В., д.м.н., проф., член-корр. РАН, зам. директора по научной работе ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Жирнов О.П., д.б.н., проф., чл.-корр. РАН, зав. лабораторией вирусного патогенеза Института вирусологии им. Д.И. Иванковского, ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва

Караулов А.В., д.м.н., проф., acad. РАН, зав. кафедрой клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва

Кутырев В.В., д.м.н., проф., acad. РАН, директор, Российский научно-исследовательский институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов

Лобзин Ю.В., д.м.н., проф., acad. РАН, директор, Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург

Лукашев А.Н., д.м.н., проф., член-корр. РАН, директор Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва

Максютов Р.А., д.б.н., генеральный директор, ГНЦ вирусологии и биотехнологии (Вектор) Роспотребнадзора, Новосибирск

Иностранные члены редакционной коллегии

Shubhada Vopengame, PhD, MSc, Professor, Institute of Microbiology, Slovak Medical University, Bratislava, Slovak Republic

Elena A. Govorkova, MD, PhD, St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, USA

Helmut Hahn, MD, PhD, Professor, Vice-president of the European Academy of Natural Sciences, President of the R. Koch Medical Society (Germany), Chairman of German-Russian Koch-Mechnikov Forum, Berlin, Germany

Werner Lubitz, MSc, PhD, Professor, VP R&D, Founder, Biotech Innovation Research Development & Consulting, Vienna, Austria

Малеев В.В., д.м.н., проф., acad. РАН, советник директора, ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Михайлов М.И., д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, зав. лабораторией вирусных гепатитов НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва; проф. кафедры эпидемиологии Белгородского государственного университета, Белгород

Несвижский Ю.В., д.м.н., проф., проф. кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии им. А.А. Воробьева, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва

Онищенко Г.Г., д.м.н., проф., acad. РАН, зав. кафедрой экологии человека и гигиены окружающей среды, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва

Свитич О.А., д.м.н., чл.-корр. РАН, директор, НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва

Сергиев В.П., д.м.н., проф., acad. РАН, почетный директор Института медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е.И. Марциновского, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва

Тартаковский И.С., д.б.н., проф., зав. лабораторией легионеллеза, ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва

Тотоян А.А., д.м.н., проф., acad. РАН, директор, Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург

Урываев Л.В., д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, заместитель директора Института вирусологии им. Д.И. Иванковского, ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва

Черкасов С.В., д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, врио директора, Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН, Оренбург

Шаркова В.А., д.м.н., проф., зав. кафедрой микробиологии и вирусологии, Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток

Bogdan N. Petrunov, MD, DSc, Professor, Academic of the Bulgarian Academy of Sciences, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, President of the Medical Section of the Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria

Georgy S. Nikolov, MD, PhD, Associate Professor, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria

Murad K. Mamadov, MD, DSc, Professor, National Oncology Center of the Ministry of Health of the Republic of Azerbaijan, Baku, Republic of Azerbaijan

Michael O. Favorov, PhD, DSc (Medicine), President, DiaPrep System Inc., Atlanta, GA, United States; Chief Scientific Officer, Turklab, Turkey

FOUNDERS:
Central Research Institute for Epidemiology
Russian Scientific Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists

JOURNAL
of MICROBIOLOGY,
EPIDEMIOLOGY
AND
IMMUNOBIOLOGY
(Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii)

Bimonthly scientific and practical journal

Founded in 1924

Peer-reviewed Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology is dedicated to the most significant issues of world science and provides a synthesis of the cutting edge research in the field of microbiology, virology, epidemiology, vaccinology, immunobiology, prevention of infectious diseases.

The journal accepts for publication Russian and foreign research papers, lectures, methodological materials, legislative documents in the field of preserving the epidemiological well-being of the population.

The interdisciplinary approach enables the reader to integrate advanced scientific knowledge of related specialties, to receive a broad vision of the problems of fundamental and applied infectology and a comprehensive approach to creating innovative biomedical technologies.

The journal is indexed in the SCOPUS database and admitted to the Index of leading peer-reviewed scientific journals intended for publication of key research results of MD Theses, as recommended by the Higher Attestation Commission of the Russian Ministry

of Education and Science:

03.02.02 Virology (medical and biological sciences);

03.02.03 Microbiology (medical and biological sciences);

14.02.02 Epidemiology (medical and biological sciences);

14.03.09 Clinical immunology, Allergology (medical and sciences)

2

MARCH – APRIL

VOLUME 98

2021

The journal is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media. Certificate of registration PI no. FS77-75442

ISSN 0372-9311 (Print)
ISSN 2686-7613 (Online)

DOI: 10.36233

The journal is an Platinum Open Access peer-reviewed scholarly journal, which does not charge author fees.

The content is licensed under Commons Attribution International 4.0 CC-BY.

The CrossMark service is used.

Some articles are translated into English under the decision of the Editorial Board. When publishing an article in Russian and English, the translated article is placed under the same DOI on the Journal's website.

The journal is presented in the following research databases: SCOPUS, Russian Science Citation Index (RSCI) database, integrated in Web of Science; DOAJ; Ulrich's Periodicals Directory, ROAD; EBSCO Publishing (on the EBSCOhost platform).

Index for subscription to the printed version of the journal: United directory. Press of Russia. Newspapers and magazines: E71436, 71436.

Full texts of issues of the journal are available:

<https://www.microbiol.elpub.ru>;
<https://www.elibrary.ru>;
<https://www.cyberleninka.ru>;
<https://www.rucont.ru>;
<https://www.ebsco.com>.

PUBLISHER:

Central Research Institute for Epidemiology, 111123, 3A, Novogireevskaya St., Moscow, Russian Federation.
Phone/fax: +7(495) 974-96-46.
E-mail: crie@pcr.ru

EDITORIAL OFFICE:

5A, Maly Kazenny per., Moscow, 105064, Russia.
Tel.: +7(925)011-87-79.
E-mail: jmei@crie.ru

Head of the Editorial and publishing department:
Olga V. Osokina

Head of Editorial Office:
Olga V. Ustinkova

The Editorial Board is not responsible for the advertising content.

The materials that do not meet the requirements of the journal (www.microbiol.elpub.ru) are rejected without further consideration.

When the author submits an article to the Editorial Board, he/she accepts the terms and conditions of the public offer agreement (<https://microbiol.elpub.ru/jour>).

Signed to the press on April 24, 2021.
Print format 60×90^{1/8}.
Circulation 250 copies.

Printed at the Ob'yedinenny poligraficheskiy kompleks Ltd. 115114, 7C2, Derbenevskaya emb., Moscow, Russian Federation.
E-mail: info@opk.bz.
www.opk.bz

© Central Research Institute of Epidemiology, 2021

EDITOR-IN-CHIEF

Vitaly V. Zverev, Dr. Sci. (Biology), RAS Full Member, Professor, Head, Department of microbiology, virology and immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Deputy Editor

Tatiana A. Semenenko, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Head, Epidemiology Department, N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

Executive Secretary

Alexander E. Platonov, Professor, Dr. Sci. (Medicine), chief researcher, Laboratory of Zoonoses, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

EDITORIAL BOARD

Russian members of the Editorial Board

Vasily G. Akimkin, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow

Nikolay I. Briko, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, Institute of Public Health, Head, Department of Epidemiology and Evidence-Based Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow

Elena B. Brusina, professor, Dr. Sci. (Medicine), Head, Department of epidemiology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo

Oleg V. Bukharin, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Principal Research Scientist, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis Ural Branch of RAS, Orenburg

Aleksandr L. Gintsburg, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Biology), Director, N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow,

Alexandr V. Gorelov, RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Deputy Director for Scientific Research, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow

Oleg P. Zhirnov, RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Biology), Head, Laboratory of viral pathogenesis, N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow

Alexander V. Karaulov, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Head, Department of Clinical Immunology and Allergology, Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow

Vladimir V. Kutuyev, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov

Yuri V. Lobzin, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, St. Petersburg

Alexander N. Lukashev, RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, Martsinovskiy Institute of Medical Parasitology, Tropical and Vector-Borne Diseases, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow

Rinat A. Maksyutov, Dr. Sci. (Biology), Director General, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Novosibirsk

Foreign members of the Editorial Board

Shubhada Boppegamage, PhD, MSc, Professor, Institute of Microbiology, Slovak Medical University, Bratislava, Slovak Republic

Elena A. Govorkova, MD, PhD, St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, USA

Helmut Hahn, MD, PhD, Professor, Vice-president of the European Academy of Natural Sciences, President of the R. Koch Medical Society (Germany), Chairman of German-Russian Koch-Mechnikov Forum, Berlin, Germany

Werner Lubitz, MSc, PhD, Professor, VP R&D, Founder, Biotech Innovation Research Development and Consulting, Vienna, Austria

Victor V. Maleev, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director adviser, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow

Mikhail I. Mikhaylov, RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Head, Laboratory of viral hepatitis, I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Professor, Department of epidemiology, Belgorod State University, Medical Institute, Belgorod

Gennadiy G. Onishchenko, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Head, Department of Human Ecology and Environmental Health, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow

Yury V. Nesvizhsky, Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of microbiology, virology and immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Oxana A. Svitich, RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow

Vladimir P. Sergiev, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director Emeritus, Martsinovskiy Institute of Medical Parasitology, Tropical and Vector-Borne Diseases, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow

Valentina A. Sharkova, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Head, Department of Microbiology and Virology, Pacific State Medical University, Vladivostok

Igor S. Tartakovskiy, Professor, Dr. Sci. (Biology), Head, Laboratory of legionellosis, N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow

Areg A. Totolian, RAS Full Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director Saint-Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg

Leonid V. Uryvaev, Dr. Sci. (Medicine), Professor, RAS Corr. Member, Deputy Director, D.I. Ivanovskiy Virology Institute, N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow

Sergey V. Cherkasov, RAS Corr. Member, Professor, Dr. Sci. (Medicine), Director, Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of RAS, Orenburg

Bogdan N. Petrunov, MD, DSc, Professor, Academic of the Bulgarian Academy of Sciences, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, President of the Medical Section of the Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulgaria

Georgy S. Nikolov, MD, PhD, Associate Professor, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Sofia, Bulgaria

Murad K. Mamadov, MD, DSc, Professor, National Oncology Center of the Ministry of Health of the Republic of Azerbaijan, Baku, Republic of Azerbaijan

Michael O. Favorov, PhD, DSc (Medicine), President, DiaPrep System Inc., Atlanta, GA, United States; Chief Scientific Officer, Turklab, Turkey

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Ковпак А.А., Ивин Ю.Ю., Пиняева А.Н., Хапчаев Ю.Х., Ожерелков С.В.,
Белякова А.В., Ишмухаметов А.А.** Применение ультрафильтрационных мембран для очистки и концентрирования вируса полиомиелита типа 1 штамм Сэбин 135
- Гапонов А.М., Волкова Н.И., Ганенко Л.А., Набока Ю.Л., Маркелова М.И.,
Синягина М.Н., Харченко А.М., Хуснутдинова Д.Р., Румянцев С.А.,
Тутельян А.В., Макаров В.В., Юдин С.М., Шестопалов А.В.** Особенности микробиома толстой кишки у пациентов с ожирением при его различных фенотипах (оригинальная статья)* 144
- Клюева С.Н., Гончарова А.Ю., Кравцов А.Л., Бугоркова С.А.** Влияние иммуномодуляции на внутриклеточную экспрессию цитокинов Т-хелперами селезёнки мышей, иммунизированных *Yersinia pestis* EV НИИЭГ 156
- Носков А.К., Кругликов В.Д., Лопатин А.А., Чемисова О.С., Левченко Д.А.,
Иванова С.М., Монахова Е.В., Архангельская И.В., Водопьянов А.С.,
Гаевская Н.Е., Подойницына О.А., Ежова М.И.** Результаты мониторинга холеры на административных территориях России в период с 2013 по 2019 год 163
- Долгушин И.И., Генкель В.В., Батурина И.Л., Емельянов И.В., Савочкина А.Ю.,
Шапошник И.И.** Ассоциация увеличения количества циркулирующих CD62L^{hi}CXCR4^{hi}-нейтрофилов с распространенностью каротидного атеросклероза* 176
- Петрова С.Ю., Хлгатын С.В., Бержец В.М., Емельянова О.Ю.** Десятилетнее наблюдение за сенсбилизацией к клещам домашней пыли 184

ДИСКУССИИ

- Михайлов М.И., Кюрегян К.К.** Современная стратегия контроля вирусного гепатита А в Российской Федерации 190

ОБЗОРЫ

- Власенко Н.В., Чурилова Н.С., Панасюк Я.В., Клушкина В.В., Дубоделов Д.В.,
Кудрявцева Е.Н., Семененко Т.А., Кузин С.Н., Акимкин В.Г.** Однонуклеотидные полиморфизмы членов суперсемейства интерлейкина-1: ассоциация с вирусными гепатитами В и С* 198
- Жирнов О.П., Чернышова А.И.** Фавипиравир: скрытая опасность мутагенного действия* 213
- Благодравова А.С., Жилыева Т.В., Квашнина Д.В.** Нарушения кишечной микробиоты при расстройствах аутистического спектра: новые горизонты в поиске патогенетических подходов к терапии. Часть 2. Ось кишечник–мозг в патогенезе расстройств аутистического спектра 221
- Углева С.В., Шабалина С.В.** Риккетсиозы в регионе Нижнего Поволжья 231

РЕЦЕНЗИИ

- Малеев В.В.** Рецензия на монографию «Генетические технологии» под общей редакцией академика РАН, д.м.н., проф. В.Г. Акимкина 239
- Лобзин Ю.В.** Рецензия на монографию «Лабораторная диагностика инфекционных болезней» под редакцией академика РАН, д.м.н., проф. В.Г. Акимкина, д.б.н., профессора М.Г. Твороговой 240

НЕКРОЛОГИ

- Памяти Светланы Сергеевны Маренниковой 242
- Памяти Вячеслава Федоровича Лаврова 243
- Памяти Бориса Аркадьевича Шендерова 244

* Статья опубликована на русском и английском языках на сайте журнала: <https://www.microbiol.elpub.ru>.

CONTENTS

ORIGINAL RESEARCHES

Kovpak A.A., Ivin Yu. Yu., Piniaeva A.N., Khapchaev Yu.Kh., Ozherelkov S.V., Belyakova A.V., Ishmukhametov A.A. Application of ultrafiltration membranes for purification and concentration of Sabin poliovirus type 1	135
Gaponov A.M., Volkova N.I., Ganenko L.A., Naboka Yu.L., Markelova M.I., Siniagina M.N., Kharchenko A.M., Khusnutdinova D.R., Rumyantsev S.A., Tutelyan A.V., Makarov V.V., Yudin S.M., Shestopalov A.V. Characteristics of the colonic microbiome in patients with different obesity phenotypes (the original article)*	144
Klyueva S.N., Goncharova A. Yu., Kravtsov A.L., Bugorkova S.A. Influence of immunomodulation on intracellular cytokine expression by spleen T-helpers of mice immunized by <i>Yersinia pestis</i> EV NIEG.....	156
Noskov A.K., Kruglikov V.D., Lopatin A.A., Chemisova O.S., Levchenko D.A., Ivanova S.M., Monakhova E.V., Arkhangelskaya I.V., Vodopyanov A.S., Gaevskaya N.E., Podoyntsyna O.A., Ezhova M.I. Results of cholera monitoring in administrative territories of Russia from 2013 to 2019.....	163
Dolgushin I.I., Genkel V.V., Baturina I.L., Emelyanov I.V., Savochkina A.Y., Shaposhnik I.I. Association of the increased circulating CD62L ^{lo} CXCR4 ^{hi} neutrophil count with carotid atherosclerosis*	176
Petrova S.Yu., Khlgatian S.V., Berzhets V.M., Emelyanova O.Yu. Ten-year monitoring of sensitization to house dust mites.....	184

DISCUSSIONS

Mikhailov M.I., Kyuregyan K.K. Contemporary strategy to control viral hepatitis A in the Russian Federation.....	190
---	-----

REVIEWS

Vlasenko N.V., Churilova N.S., Panasyuk Y.V., Klushkina V.V., Dubodelov D.V., Kudryavceva E.N., Semenenko T.A., Kuzin S.N., Akimkin V.G. Single nucleotide polymorphisms of the interleukin-1 superfamily members: association with viral hepatitis B and C*	198
Zhirnov O.P., Chernyshova A.I. Favipiravir: the hidden threat of mutagenic action*	213
Blagonravova A.S., Zhilyaeva T.V., Kvashnina D.V. Dysbiosis of intestinal microbiota in autism spectrum disorders: new horizons in search for pathogenetic approaches to therapy. Part 2. Gut–brain axis in pathogenesis of autism spectrum disorders	221
Ugleva S.V., Shabalina S.V. Rickettsioses in the Lower Volga region	231

BOOK REVIEW

Maleev V.V. Review of the monograph «Genetic Technologies» edited by Academician of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor V.G. Akimkin.....	239
Lobzin Yu.V. Review of the monograph «Laboratory diagnostics of infectious diseases» edited by Academician of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Medical Sciences, Professor V.G. Akimkin, Doctor of Biological Sciences, Professor M.G. Tvorogova	240

OBITUARIES

In memory of Svetlana Sergeevna Marennikova.....	242
In memory of Vyacheslav Fedorovich Lavrov.....	243
In memory of Boris Arkadievich Shenderov.....	244

* The article is published in Russian and English on the journal's website: <https://www.microbiol.elpub.ru>.



Применение ультрафильтрационных мембран для очистки и концентрирования вируса полиомиелита типа 1 штамм Сэбина

Ковпак А.А.^{1✉}, Ивин Ю.Ю.¹, Пиняева А.Н.¹, Хапчаев Ю.Х.¹, Ожерелков С.В.¹,
Белякова А.В.¹, Ишмухаметов А.А.^{1,2}

¹Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов имени М.П. Чумакова РАН, Москва, Россия;

²Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Аннотация

Введение. Со времени создания инактивированных полиомиелитных вакцин различные стадии производственного процесса изменялись и совершенствовались. Современное производство вакцин на основе как диких, так и аттенуированных штаммов включает несколько технологических стадий, одной из которых является концентрирование вирусосодержащей жидкости, позволяющее сконцентрировать вирус полиомиелита и очистить вирусосодержащую жидкость от значительной части балластных компонентов.

Целью исследования были сравнительная характеристика ультрафильтрационных мембран и подбор мембраны, обеспечивающей оптимальные показатели очистки и концентрирования вируса полиомиелита типа 1 (штамм Сэбина).

Материалы и методы. Для проведения работ по концентрированию использовали лабораторные ультрафильтрационные системы двух производителей с мембранами 50, 100 и 300 кДа. Полученные результаты оценивали по содержанию общего белка, составляющего основную нагрузку на последующие стадии очистки, количеству инфекционного титра вируса в концентрате и содержанию D-антигена как целевого продукта. Оценивали также фактическое отсеечение компонентов вирусосодержащей жидкости различными мембранами для определения состава белковой нагрузки на целевой продукт.

Результаты и обсуждение. Содержание D-антигена и очистка от примесных белков (содержание общего белка в концентрате) были наиболее оптимальными при концентрировании с использованием мембраны с отсечением 300 кДа. Вне зависимости от показателя отсеечения мембраны, подавляющая часть клеточных компонентов вирусосодержащей жидкости не отсекается на стадии осветляющей и стерилизующей фильтрации, а концентрируется и составляет основную белковую нагрузку на целевой продукт.

Заключение. С точки зрения качества получаемого целевого продукта и технологичности производственного процесса использование мембраны 300 кДа является наиболее целесообразным при обработке технологии изготовления инактивированных полиомиелитных вакцин с использованием штаммов Сэбина вируса полиомиелита и культуры клеток линии Vero в качестве культуры-продуцента.

Ключевые слова: ультрафильтрация, концентрирование, полиомиелит, инактивированная полиомиелитная вакцина, пероральная полиомиелитная вакцина

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

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

Для цитирования: Ковпак А.А., Ивин Ю.Ю., Пиняева А.Н., Хапчаев Ю.Х., Ожерелков С.В., Белякова А.В., Ишмухаметов А.А. Применение ультрафильтрационных мембран для очистки и концентрирования вируса полиомиелита типа 1 штамм Сэбин. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98(2): 135–143. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-94>

Application of ultrafiltration membranes for purification and concentration of Sabin poliovirus type 1

Anastasia A. Kovpak^{1✉}, Yury Y. Ivin¹, Anastasia N. Piniyeva¹, Yusuf Kh. Khapchaev¹,
Sergey V. Ozherelkov¹, Alla V. Belyakova¹, Aydar A. Ishmukhametov^{1,2}

¹Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia;

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Since the development of inactivated polio vaccines, different stages of the production process have been changed and improved. Current production of inactivated polio vaccines based on both wild and attenuated strains includes several technological stages, one of which is the concentration of the virus-containing liquid, which ensures poliovirus concentration, and purification of the virus-containing liquid from a significant part of the ballast components.

Research objective is to compare the characteristics of ultrafiltration membranes and select the membranes that provide optimal value of purification and concentration of poliovirus type 1 (Sabin strain).

Materials and methods. Laboratory ultrafiltration systems from two manufacturers with 50, 100, and 300 kDa membranes were used for the concentration. Results were evaluated by the content of total protein, which is the main stress for the subsequent purification stages, the value of infectious virus titer in the concentrate, and the content of D-antigen as the target product.

Results and discussion. Obtained results demonstrated that the content of the target product (the highest D-antigen content) and purification from impurity proteins (the total protein content in the concentrate) were most optimal when a membrane with a cut-off of 300 kDa was used for concentration. The study also evaluated the real cut-off components by various membranes to determine the composition of the protein load on the target product.

Conclusion. In terms of quality of the resulting target product and the manufacturability of the production process, the use of a 300 kDa membrane is the most appropriate when working out the technology for manufacturing inactivated polio vaccine based on Sabin strains of poliovirus and the Vero line as a producing culture.

Keywords: *ultrafiltration, concentration, inactivated polio vaccine, oral polio vaccine, poliomyelitis*

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Ковпак А.А., Ивин Ю.Ю., Пиняева А.Н., Хлупчаев Ю.К., Озхерелков С.В., Белякова А.В., Ишмухаметов А.А. Application of ultrafiltration membranes for purification and concentration of Sabin poliovirus type 1. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2021;98(2): 135–143.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-94>

Введение

История результативной борьбы с полиомиелитом насчитывает более 60 лет со времени создания моно-, би- и тривалентных инактивированных и живых вакцин [1].

Использование этих вакцин с середины 1950–1960-х гг. позволило не только снизить заболеваемость полиомиелитом по всему миру, но и начать реализацию программы по искоренению этого заболевания [1]. Наиболее широко оба вида вакцин применялись в форме тривалентных препаратов.

Присутствие в пероральной полиомиелитной вакцине живых аттенуированных штаммов полиовируса в редких случаях приводит к возникновению вакциноассоциированного паралитического полиомиелита или к вспышкам циркулирующего вакцинно-родственного полиовируса [2]. Для исключения подобных рисков большинство экономически развитых стран либо полностью перешли на использование только инактивированной полиомиелитной вакцины (ИПВ), либо применяют её в комбинации с пероральной полиомиелитной вакциной [1].

Для производства ИПВ до сих пор многие производители используют высоковирулентные (дикие) штаммы полиовируса. Всемирная организация здравоохранения в целях повышения биобезопасности

процесса приготовления ИПВ рекомендует использовать в качестве вакцинных штаммов аттенуированные штаммы полиовируса, которые способны индуцировать нейтрализующие антитела как к аттенуированному, так и к диким штаммам вируса [3].

Производство ИПВ включает несколько стадий:

- наработка клеточной и вирусной биомассы из чувствительных к вакцинным штаммам полиовируса культур клеток;
- фильтрация и концентрирование вирусосодержащей жидкости (ВСЖ);
- очистка и инаktivация вируса формальдегидом [4].

Традиционно для культивирования клеточных линий используют различные питательные среды с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки в качестве ростового фактора. Это приводит к тому, что в составе ВСЖ находятся различные белки сывороточного происхождения, клеточные компоненты и производные питательной среды, составляющие основную белковую нагрузку на дальнейшую стадию очистки вакцинного полуфабриката.

Для грубой очистки ВСЖ от вышеперечисленного балласта применяют осветляющую и стерилизующую фильтрации [4].

Полученный фильтрат концентрируют. Процесс концентрирования проводят с использованием тангенциальной ультрафильтрации (УФ). Эта стадия получения вакцины является одной из основных стадий производства ИПВ, поскольку позволяет не только сконцентрировать вирус полиомиелита, но и очистить ВСЖ от значительной части балластных компонентов. Принципиальная схема установки для ультрафильтрации и пример потоков жидкости в мембранах кассетного типа представлены на **рис. 1**.

Для УФ различных биопродуктов используют мембраны с широким диапазоном по НОММ (номинальное отсечение по молекулярной массе), которое определяет мельчайший белок, отсекаемый мембраной: от 5 до 300 кДа, однако для концентрирования вируса полиомиелита как в лабораторных, так и в промышленных масштабах применяют УФ-мембраны с отсечением 100 кДа [5–7].

Нами не обнаружены исследования в области подбора современного УФ-оборудования для концентрирования вируса полиомиелита. В зарубежной научной литературе имеются публикации, связанные с концентрированием вируса полиомиелита с помощью центрифугирования [8] или с применением устаревших методов ультрафильтрации, без подробного описания и анализа [9–11]. В отечественной научной литературе встречаются обзоры [12] и публикации о сравнительном анализе УФ-мембран для очистки и концентрирования других вирусов, например вируса гриппа [13].

Цель настоящей работы — подбор УФ-мембраны, обеспечивающей оптимальные показатели очистки и концентрирования вируса полиомиелита типа 1 (штамм Сэбина). Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

- провести сравнительную оценку характеристик УФ-мембран разных производителей;
- оценить влияние на качество целевого продукта мембран с разными показателями по отсечению;
- сравнить фактическое отсечение компонентов ВСЖ различными мембранами для определения состава белковой нагрузки на целевой продукт.

Качество получаемого концентрата оценивали:

- по количеству общего белка, составляющего основную нагрузку на последующие стадии очистки;
- по количеству инфекционного титра вируса в концентрате, позволяющего определить степень концентрирования;
- по содержанию D-антигена (специфические структуры на поверхности вирусной частицы [14], способные вызывать индукцию нейтрализующих антител) как целевого продукта, определяющего потенциал ИПВ.

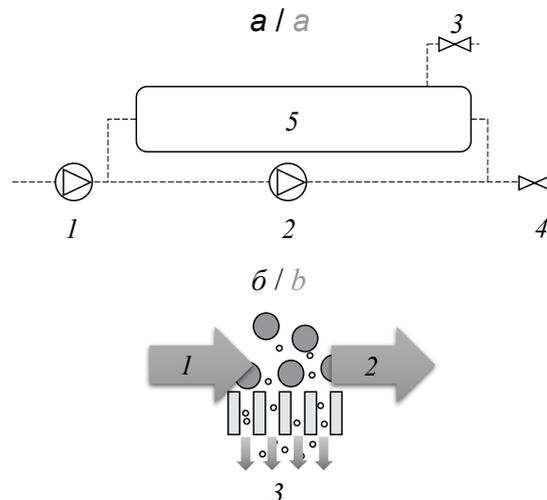


Рис. 1. Схема ультрафильтрации.

- a* — принципиальная схема установки для ультрафильтрации:
1 — питающий насос; 2 — рециркуляционный насос;
3 — линия фильтрата; 4 — линия концентрата.
б — направление потоков жидкости в кассете:
1 — исходная жидкость; 2 — концентрат; 3 — фильтрат.

Fig. 1. Ultrafiltration scheme.

- a* — schematic diagram of the ultrafiltration system: 1 — feed pump; 2 — recirculation pump; 3 — filtrate; 4 — concentrate.
b — example of cassette flow path: 1 — initial liquid; 2 — concentrate; 3 — filtrate.

Материалы и методы

Для проведения работ по концентрированию использовали две лабораторные УФ-системы двух производителей: кассеты немецкой фирмы (I) с мембранами 100 кДа и автоматизированную систему американской фирмы (II) с мембранами 50, 100 и 300 кДа. Сравнительная характеристика УФ-мембран представлена в **табл. 1**. Процессы концентрирования вирусного сбора проводили в соответствии с условиями производителей.

Для репродукции вируса полиомиелита использовали перевиваемую культуру клеток линии Vero (ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН). Нарботку культуры-продукта проводили в спиннерных колбах («Bellco») рабочим объемом 3 л в условиях псевдосuspензии. В качестве микроносителей использовали «Cytodex 1» («GE Healthcare») в концентрации 3 г/л.

Клетки выращивали в питательной среде Игла МЕМ (ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН) с добавлением 5% эмбриональной телячьей сыворотки (ООО «Биолот»). Для получения вирусной суспензии использовали аттенуированный штамм Сэбина полиовируса типа 1 — LSc, 2ab (ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН). Множественность заражения клеток составляла 0,02 ТЦД₅₀ (тканевая цитопатогенная доза) на клетку. Получены две серии ВСЖ (титры 5,0 и 7,52 ТЦД₅₀/мл) для достижения целей работ, описанных выше.

Таблица 1. Характеристика УФ-мембран**Table 1.** Characteristics of ultrafiltration membranes

Показатель Parameter	УФ-мембрана I Membrane I	УФ-мембрана II Membrane II
Площадь фильтрующей поверхности, см ² Surface area of the filtration, cm ²	200	50
Минимальный рабочий объем, мл Minimal working volume, ml	20	15
Мёртвый объем мембраны, мл Dead volume of the membrane, ml	5,3	3,2
Материал Material	Полиэфирсульфон Polyethersulfone	Полиэфирсульфон Polyethersulfone
Размер пор мембран, мкм Pore size of the membrane, micron	~0,1	~0,1

Таблица 2. Характеристика первичных и вторичных антител**Table 2.** Characteristics of primary and secondary antibodies

Первичные антитела Primary antibodies	Молекулярная масса, кДа Molecular weight, kD	Вторичные антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена Secondary antibodies conjugated with horseradish peroxidase
Кроличьи моноклональные антитела к гамма-актину (разведение 1 : 2500) Anti-actin rabbit monoclonal antibodies (dilution 1 : 2,500)	42	Антикролик (разведение 1 : 25 000) Anti-rabbit (dilution 1 : 25,000)
Поликлональные козы антитела к α -Nup 96 (C-20) sc 27400 (разведение 1 : 1000) α -Nup 96 (C-20) sc 27400 goat polyclonal antibodies (dilution 1 : 1,000)	96	Курица-антикоза (разведение 1 : 1000) Chicken anti-goat (dilution 1 : 1,000)
Кроличьи моноклональные антитела к eiF4G (разведение 1 : 1000) eiF4G rabbit monoclonal antibodies (dilution 1 : 1,000)	170	Антикролик (разведение 1 : 25,000) Anti-rabbit (dilution 1 : 25,000)
Мышиные моноклональные антитела к Nup 153 [QE6] (разведение 1 : 2500) Nup 153 [QE6] mouse monoclonal antibodies (dilution 1 : 2,500)	153	Антимышь (разведение 1 : 2500) Anti-mouse (dilution 1 : 2,500)

Осветляющую и стерилизующую фильтрацию вирусного сбора проводили через 50–55 ч после заражения с использованием вакуумных бутылочных фильтров «Steritor» («Merck Millipore») с диаметром пор 0,45 и 0,22 мкм. Перед проведением фильтрации ВСЖ отделяли от осадка частиц микроносителя декантированием.

Специфическую активность вируса определяли по стандартной методике на культуре клеток Нер-2 Цинциннати. Выражали титр в Ig ТЦД₅₀/мл¹.

Концентрацию общего белка определяли по методике Лоури без осаждения².

Присутствие бычьего сывороточного альбумина в образцах определяли с помощью электрофореза в полиакриламидном геле по общепринятой методике³.

Образцы концентратов и фильтратов с каждого этапа концентрирования (50, 100, 300 кДа) подвергали электрофорезу по методу Лэмли в присутствии

додецилсульфата натрия³. Разделённые в 12% полиакриламидном геле белки переносили на мембрану из поливинилиденфторида («GE Healthcare»). Для предотвращения неспецифического связывания антител мембрану промывали блокирующим раствором (20 мМ Трис-НСl, рН 8,0, 150 мМ NaCl, 0,05% Твин 20, 5% сухое молоко), затем инкубировали с первичными антителами (табл. 2), которые связываются с исследуемым белком. Мембрану промывали для удаления всех несвязанных первичных антител и инкубировали с конъюгированными вторичными антителами (табл. 2), которые связываются с первичными антителами. Мембрану промывали для удаления всех несвязанных вторичных антител и инкубировали с субстратом ECL-Plus («GE Healthcare»), который реагирует с конъюгированными вторичными антителами для обнаружения расположения белка. Хемилюминесцентное излучение экспонировали на рентгеновскую пленку («Kodak»).

В настоящее время главным способом определения содержания D-антигена в ИПВ является

¹ МУК 4.2.2410-08 Организация и проведение вирусологических исследований материалов от больных полиомиелитом, с подозрением на это заболевание, с синдромом острого вялого паралича (ОВП).

² ОФС.1.2.3.0012.15. Определение белка. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV, том I.

³ ОФС.1.2.3.0023.15. Электрофорез в полиакриламидном геле. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV, том I.

иммуноферментный анализ [15]. Для количественного определения целевого продукта использовали метод твердофазного иммуноферментного анализа в «сэндвич»-варианте на основе специфических антител класса Y яичных желтков [16].

Результаты и обсуждение

На первом этапе работ была проведена ультрафильтрация с использованием мембран двух производителей с одинаковыми показателями по отсечению.

Фильтрацию и концентрирование ВСЖ (5,0 ТЦД₅₀/мл) проводили с использованием кассет с отсечением 100 кДа двух производителей: Германии (I) и США (II). В фильтрах, полученных в результате концентрирования, инфекционных вирусных частиц и D-антигена не обнаружено. Результаты анализов полученных концентратов представлены в табл. 3.

Титры вируса и содержание общего белка в концентратах, полученных с использованием обоих мембранных фильтров, статистически достоверно не различались. Разница в содержании D-антигена составляла не более 10%.

Полученные результаты показывают, что оба типа мембранных кассет могут быть использованы для концентрирования ВСЖ вируса полиомиелита типа 1.

На втором этапе исследований была проведена ультрафильтрация ВСЖ (7,52 ТЦД₅₀/мл) вируса полиомиелита типа 1 с использованием мембран с отсечением 50, 100 и 300 кДа (I). Содержание D-антигена в концентрате, полученном с использованием мембраны с отсечением 100 кДа, было статистически достоверно выше показателей, полученных при использовании кассет с отсечением 50 и 300 кДа (табл. 4). Титры вируса в концентратах, полученных с использованием всех трёх типов мембран, достоверно не различались. По содержанию общего белка минимальный показатель был у концентрата,

Таблица 3. Результаты анализов концентратов вируса полиомиелита типа 1, полученных при использовании кассет I и II с отсечением 100 кДа ($M \pm m$)

Table 3. Results of analyses of poliovirus type 1 concentrates obtained using cassettes I and II with 100 kDa cut-off ($M \pm m$)

Показатель Parameter	Кассета I Cassette I	Кассета II Cassette II
Титры вируса, Ig ТЦД ₅₀ /мл Virus titers, Ig TCID ₅₀ /ml	5,85 ± 0,45	5,7 ± 0,07
D-антиген, DU/мл D-antigen, DU/ml	10,5 ± 0,83	11,6 ± 0,51*
Содержание общего белка, мг/мл Total protein, mg/ml	5,3 ± 0,5	5,3 ± 1,1

Примечание. * $p < 0,05$ по сравнению с кассетой I (непарный, двуххвостовой t-критерий Стьюдента).
Note. * $p < 0,05$ compared to cassette I (unpaired, two-tailed Student's t-test).

та, приготовленного при использовании мембраны с отсечением 300 кДа. Аналогичные показатели в двух других концентратах не различались и были статистически достоверно выше.

Для оценки потерь целевого продукта фильтраты, полученные во время процессов концентрирования, также были проанализированы по показателям: специфическая активность вируса, содержание D-антигена и общего белка. Содержание общего белка в фильтрах также согласовалось с данными, полученными в концентратах: 0,18 ± 0,02, 0,19 ± 0,02 и 1,38 ± 0,1 мг/мл для кассет с отсечением 50, 100 и 300 кДа соответственно. Инфекционные вирусные частицы и D-антиген в фильтрах не обнаружены.

Получаемый полупродукт с использованием мембран с отсечением 300 кДа является наиболее оптимальным с точки зрения очистки концентрата от примесных белков и оценки его чистоты. По содержанию целевого продукта полученные концентраты отличаются не более чем на 15% от концентратов, полученных при использовании мембран с

Таблица 4. Результаты анализов концентратов вируса полиомиелита типа 1, полученных при использовании кассет с отсечением 50, 100 и 300 кДа в сравнении с исходной ВСЖ ($M \pm m$)

Table 4. Results of analyses of poliovirus type 1 concentrates obtained using 50, 100 and 300 kD cut-off cassettes in comparison with the original viral suspension ($M \pm m$)

Показатель Parameter	Исходная ВСЖ Original viral suspension	50 кДа/kD	100 кДа/kD	300 кДа/kD
Титры вируса, Ig ТЦД ₅₀ /мл Virus titers, Ig TCID ₅₀ /ml	7,52 ± 0,31	8,73 ± 0,25*	8,52 ± 0,07*	8,43 ± 0,19*
D-антиген, DU/мл D-antigen, DU/ml	11,00 ± 0,58	496,00 ± 3,05**	594,00 ± 9,07*	509,00 ± 35,3**
Содержание общего белка, мг/мл Total protein, mg/ml	0,81 ± 0,03	44,66 ± 4,37***	44,49 ± 1,44***	29,52 ± 0,54*

Примечание. $p < 0,05$ по сравнению с: *исходной ВСЖ, **отсечением 100 кДа, ***отсечением 300 кДа (непарный, двуххвостовой t-критерий Стьюдента).

Note. $p < 0,05$ compared to: *original viral suspension; **100 kD and ***300 kD cut-off cassettes (unpaired, two-tailed Student's t-test).

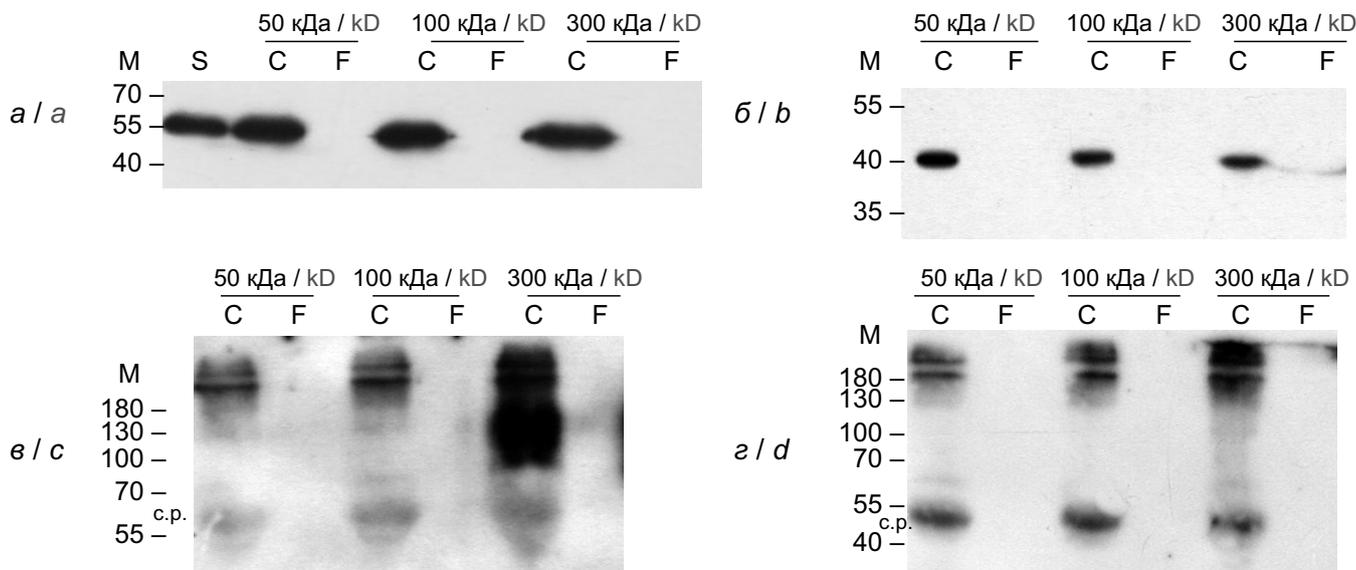


Рис. 2. Вестерн-блот-анализ концентратов (С), фильтратов (F) и вирусосодержащей жидкости (S) с использованием антител к α-актину (а), фактору инициации трансляции (eIF4GI) (б), нуклеопоринам Nup 96 (в) и Nup 153 (д). На рисунке указаны продукты расщепления нуклеопоринов (с.п.).

Fig. 2. Western blot analysis of concentrates (C), filtrates (F), and viral suspension (S) using antibodies to α-actin (a), eIF4GI factor (b), nucleoporins Nup 96 (c) and Nup 153 (d). The figure shows the cleavage products of nucleoporins (c.p.).

отсечением 100 кДа, что позволяет использовать мембраны с отсечением 300 кДа.

Для оценки фактического отсечения клеточных и вирусных компонентов мембранами 50, 100 и 300 кДа в соответствующих фильтратах и концентратах, а также определения компонентов, составляющих основную белковую нагрузку концентратов, использовали электрофорез в полиакриламидном геле и вестерн-блоттинг. Клеточные компоненты были выбраны на основании их масс в диапазоне 40–170 кДа. На **рис. 2** представлены результаты вестерн-блоттинга выбранных компонентов.

Несмотря на то что актин (рис. 2, а), имеющий молекулярную массу 42 кДа и размер 4–9 нм, является глобулярным, он полностью концентрируется мембранами на 100 и 300 кДа. Вероятно, это обусловлено связыванием актина с другими компонентами ВСЖ с образованием соединений с массой, превышающей отсечения пор.

На рис. 2, в, г представлены продукты расщепления нуклеопоринов Nup 96 и Nup 153 [17] в конце полиовирусной инфекции, которые одинаково удерживаются рассматриваемыми мембранами.

Фактор инициации трансляции eIF4GI является белком, который участвует в инициации трансляции эукариот и является компонентом кэп-связывающего комплекса eIF4F. На рис. 2, б представлены продукты расщепления этого белка [18]. Только при концентрировании ВСЖ кассетой с отсечением 300 кДа небольшая часть продуктов расщепления попадает в фильтрат, а основная масса, как и в случае использования мембран с отсечением 50 и 100 кДа, собирается в концентрате.

Исходя из полученных результатов вестерн-блоттинга, можно сделать вывод о том, что, вне зависимости от показателя отсечения мембраны, подавляющая часть клеточных компонентов ВСЖ не отсекается на стадии осветляющей и стерилизующей фильтрации, а концентрируется и составляет основную белковую нагрузку на целевой продукт.

На следующем этапе исследования для детекции вирусных белков использовали поликлональные кроличьи антитела (ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН). На **рис. 3** представлен результат вестерн-блот-анализа исследуемых концентратов и фильтратов на капсидный белок полиовируса (VP1), имеющий молекулярную массу 32 кДа [19].

На представленном вестерн-блоте отчетливо видны несколько полос: молекулярной массой 32 кДа — капсидный белок полиовируса (VP1) и полосы, характерные для неспецифического связывания вторичных антител с мембраной. Присутствие в фильтратах различных белковых продуктов вирусной природы может свидетельствовать о том, что в течение полиовирусной инфекции часть вирусных единиц могла не собраться в полный вирион и находится в ВСЖ в виде различных компонентов вируса, включая инфекционную РНК.

Производители УФ-мембран предлагают пользователю очень ограниченную информацию о свойствах УФ-мембран. В **табл. 5** представлена характеристика рассматриваемых мембран одного из производителей УФ-оборудования. Производитель заявляет, что мембраны с отсечением 100 кДа задерживают менее 80% альбумина, 300 кДа не задерживают и пропускают его в фильтрат, а мембраны

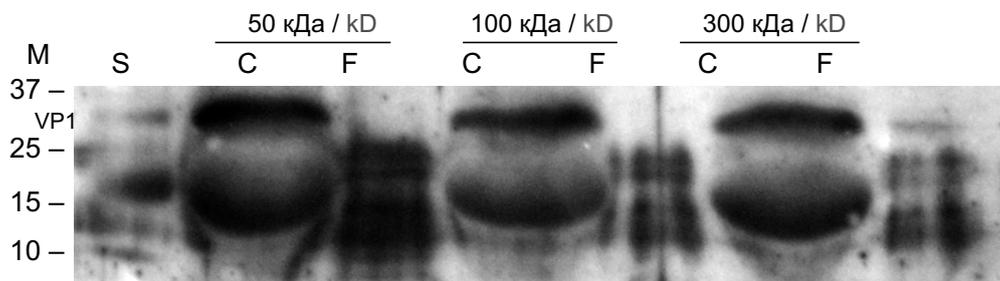


Рис. 3. Капсидный белок вируса полиомиелита VP1 в концентратах (C), фильтратах (F) и ВСЖ (S).
Fig. 3. Capsid protein of the poliomyelitis virus VP1 in concentrates (C), filtrates (F) and viral suspension (S).

Таблица 5. Характеристика мембран по отсекаемым компонентам (%)

Table 5. Characteristics of membranes by cut-off components (%)

Вещество Substance	Приблизительная молекулярная масса, кДа Approximate molecular weight, kDa	Мембрана, кДа Membrane, kD			
		30	50	100	300
Витамин В ₁₂ Vitamin B ₁₂	1,2	–	–	–	–
Бычий сывороточный альбумин Bovine serum albumin	67	–	> 95	< 80	–
γ-Глобулин γ-Globulin	169	–	> 99	≥ 98	< 70
Декстран Dextran	2000	–	–	–	> 95

50 кДа способны задерживать более 95% альбумина в растворе.

Исходя из полученных нами данных, можно сделать предположение, что все мембраны имеют минимальные различия по индикаторному белку — альбумину (**рис. 4**). Все рассматриваемые мембраны задерживают сывороточный альбумин в равной степени, незначительное отличие имеется только при использовании мембраны 300 кДа.

Заключение

Показано, что применение мембран с тем или иным отсечением не оказывает существенного влияния на основные характеристики целевого продукта. Все использованные в работе мембраны удерживали тестируемые клеточные компоненты и компоненты сыворотки вне зависимости от размера отсечения. Это может быть связано как с конформацией компонентов, что приводит к их удерживанию мембраной, так и с налипанием их на другие компоненты ВСЖ (вирусные частицы). Разница не видна и в отношении вирусных белков, проскок которых в фильтрат практически одинаков для каждого типа мембран.

Применение мембран с отсечением 300 кДа с точки зрения качества получаемого целевого продукта и технологичности производственного процесса является наиболее целесообразным для отработки технологии изготовления ИПВ с исполь-

зованием вируса полиомиелита штаммов Сэбина и клеток линии Vero в качестве культуры-продукта.

При проведении процесса ультрафильтрации с мембранами с отсечением 300 кДа процесс концентрирования занимает меньше времени, чем при тех же условиях, но с применением других мембран.

Поскольку получаемый концентрат не является конечным продуктом, а только первой стадией получения ИПВ, основные требования, предъявляемые к качеству концентрата, включают в себя показатели содержания D-антигена и титр вируса, которые сильно зависят от степени концентрирования.

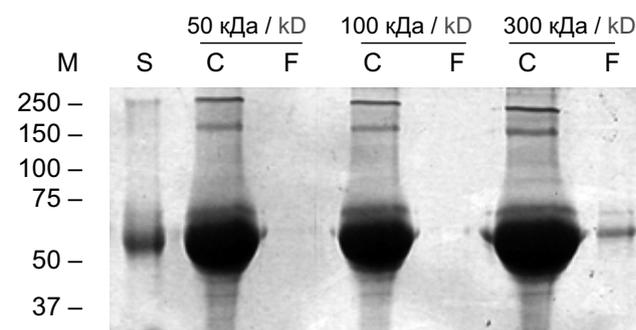


Рис. 4. Присутствие бычьего сывороточного альбумина в концентратах (C), фильтратах (F) и вирусосодержащей жидкости (S).

Fig. 4. Presence of bovine serum albumin in concentrates (C), filtrates (F), and virus-containing liquid (S).

Концентраты также характеризуются содержанием целевого продукта, бычьего сывороточного альбумина и общего белка. Эти компоненты составляют основную нагрузку на стадии очисток полуфабриката (гель-фильтрацию и ионообменную хроматографию) и, соответственно, напрямую влияют на качество очистки получаемого полупродукта на последующих стадиях. Концентраты, полученные с использованием мембран с отсечением 300 кДа, характеризуются наименьшим содержанием бычьего сывороточного альбумина и общего белка (табл. 4). Это позволяет очистить полупродукт (после хроматографических очисток) за меньшее количество циклов и избежать потерь целевого продукта, что является важным для производственного процесса.

Благодарности

Авторы выражают благодарность м.н.с. Л.П. Антоновой и И.О. Целых, а также н.с. А.А. Шишовой за помощь в выполнении исследования.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Бичурина М., Романенкова Н., Розаева Н., Воронникова В. Глобальная ситуация по полиомиелиту. Стратегия и тактика ВОЗ по ликвидации полиомиелита. *Журнал инфектологии*. 2011; 3(2): 5–14. <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2011-3-2-5-14>
2. Харит С., Покровский В., Рулёва А., Фридман И. Программа эрадикации полиомиелита ВОЗ: проблемы и решения. *Педиатрическая фармакология*. 2016; 13(3): 289–98. <https://doi.org/10.15690/pf.v13i3.1580>
3. Simizu B., Abe S., Yamamoto H., Tano Y., Ota Y., Miyazawa M., et al. Development of inactivated poliovirus vaccine derived from Sabin strains. *Biologicals*. 2006; 34(2): 151–4. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2006.02.010>
4. Thomassen Y.E., van't Oever A.G., Vinke M., Spiekstra A., Wijffels R.H., van der Pol L.A., et al. Scale-down of the inactivated polio vaccine production process. *Biotechnol. Bioeng.* 2013; 10(5): 1354–65. <https://doi.org/10.1002/bit.24798>
5. Thomassen Y.E., van't Oever A.G., van Oijen M.G.C.T., Wijffels R.H., van der Pol L.A., Bakker W.A.M., et al. Next generation inactivated polio vaccine manufacturing to support post-polio-eradication biosafety goals. *PLoS One*. 2013; 8(12): e83374. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083374>
6. Bakker W.A.M., Thomassen Y.E., van't Oever A.G., Westdijk J., van Oijen M.G.C.T., Sundermann L.C., et al. Inactivated polio vaccine development for technology transfer using attenuated Sabin poliovirus strains to shift from Salk-IPV to Sabin-IPV. *Vaccine*. 2011; 29(41): 7188–96. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.05.079>
7. Furtak V., Roivainen M., Mirochnichenko O., Zagorodnyaya T., Laassri M., Zaidi S.Z., et al. Environmental surveillance of viruses by tangential flow filtration and metagenomic reconstruction. *Euro Surveill*. 2016; 21(15): pii30193. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.15.30193>
8. Guskey L.E., Wolff D.A. Concentration and purification of poliovirus by ultrafiltration and isopycnic centrifugation. *Appl. Microbiol.* 1972; 24(1): 13–7.
9. Van Ramshorst J.D. The concentration of poliovirus antigens for D-antigen determination. *Bull. World Health Organ*. 1967; 36(2): 209–18.
10. Theiler M., Bauer J.H. Ultrafiltration of the virus of poliomyelitis. *J. Exp. Med.* 1934; 60(6): 767–72. <http://doi.org/10.1084/jem.60.6.767>

11. Sabin A.B., Hennesen W.A., Warren J. Ultrafiltration and electron microscopy of three types of poliomyelitis virus propagated in tissue culture. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1954; 85(2): 359–63. <https://doi.org/10.3181/00379727-85-20881>
12. Комиссаров А.В., Алешина Ю.А., Громова О.В., Никифоров А.К., Еремин С.А., Волох О.А. и др. Применение ультрафильтрации для концентрирования и очистки антигенов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; (1): 79–84.
13. Кызин А.А., Загидуллин Н.В., Гелич Л.В., Тиммербаева Р.Х., Исрафилов А.Г. Очистка и концентрирование вируса гриппа методом микро и ультрафильтрации. *Вестник Башкирского университета*. 2014; 19(4): 1223–7.
14. Ferguson M., Wood D.J., Minor P.D. Antigenic structure of poliovirus in inactivated vaccines. *J. Gen. Virol.* 1993; 74 (Pt. 4): 685–90. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-74-4-685>
15. Rezapkin G., Martin J., Chumakov K. Analysis of antigenic profiles of inactivated poliovirus vaccine and vaccine-derived polioviruses by block-ELISA method. *Biologicals*. 2005; 33(1): 29–39. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2004.11.001>
16. Иванов А.П., Козлов В.Г., Клеблеева Т.Д., Иванова О.Е., Киктенко А.В. Система иммуоферментного анализа на основе специфических антител класса (IgY) из яичных желтков для количественного определения D-антигена в инaktivированных полиовирусных вакцинах. *Вопросы вирусологии*. 2014; 59(6): 39–42.
17. Park N., Katikaneni P., Skern T., Gustin K.E. Differential targeting of nuclear pore complex proteins in poliovirus-infected cells. *J. Virol.* 2008; 82(4): 1647–55. <https://doi.org/10.1128/jvi.01670-07>
18. Cardinali B., Fiore L., Campioni N., De Dominicis A., Pierandrei-Amaldi P. Resistance of ribosomal protein mRNA translation to protein synthesis shutoff induced by poliovirus. *J. Virol.* 1999; 73(8): 7070–6. <https://doi.org/10.1128/jvi.73.8.7070-7076.1999>
19. Hogle J.M., Chow M., Filman D.J. Three-dimensional structure of poliovirus at 2.9 Å resolution. *Science*. 1985; 229(4720): 1358–65. <https://doi.org/10.1126/science.2994218>

REFERENCES

1. Bichurina M., Romanenkova N., Rozaeva N., Voronnikova V. Global situation for poliomyelitis. Who strategy and tactics of global polio eradication. *Zhurnal infektologii*. 2011; 3(2): 5–14. <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2011-3-2-5-14> (in Russian)
2. Kharit S., Pokrovskiy V., Ruleva A., Fridman I. WHO polio eradication program: problems and solutions. *Pediatricheskaya farmakologiya*. 2016; 13(3): 289–98. <https://doi.org/10.15690/pf.v13i3.1580> (in Russian)
3. Simizu B., Abe S., Yamamoto H., Tano Y., Ota Y., Miyazawa M., et al. Development of inactivated poliovirus vaccine derived from Sabin strains. *Biologicals*. 2006; 34(2): 151–4. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2006.02.010>
4. Thomassen Y.E., van't Oever A.G., Vinke M., Spiekstra A., Wijffels R.H., van der Pol L.A., et al. Scale-down of the inactivated polio vaccine production process. *Biotechnol. Bioeng.* 2013; 10(5): 1354–65. <https://doi.org/10.1002/bit.24798>
5. Thomassen Y.E., van't Oever A.G., van Oijen M.G.C.T., Wijffels R.H., van der Pol L.A., Bakker W.A.M., et al. Next generation inactivated polio vaccine manufacturing to support post-polio-eradication biosafety goals. *PLoS One*. 2013; 8(12): e83374. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083374>
6. Bakker W.A.M., Thomassen Y.E., van't Oever A.G., Westdijk J., van Oijen M.G.C.T., Sundermann L.C., et al. Inactivated polio vaccine development for technology transfer using attenuated Sabin poliovirus strains to shift from Salk-IPV to Sabin-IPV. *Vaccine*. 2011; 29(41): 7188–96. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.05.079>
7. Furtak V., Roivainen M., Mirochnichenko O., Zagorodnyaya T., Laassri M., Zaidi S.Z., et al. Environmental surveillance of viruses by tangential flow filtration and metagenomic reconstruction.

- tion. *Euro Surveill.* 2016; 21(15): pii30193.
<https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.15.30193>
8. Guskey L.E., Wolff D.A. Concentration and purification of poliovirus by ultrafiltration and isopycnic centrifugation. *Appl. Microbiol.* 1972; 24(1): 13–7.
 9. Van Ramshorst J.D. The concentration of poliovirus antigens for D-antigen determination. *Bull. World Health Organ.* 1967; 36(2): 209–18.
 10. Theiler M., Bauer J.H. Ultrafiltration of the virus of poliomyelitis. *J. Exp. Med.* 1934; 60(6): 767–72.
<http://doi.org/10.1084/jem.60.6.767>
 11. Sabin A.B., Hennessen W.A., Warren J. Ultrafiltration and electron microscopy of three types of poliomyelitis virus propagated in tissue culture. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1954; 85(2): 359–63. <https://doi.org/10.3181/00379727-85-20881>
 12. Komissarov A.V., Aleshina Yu.A., Gromova O.V., Nikiforov A.K., Eremin S.A., Volokh O.A., et al. Deployment of ultrafiltration for concentrating and purification of antigens. *Problemy osobo opasnykh infektsiy.* 2015; (1): 79–84. (in Russian)
 13. Kyzin A.A., Zagidullin N.V., Gelich L.V., Timerbaeva R.Kh., Israfilov A.G. Purification and concentration of influenza virus by micro and ultrafiltration. *Vestnik Bashkirskogo universiteta.* 2014; 19(4): 1223–7. (in Russian)
 14. Ferguson M., Wood D.J., Minor P.D. Antigenic structure of poliovirus in inactivated vaccines. *J. Gen. Virol.* 1993; 74(Pt. 4): 685–90. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-74-4-685>
 15. Rezapkin G., Martin J., Chumakov K. Analysis of antigenic profiles of inactivated poliovirus vaccine and vaccine-derived polioviruses by block-ELISA method. *Biologicals.* 2005; 33(1): 29–39. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2004.11.001>
 16. Ivanov A.P., Kozlov V.G., Klebleeva T.D., Ivanova O.E., Kiktenko A.V. An ELISA system based on the specific class Y (IgY) antibodies from egg yolks for the quantitative determination of D-antigen in inactivated poliovirus vaccines. *Voprosy virusologii.* 2014; 59(6): 39–42. (in Russian)
 17. Park N., Katikaneni P., Skern T., Gustin K.E. Differential targeting of nuclear pore complex proteins in poliovirus-infected cells. *J. Virol.* 2008; 82(4): 1647–55.
<https://doi.org/10.1128/jvi.01670-07>
 18. Cardinali B., Fiore L., Campioni N., De Dominicis A., Pierandrei-Amaldi P. Resistance of ribosomal protein mRNA translation to protein synthesis shutoff induced by poliovirus. *J. Virol.* 1999; 73(8): 7070–6.
<https://doi.org/10.1128/jvi.73.8.7070-7076.1999>
 19. Hogle J.M., Chow M., Filman D.J. Three-dimensional structure of poliovirus at 2.9 Å resolution. *Science.* 1985; 229(4720): 1358–65. <https://doi.org/10.1126/science.2994218>

Информация об авторах

Ковпак Анастасия Александровна  — м.н.с. лаб. молекулярной биологии вирусов, ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3200-763X>

Ивин Юрий Юрьевич — н.с. лаб. молекулярной биологии вирусов, ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0995-7944>

Пиняева Анастасия Николаевна — м.н.с. лаб. молекулярной биологии вирусов, ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5381-2393>

Халчаев Юсуф Хаджи-бекович — д.б.н., начальник отделения полиомиелитной вакцины ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1613-5228>

Ожерелков Сергей Викторович — д.б.н., в.н.с. лаб. клещевого энцефалита и других вирусных энцефалитов ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9778-0485>

Алла Владимировна Белякова — к.б.н., учёный секретарь, ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4363-6394>

Ишмухаметов Айдар Айратович — д.м.н., проф., член-корр. РАН, генеральный директор ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН, Москва, Россия; зав. кафедрой организации и технологии иммунобиологических препаратов ПМГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6130-4145>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 29.10.2020;
принята к публикации 10.02.2021;
опубликована 20.04.2021.

Information about the authors

Anastasia A. Kovpak  — junior researcher, Laboratory of molecular biology of viruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3200-763X>

Yury Y. Ivin — senior researcher, Laboratory of molecular biology of viruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0995-7944>

Anastasia N. Piniaeva — junior researcher, Laboratory of molecular biology of viruses, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5381-2393>

Yusuf Kh. Khapchaev — D. Sci. (Biol.), Head, Polio vaccine department, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1613-5228>

Sergey Viktorovich Ozherelkov — D. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of tick-borne encephalitis and other viral encephalitis, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9778-0485>

Alla Vladimirovna Belyakova — Cand. Sci. (Biol.), researcher, Laboratory of biotechnology, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4363-6394>

Aydar A. Ishmukhametov — D. Sci. (Med.), Prof., corresponding member of the Russian Academy of Sciences, General Director, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia; Head, Department of organization and technology of immunobiological preparations, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6130-4145>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

Научная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-66>

Особенности микробиома толстой кишки у пациентов с ожирением при его различных фенотипах (оригинальная статья)

Гапонов А.М.^{1,2}, Волкова Н.И.³, Ганенко Л.А.^{3✉}, Набока Ю.Л.³, Маркелова М.И.⁴, Сinyaгина М.Н.⁴, Харченко А.М.⁴, Хуснутдинова Д.Р.⁴, Румянцев С.А.^{1,5}, Тутельян А.В.^{1,2,6}, Макаров В.В.⁷, Юдин С.М.⁷, Шестопалов А.В.^{1,2,5}

¹Центр цифровой и трансляционной биомедицины «Центр молекулярного здоровья», Москва, Россия;

²Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева, Москва, Россия;

³Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия;

⁴Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия;

⁵Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия;

⁶Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии, Москва, Россия;

⁷Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками ФМБА, Москва, Россия

Аннотация

Введение. На протяжении последних десятилетий разрабатывается концепция гетерогенности ожирения в зависимости от риска развития кардиометаболических осложнений, т.к. не все пациенты с ожирением склонны к развитию метаболической дисфункции.

Цель работы — изучить особенности микробных сообществ толстой кишки методом метагеномного анализа у пациентов с различными фенотипами ожирения и у здоровых людей.

Материалы и методы. Обследованы 265 человек (44 мужчины и 221 женщина, средний возраст $47,1 \pm 4,8$ года). Сформированы клинические группы: здоровые люди с нормальной массой тела ($n = 129$); пациенты с ожирением ($n = 136$), в том числе с метаболически здоровым ($n = 40$) и метаболически нездоровым ($n = 55$). Количественная и качественная оценка состояния микробиома кишечника выполнена путём метагеномного анализа. Из образцов кала выделяли ДНК и проводили секвенирование переменного участка v3-v4 гена 16S рРНК.

Результаты. Выявлены статистически значимые ($p < 0,05$) различия количественных и качественных показателей изучаемых флотипов микроорганизмов толстой кишки у здоровых людей без ожирения и у пациентов с разными фенотипами ожирения.

Обсуждение. У пациентов с ожирением повышено количество *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* и снижено содержание *Actinobacteria*, *Firmicutes*, TM7 (*Saccharibacteria*), *Fusobacteria*, а также чаще верифицируются флотипы *Tenericutes*, *Planctomycetes* и *Lentisphaerae* по сравнению с показателями у здоровых людей. У пациентов с метаболически здоровым ожирением в микробиоме толстой кишки реже регистрируется флотип *Lentisphaerae*, наблюдается повышение количества *Firmicutes* и снижение *Bacteroidetes* по сравнению с показателями при метаболически нездоровом ожирении.

Выводы. Полученные данные демонстрируют изменения микробиома толстой кишки у пациентов с разными фенотипами ожирения.

Ключевые слова: метагеномное секвенирование, микробиом кишечника, ожирение

Этическое утверждение. Исследование проводилось при информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическими комитетами РНИМУ им. Н.И. Пирогова и РостГМУ.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках договора № 0373100122119000041 по проекту «Создание банка биообразцов сыворотки крови и фекалий от здоровых доноров и пациентов с ожирением, метаболическим синдромом, сахарным диабетом 2 типа, нарушением мукозального барьера желудочно-кишечного тракта с целью выявления кандидатных видонеспецифических медиаторов систем quorum sensing микробиоты человека, модулирующих эндокринную и метаболическую функцию жировой ткани».

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

Для цитирования: Гапонов А.М., Волкова Н.И., Ганенко Л.А., Набока Ю.Л., Маркелова М.И., Сinyaгина М.Н., Харченко А.М., Хуснутдинова Д.Р., Румянцев С.А., Тутельян А.В., Макаров В.В., Юдин С.М., Шестопалов А.В. Особенности микробиома толстой кишки у пациентов с ожирением при его различных фенотипах (оригинальная статья). *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98(2): 144–155.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-66>

Characteristics of the colonic microbiome in patients with different obesity phenotypes (the original article)

Andrey M. Gaponov^{1,2}, Natalia I. Volkova³, Liliya A. Ganenko^{3✉}, Yulia L. Naboka³,
Maria I. Markelova⁴, Maria N. Siniagina⁴, Anastasia M. Kharchenko⁴,
Dilyara R. Khusnutdinova⁴, Sergey A. Roumiantsev^{1,5}, Aleksey V. Tutelyan^{1,2,6},
Valentin V. Makarov⁷, Sergey M. Yudin⁷, Alexander V. Shestopalov^{1,2,5}

¹Institute of Digital and Translational Biomedicine, Center for Molecular Health, Moscow, Russia;

²Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia;

³Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia;

⁴Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia;

⁵N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

⁶Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia;

⁷Center for Strategic Planning and Management of Medical and Biological Health Risks, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. The concept of heterogeneity in obesity depending on the risk of developing cardiometabolic complications has garnered attention in recent decades, since not everyone with obesity goes on to develop metabolic dysfunction.

The aim of the work is to study specific characteristics of colonic microbial communities in patients with different obesity phenotypes and in healthy individuals by employing metagenomics methods.

Materials and methods. A total of 265 individuals (44 men and 221 women; mean age 47.1 ± 4.8 years) were enrolled in the study. They were further divided into clinical groups: Healthy normal-weight individuals ($n = 129$); patients with obesity ($n = 136$), including metabolically healthy obesity ($n = 40$) and metabolically unhealthy obesity ($n = 55$). Quantitative and qualitative assessment of the intestinal microbiome was based on metagenomic analysis. Fecal samples were used to isolate DNA and perform sequencing of the variable v3-v4 region of the 16S rRNA gene.

Results. The study revealed statistically significant ($p < 0.05$) differences between quantitative and qualitative variables in studied phylotypes of colonic microorganisms in healthy individuals without obesity and in patients with different obesity phenotypes.

Discussion. Patients with obesity had higher levels of *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* and lower levels of *Actinobacteria*, *Firmicutes*, TM7 (*Saccharibacteria*), *Fusobacteria*, and more frequently detected phyla *Tenericutes*, *Planctomycetes* and *Lentisphaerae* compared to healthy individuals. Metabolically healthy obese patients had more rarely detected phylum *Lentisphaerae* in their colonic microbiome, increased numbers of *Firmicutes* and reduced numbers of *Bacteroidetes* compared to metabolically unhealthy obese patients.

Conclusion. The findings demonstrate alterations in the colonic microbiome in patients with different obesity phenotypes.

Keywords: metagenomic sequencing, colonic microbiome, obesity

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committees of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University and Rostov State Medical University.

Funding source. The work was performed under contract No. 0373100122119000041 for the project "Creation of a bank of blood serum and fecal samples from healthy donors and patients with obesity, metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, impaired mucosal barrier of the gastrointestinal tract with the aim of identifying candidate species-specific mediators of quorum sensing microbiota systems human modulating endocrine and metabolic function of adipose tissue".

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Gaponov A.M., Volkova N.I., Ganenko L.A., Naboka Yu.L., Markelova M.I., Siniagina M.N., Kharchenko A.M., Khusnutdinova D.R., Rumyantsev S.A., Tutelyan A.V., Makarov V.V., Yudin S.M., Shestopalov A.V. Characteristics of the colonic microbiome in patients with different obesity phenotypes (the original article). *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2021;98(2): 144–155.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-66>

Актуальность

Распространённость ожирения во всём мире за последние 40 лет увеличилась почти втрое. Осложнения, связанные с ожирением, такие как сахарный диабет 2-го типа, дислипидемия и артериальная гипертензия, снижают качество и продолжительность жизни человека, а также существенно увеличивают расходы здравоохранения [1]. Однако в некоторых исследованиях показано, что ожирение не всегда влечёт за собой метаболические нарушения и повышенный риск кардиометаболических осложнений. Такой фенотип ожирения в научной литературе получил название «метаболически здоровое ожирение» (МЗО) [2]. Из-за отсутствия общепризнанных критериев для определения МЗО его распространённость широко варьирует в исследованиях — от 3 до 57% среди пациентов с ожирением [1].

Известен ряд факторов, влияющих на этиологию и патогенез ожирения, включающих диету, образ жизни, условия окружающей среды, генетическую предрасположенность и др. Однако ни один из них не объясняет стремительный рост распространённости ожирения, поэтому поиск новых причин продолжается.

Значительное внимание исследователей привлекает участие микробиома кишечника в развитии ожирения [3]. Около 70% микроорганизмов (МО), населяющих организм человека, обитает в толстой кишке, где плотность только бактериальных клеток оценивается от 10^{11} до 10^{12} на 1 мл содержимого. Количество микробных генов, ответственных за продукцию, в том числе многочисленных метаболитов в кишечнике, превышает 3 млн. В то же время геном человека состоит примерно из 23 тыс. генов [5]. Поэтому в контексте глобальной эпидемии ожирения большой интерес представляет понимание того, как именно микробные метаболиты изменяют метаболический профиль человека [3]. P.J. Turnbaugh и соавт. в 2006 г. выполнили одно из первых исследований, в котором удалось показать связь состояния микробиоты кишечника с увеличением массы тела [5]. Сегодня предложены различные механизмы влияния микробиома кишечника на метаболический гомеостаз человека. Среди них — продукция короткоцепочечных жирных кислот, метаболическая эндотоксемия, окисление жирных кислот, участие в липогенезе, регуляции аппетита и др. [6].

В течение многих лет учёные исследовали микробиоту кишечника, но одна из главных трудностей заключалась в культивировании ограниченного спектра МО. Новые технологии позволили исследователям филогенетически идентифицировать и количественно определить компоненты микробиома кишечника путём анализа нуклеиновых кислот. Большинство из этих методов основаны на экстракции ДНК и амплификации гена *16S* рибосомной

РНК. В настоящее время установлено, что доминирующими филотипами микробиома кишечника являются *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* и *Verrucomicrobia*, причём 2 первых филотипа составляют 90% микробиома кишечника [7]. Имеются данные о том, что ожирение связано с более высоким уровнем двух филотипов — *Firmicutes* и *Actinobacteria* и снижением численности *Bacteroidetes* и *Verrucomicrobia* [8].

Цель исследования — изучить особенности микробных сообществ толстой кишки методом метагеномного анализа у пациентов с различными фенотипами ожирения и у здоровых людей.

Материалы и методы

Когортное одномоментное исследование проведено на базе центра цифровой и трансляционной биомедицины ООО «Центр молекулярного здоровья», кафедры внутренних болезней № 3, центральной научно-исследовательской лаборатории Ростовского государственного медицинского университета и в Казанском (Приволжском) федеральном университете в 2018–2020 гг. Проведение научно-исследовательской работы одобрено ЛНЭК ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова (протокол № 186 от 26.06.2019) и ЛНЭК ФГБОУ ВО РостГМУ (протокол № 20/19 от 12.12.2019).

С целью минимизации влияния климатических условий, характера питания и этнических факторов на кишечный микробиом в исследовании были включены люди, проживающие на одной территории (Ростовская область и Ростовна-Дону) в летний период. Для реализации цели исследования были обследованы 265 человек: 44 (16,6%) мужчины, 221 (83,4%) женщина, средний возраст $47,1 \pm 4,8$ года.

Критерии включения:

- возраст старше 18 лет;
- отсутствие приема антибиотиков, пребиотических и пробиотических препаратов в течение 3 мес до включения в исследование;
- подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения:

- тяжёлые соматические заболевания (хроническая почечная недостаточность, хроническая печёночная недостаточность, хроническая сердечная недостаточность);
- любые заболевания желудочно-кишечного тракта (в том числе неспецифический язвенный колит, болезнь Крона, синдром раздражённого кишечника);
- любое острое заболевание, депрессия, алкоголизм, беременность.

Далее из 265 человек были сформированы две клинические группы: 1-я группа — обследуемые без ожирения и метаболических нарушений (кон-

трольная); 2-я группа — пациенты с ожирением. Для стратификации на основные группы были введены дополнительные критерии.

Дополнительные критерии включения в 1-ю группу:

- индекс массы тела (ИМТ) — 18,5–24,9 кг/м²;
- отсутствие метаболических нарушений (дислипидемии, гипергликемии, гиперурикемии);
- отсутствие артериальной гипертензии.

Дополнительные критерии включения во 2-ю группу:

- ИМТ ≥ 30 кг/м²;
- окружность талии (ОТ) у мужчин > 102 см, у женщин > 88 см.

В 1-ю группу вошли 129 человек: 15 (11,6%) мужчин, 114 (88,3%) женщин, средний возраст $39,6 \pm 4,2$ года, среднее значение ИМТ $20,8 \pm 2,1$ кг/м², ОТ $74 \pm 5,8$ см.

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика обследуемых

Table 1. Clinical and laboratory profile of the participants

Показатель Indicator		1-я группа Group 1 (n = 129)	2-я группа Group 2 (n = 136)	p
Мужчины / Men	n (%)	15 (11,6)	28 (20,6)	0,6
Женщины / Women	n (%)	114 (88,3)	108 (79,4)	0,6
Возраст, лет / Age, years	M \pm m	39,6 \pm 4,2	54,6 \pm 4,7	0,03
ИМТ, кг/м ² / BMI, kg/m ²	Me [min; max]	20,8 [19; 23]	34 [31; 36]	0,02
ОТ, см / Waist, cm	Me [min; max]	74 [69; 75,5]	100 [95; 103]	0,01
Систолическое артериальное давление, мм рт. ст. Systolic blood pressure, mm Hg	Me [min; max]	120,5 [90; 125]	135 [125; 145]	0,03
Диастолическое артериальное давление, мм рт. ст. Diasystolic blood pressure, mm Hg	Me [min; max]	74,5 [60; 90]	85 [80; 90]	0,001
Глюкоза плазмы натощак, ммоль/л Fasting plasma glucose, mmol/l	Me [min; max]	3,96 [4,05; 5,1]	5,57 [5,1; 6,93]	0,0001
Общий холестерин, ммоль/л Cholesterol, mmol/l	Me [min; max]	4,5 [4,1; 5,0]	5,42 [4,62; 6,2]	0,6
Холестерин липопротеидов низкой плотности, ммоль/л Low-density lipoprotein cholesterol, mmol/l	Me [min; max]	3,11 [2,4; 3,21]	3,19 [2,6; 3,64]	0,7
Холестерин липопротеидов высокой плотности, ммоль/л High-density lipoprotein cholesterol, mmol/l	Me [min; max]	1,93 [1,49; 2,24]	1,23 [1,11; 1,39]	0,03
Триглицериды, ммоль/л Triglyceride, mmol/l	Me [min; max]	0,79 [0,57; 1,13]	1,65 [1,33; 2,34]	0,001

Таблица 2. Критерии NCEP ATPIII, используемые для определения метаболического статуса пациентов 2-й группы

Table 2. The NCEP ATPIII criteria for assessment of the metabolic status of patients for the 2nd group

Критерий Criterion		Значение Mean
Артериальное давление, мм рт. ст. Blood pressure, mm Hg	систолическое / systolic	> 130
	диастолическое / diastolic	> 85
Триглицериды, ммоль/л Triglyceride, mmol/l		$\geq 1,7$
Холестерин липопротеидов высокой плотности, ммоль/л High-density lipoprotein cholesterol, mmol/l	мужчины / men	$< 1,03$
	женщины / female	$< 1,29$
Глюкоза плазмы натощак, ммоль/л Fasting plasma glucose, mmol/l		$\geq 5,6$
ОТ, см Waist, cm	мужчины / men	102
	женщины / female	> 88
Критерии МЗО MHO criteria		< 3 перечисленных выше показателя < 3 of the above indicators

Note. МНО — metabolic health obesity.

Во 2-ю группу вошли 136 пациентов с ожирением: 28 (20,6%) мужчин, 108 (79,4%) женщин, средний возраст $54,6 \pm 4,7$ года, среднее значение ИМТ $33,8 \pm 3,36$ кг/м², ОТ $99,7 \pm 7,3$ см.

Клинико-лабораторная характеристика обследуемых 1-й и 2-й групп представлена в **табл. 1**.

С целью выделения разных фенотипов ожирения на основании критериев NCEP-ATP III (The National Cholesterol Education Program, Adult Treatment Panel III)¹ пациенты 2-й группы (**табл. 2**) были разделены на 2 подгруппы:

- подгруппа 2a — пациенты с МЗО;
- подгруппа 2b — пациенты с метаболически нездоровым ожирением (МНЗО).

Здоровый метаболический профиль определялся как менее 3 перечисленных показателей [1]. Подгруппы 2a и 2b были сопоставимы по возрасту, ИМТ и ОТ.

В подгруппу 2a вошли 40 пациентов: 6 (15%) мужчин, 34 (85%) женщины, средний возраст $49,5 \pm 5,1$ года, среднее значение ИМТ $33,95$ кг/м², ОТ $101,5$ см. В подгруппу 2b включены 55 пациентов: 11 (20%) мужчин, 44 (80%) женщины, средний возраст $51,3 \pm 3,6$ года, среднее значение ИМТ $33,6$ кг/м², ОТ $98,9$ см. Клинико-лабораторная характеристика пациентов подгрупп 2a и 2b представлена в **табл. 3**.

У всех обследуемых был проведён сбор жалоб, анамнеза, общеклинический осмотр, оценены антропометрические показатели (масса тела, рост, ОТ, ИМТ). Взаимосвязь между пищевым рационом и метаболическим статусом ожирения оценивали с помощью опросника о частоте потребления пищевых продуктов и анализа пищевого дневника. Оценку ИМТ проводили согласно рекомендациям экспертов ВОЗ (2003). ОТ измеряли лентой на уровне середины расстояния между рёберными дугами и гребнями подвздошных костей. Измерение артериального давления проводили ручным тонометром по стандартной методике Н.С. Короткова.

У обследуемых всех групп с целью оценки состояния углеводного обмена однократно определяли уровень глюкозы плазмы натощак, иммунореактивного инсулина и рассчитывали индекс инсулиновой резистентности по формуле: глюкоза натощак (ммоль/л) \times инсулин натощак (Ед/л)/22,5. Липидный обмен оценивали путём определения общего холестерина, холестерина липопротеидов низкой и высокой плотности, триглицеридов в сыворотке крови. Инсулин определяли на анализаторе «Magpix» («BioRad») с использованием набора «Milliplex: Human Adipokine Magnetic Bead Panel 2».

¹ NCEP АТРІІІ — Третий отчёт Комиссии экспертов по выявлению, оценке и лечению гиперхолестеринемии в рамках Национальной образовательной программы по гиперхолестеринемии США (NCEP АТРІІІ — National Cholesterol Education Program, Adult Treatment Panel III).

Биохимические исследования выполняли на спектрофотометре «Hitachi U-2900» с наборами реагентов «Ольвекс Диагностикум». Сбор образцов фекалий проводили согласно рекомендациям [9]. Метагеномный анализ сообщества кишечника осуществляли на базе Междисциплинарного центра коллективного пользования Казанского федерального университета. ДНК из образцов кала выделяли с использованием набора «QIAamp DNA stool mini kit» («Qiagen»). Секвенирование вариабельного участка v3-v4 гена *16S* рРНК проводили на платформе «Illumina MiSeq». Полученные последовательности генов *16S* рРНК были проанализированы с помощью программы «QIIME v.1.9.1» с использованием референсной базы данных «Greengenes v.13.8» с 97% порогом сходства между последовательностями. Относительная представленность бактериальных таксонов в общем пуле ридов указана в долях (от 0 до 1), которые были рассчитаны на основе количества картированных ридов для каждого таксона. Для оценки альфа-разнообразия бактериального сообщества были вычислены значения индексов филогенетического разнообразия Шеннона, Симпсона и Чао 1.

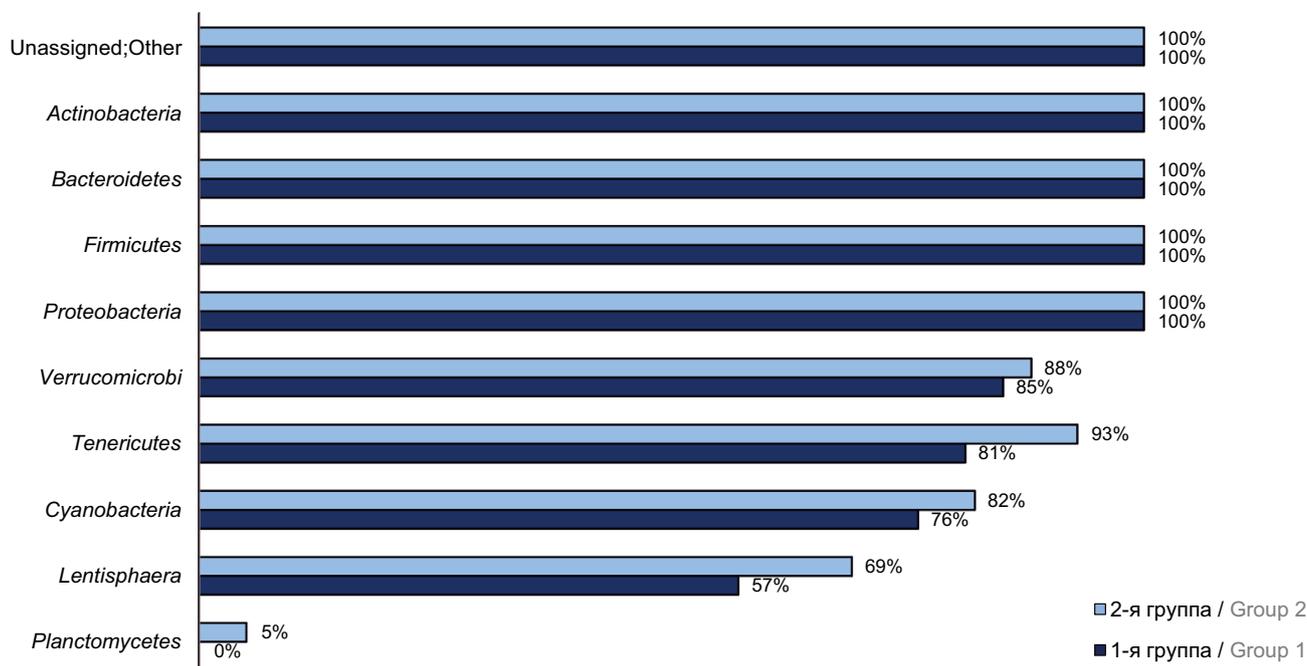
Статистические расчёты выполняли в R-версии программы «RStudio v.3.2». Проверка данных на нормальность распределения была выполнена с помощью теста Шапиро–Уилка. В качестве описательных статистик для количественных показателей рассчитаны средние \pm средние квадратические отклонения; медиана и квартили (25%, 75%); минимальные и максимальные значения в выборке. Сравнение средних уровней в группах проводилось с помощью теста Манна–Уитни, частот (%) — с помощью точного теста Фишера. Сравнение частот обнаружения фило-типов, верифицированных в толстой кишке, в группах проводилось с помощью точного теста Фишера с поправкой на множественные сравнения по Холму. Сравнение медиан количественных характеристик изучаемых фило-типов и МО, верифицированных в толстой кишке, в группах проведено с помощью теста Крускала–Уоллиса (парные апостериорные сравнения — по методу Немени). Различия признавали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

У обследуемых 1-й и 2-й групп в микробиоме кишечника преобладали шесть фило-типов МО: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia* и неидентифицированный фило-тип Unassigned;Other. Группы Unassigned представляли последовательности, для которых совпадения в референсной базе данных не обнаружены, т.е. это могут быть как ещё неизвестные бактерии, так и артефакты секвенирования. Помимо вышеуказанных фило-типов, в группе

Таблица 3. Клинико-лабораторная характеристика пациентов 2а и 2б подгрупп ($M \pm m$)
Table 3. Clinical and laboratory characteristics of patients 2a and 2b subgroups ($M \pm m$)

Показатель Indicator	Подгруппа 2а Subgroup 2a (n = 40)	Подгруппа 2б Subgroup 2b (n = 55)	p
Мужчины / Men	6 (15%)	11 (20%)	0,6
Женщины / Women	34 (85%)	44 (80%)	0,6
Возраст / Age	49,05 ± 5,1	51,3 ± 3,6	0,7
ИМТ, кг/м ² / Body mass index, kg/m ²	34 ± 3,98	33,6 ± 3,39	0,8
ОТ, см / Waist, cm	102 ± 8,37	98,9 ± 7,63	0,1
Систолическое артериальное давление, мм рт. ст. Systolic blood pressure, mm Hg	116 ± 11,5	143 ± 10,1	<0,0001
Диастолическое артериальное давление, мм рт. ст. Diasystolic blood pressure, mm Hg	74,4 ± 7,53	90,2 ± 7,7	<0,0001
Глюкоза плазмы натощак, ммоль/л Fasting plasma glucose, mmol/l	4,87 ± 0,5	7,72 ± 2,36	<0,0001
Иммунореактивный инсулин, пг/мл Immunoreactive insulin, pg/ml	470 ± 565	550 ± 439	0,1
Индекс инсулиновой резистентности Index of insulin resistance	10,3 ± 12,3	20,4 ± 20,5	0,0003
Общий холестерин, ммоль/л Cholesterol, mmol/l	5,28 ± 1,16	5,67 ± 1,37	0,1
Холестерин липопротеидов низкой плотности, ммоль/л Low-density lipoprotein cholesterol, mmol/l	3,28 ± 0,91	3,05 ± 1,33	0,3
Холестерин липопротеидов высокой плотности, ммоль/л High-density lipoprotein cholesterol, mmol/l	1,38 ± 0,29	1,27 ± 0,29	0,04
Триглицериды, ммоль/л Triglyceride, mmol/l	1,25 ± 0,54	2,58 ± 1,14	<0,0001



Частота обнаружения некоторых филотипов МО в фекалиях обследуемых.

* $p < 0,05$ по сравнению с 1-й группой.

The frequency of detection of some MO phylotypes in feces of the participants.

* $p < 0.05$ as compared with the 1st group.

контроля и в группе пациентов с ожирением по признаку частот обнаружения преобладали *Tenericutes* (81 и 93% соответственно) и *Cyanobacteria* (76 и 82% соответственно). Для 3 филоотипов: *Tenericutes* ($p = 0,007$), *Planctomycetes* ($p = 0,03$), *Lentisphaerae* ($p = 0,047$) выявлены значимые отличия по изучаемому признаку (рисунки).

При проведении сравнительного анализа количественных показателей 1-й и 2-й групп значимые ($p < 0,05$) отличия были обнаружены для 7 филоотипов (*Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Cyanobacteria*, ТМ 7 (*Saccharibacteria*), *Fusobacteria*) МО, но они носили разнонаправленный характер (табл. 4). Так, в группе больных с ожирением для 3 филоотипов (*Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Cyanobacteria*) регистрировали повышение ($p < 0,05$) изучаемых показателей, а для 4 филоотипов (*Actinobacteria*, *Firmicutes*, ТМ 7 (*Saccharibacteria*), *Fusobacteria*) — снижение.

Для оценки альфа-разнообразия были рассчитаны индексы филогенетического разнообразия, Шеннона, Симпсона и Чао 1 (табл. 5). Значимые различия между группами контроля и пациентов с

ожирением были обнаружены для индекса филогенетического разнообразия и индекса Чао 1, что свидетельствует о снижении альфа-разнообразия в образцах кала пациентов с ожирением. Однако индекс Шеннона не различался между группами и был значительно выше по сравнению с опубликованными ранее данными для сопоставимой группы пациентов с нарушениями углеводного обмена [10]. Однако такие значения индекса Шеннона не являются экстремальными и встречаются в литературе для образцов кала здоровых людей [11, 12].

При анализе частот обнаружения изучаемых филоотипов МО у пациентов с МЗО и МНЗО значимые отличия обнаружены лишь для *Lentisphaerae*, данный филоотип реже ($p = 0,03$) регистрировался в подгруппе 2b. При анализе количественных показателей значимые ($p = 0,03$) отличия были выявлены для *Bacteroidetes* с повышением их показателей и *Firmicutes* — со снижением показателей в подгруппе 2b.

Были проанализированы частоты обнаружения изучаемых филоотипов МО в подгруппах 2a и 2b по сравнению с аналогичными показателями у здоровых людей (1-я группа) (табл. 6). Выявлены общие тенденции, заключающиеся в 100% обна-

Таблица 4. Значимые отличия количественных показателей для отдельных филоотипов МО в кишечнике у обследуемых, Me [min; max]

Table 4. Significant differences in quantitative variables for some MO phylotypes in the participants' colon, Me [min; max]

Филоотипы Phylotypes	1-я группа Group 1 (n = 129)	2-я группа Group 2 (n = 136)	p
<i>Bacteroidetes</i>	0,3 [0,2; 0,43]	0,38 [0,3; 0,47]	0,0001
<i>Proteobacteria</i>	0,014 [0,0087; 0,028]	0,025 [0,013; 0,052]	<0,0001
<i>Cyanobacteria</i>	0,00027 [0,00014; 0,0014]	0,00059 [0,00021; 0,002]	0,02
<i>Actinobacteria</i>	0,023 [0,012; 0,055]	0,0098 [0,0054; 0,021]	<0,0001
<i>Firmicutes</i>	0,59 [0,48; 0,68]	0,52 [0,43; 0,59]	<0,0001
ТМ7 (<i>Saccharibacteria</i>)	0,000069 [0,000069; 0,00014]	0,00013 [0,00007; 0,00021]	0,04
<i>Fusobacteria</i>	0,000074 [0,000069; 0,00021]	0,00028 [0,000074; 0,0012]	0,007

Таблица 5. Индексы филогенетического разнообразия МО в 1-й и 2-й группах ($M \pm SD$)

Table 5. Indices of the MO phylogenetic diversity in the 1st and 2nd groups ($M \pm SD$)

Индекс Index	1-я группа Group 1 (n = 129)	2-я группа Group 2 (n = 136)	p
Индекс филогенетического разнообразия Phylogenetic diversity index	42,92 ± 7,45	40,30 ± 7,41	0,00111
Индекс Чао 1 Chao1 index	4114,3 ± 1282,0	3771,2 ± 1539,1	0,00705
Индекс Шеннона Shannon index	7,73 ± 0,81	7,60 ± 0,94	0,09153
Индекс Симпсона Simpson index	0,97 ± 0,02	0,97 ± 0,02	0,2184
Число операционных таксономических единиц Number of operational taxonomic units	1993,1 ± 549,67	1895,7 ± 706,28	0,06655

ружении в микробиоме кишечника 5 филотипов (Unassigned; Other, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*) и отсутствием 4 филотипов (*Planctomycetes*, WPS-2 (*Eremiobacterota*), *Gemmatimonadetes* и *Acidobacteria*). В 1-й группе, подгруппах 2a и 2b также по признаку частот обнаружения доминировали *Verrucomicrobia*, *Tenericutes*,

Cyanobacteria. Причём в подгруппе 2a *Tenericutes* и *Lentisphaerae* регистрировали значимо чаще ($p = 0,002$, $p = 0,0009$ соответственно), чем в подгруппе 2b и 1-й группе.

При анализе количественных показателей в исследуемых группах также обнаружены общие тенденции. Количественные характеристики фило-

Таблица 6. Сравнение частот обнаружения филотипов МО у обследуемых 1-й группы, 2a и 2b подгрупп, абс. (%)

Table 6. Comparison of detection frequencies for MO phylotypes in the participants of the 1st group, subgroups 2a and 2b, abs. (%)

Филотипы Phylotypes	1-я группа Group 1	Подгруппа 2a Subgroup 2a	p_{1-2a}	Подгруппа 2b Subgroup 2b	p_{1-2b}
Unassigned;Other	129 (100)	40 (100)	–	55 (100)	–
<i>Actinobacteria</i>	129 (100)	40 (100)	–	55 (100)	–
<i>Bacteroidetes</i>	129 (100)	40 (100)	–	55 (100)	–
<i>Firmicutes</i>	129 (100)	40 (100)	–	55 (100)	–
<i>Proteobacteria</i>	129 (100)	40 (100)	–	55 (100)	–
<i>Verrucomicrobia</i>	110 (85)	35 (88)	1	47 (85)	1
<i>Tenericutes</i>	104 (81)	40 (100)	0,002	50 (91)	0,1
<i>Cyanobacteria</i>	98 (76)	34 (85)	0,8	45 (82)	0,9
<i>Lentisphaerae</i>	73 (57)	35 (88)	0,0009	36 (65)	0,3
<i>Euryarchaeota</i>	55 (43)	20 (50)	0,9	20 (36)	0,9
<i>Elusimicrobia</i>	37 (29)	17 (42)	0,24	11 (20)	0,27
TM7 (<i>Saccharibacteria</i>)	37 (29)	9 (22)	0,54	7 (13)	0,07
<i>Synergistetes</i>	31 (24)	6 (15)	0,6	16 (29)	0,6
<i>Fusobacteria</i>	25 (19)	9 (22)	1	14 (25)	1
<i>Bacteria;Other</i>	8 (6)	3 (8)	1	6 (11)	1
<i>Crenarchaeota</i>	5 (4)	4 (10)	0,44	0	0,44
<i>Chloroflexi</i>	1 (1)	0	1	0	1
<i>Parvarchaeota</i>	1 (1)	0	1	0	1
WS3 (<i>Latescibacteria</i>)	1 (1)	0	1	0	1
<i>Spirochaetes</i>	0	1 (2)	0,7	1 (2)	0,7
<i>Acidobacteria</i>	0	0	–	1 (2)	0,6
<i>Planctomycetes</i>	0	0	–	0	–
WPS-2 (<i>Eremiobacterota</i>)	0	0	–	0	–
<i>Gemmatimonadetes</i>	0	0	–	0	–

Примечание. Парные сравнения осуществлялись с помощью точного теста Фишера с поправкой на множественные сравнения по Холму, «–» — нет вариаций для вычисления p .

Note. Pairwise comparisons were performed by using Fisher's exact test and the Holm correction for multiple comparisons; "–" – no variations for calculation of p .

Таблица 7. Значимые отличия количественных показателей микробиома кишечника у обследуемых, Ме [min; max]

Table 7. Significant differences in intestinal microbiome quantitative variables among the participants, Me [min; max]

Филотипы Phylotypes	1-я группа Group 1	Подгруппа 2a Subgroup 2a	p_{1-2a}	Подгруппа 2b Subgroup 2b	p_{1-2b}
Unassigned;Other	0,021 [0,014; 0,028]	0,038 [0,019; 0,047]	<0,0001	0,028 [0,017; 0,041]	0,03
<i>Actinobacteria</i>	0,023 [0,012; 0,055]	0,013 [0,0076; 0,027]	0,009	0,011 [0,0061; 0,021]	<0,0001
<i>Bacteroidetes</i>	0,3 [0,2; 0,43]	0,35 [0,26; 0,42]	0,6	0,43 [0,34; 0,5]	<0,0001
<i>Firmicutes</i>	0,59 [0,48; 0,68]	0,56 [0,48; 0,59]	0,2	0,46 [0,38; 0,54]	<0,0001
<i>Proteobacteria</i>	0,014 [0,0087; 0,028]	0,019 [0,0092; 0,043]	0,31	0,027 [0,021; 0,055]	<0,0001
<i>Fusobacteria</i>	0,000074 [0,000069; 0,00021]	0,00015 [0,000072; 0,00021]	0,7	0,00055 [0,00014; 0,0018]	0,01

типа Unassigned;Other были значимо повышены, а *Actinobacteria* — снижены в подгруппах 2a и 2b по сравнению с 1-й группой. Однако только в подгруппе 2b ещё были выявлены статистически значимые отличия по 4 филотипам. В частности, количественные характеристики для *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* и *Fusobacteria* были значимо ($p < 0,05$) выше, а для *Firmicutes* — ниже по сравнению с аналогичными показателями в подгруппе 2a и в 1-й группе (табл. 7).

Обсуждение

По результатам анкетирования и анализа пищевого дневника в нашем исследовании значимой разницы в общем потреблении энергии и макро-нутриентов у лиц с двумя фенотипами ожирения не выявлено, что согласуется с результатами большинства других исследований [13]. Однако данные литературы в отношении роли питания в развитии фенотипа МЗО противоречивы [14]. Имеющиеся в настоящее время клинические и экспериментальные данные свидетельствуют о том, что изменения в микробиоме толстой кишки могут являться потенциальным патогенетическим фактором развития ожирения и метаболического синдрома.

Исследования, проведённые на животных моделях и на людях с ожирением, подтвердили специфические изменения в составе микробиома кишечника, однако полученные результаты противоречивы. Так, часть исследователей выявила снижение количества *Bacteroidetes* и увеличение числа *Firmicutes* при ожирении [15, 16]. А. Schwiertz и соавт., напротив, сообщили о значительном увеличении количества *Bacteroidetes* у лиц с ожирением и избыточной массой тела [17]. S.H. Duncan и соавт. вообще не нашли корреляцию между ИМТ и изменениями в соотношении *Firmicutes* и *Bacteroidetes* [18].

Проведённое нами исследование выявило количественные и качественные изменения в микробиоме кишечника как у лиц с ожирением по сравнению со здоровыми людьми, так и между пациентами с разными фенотипами ожирения. При сравнении количественных показателей изучаемых филотипов МО толстой кишки у здоровых людей и пациентов с ожирением были зарегистрированы разнонаправленные статистически значимые отличия для 7 филотипов: повышение изучаемых показателей для *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Cyanobacteria* и снижение — для *Actinobacteria*, *Firmicutes*, TM7 (*Saccharibacteria*), *Fusobacteria*. Несмотря на значимые различия количественных показателей вышеуказанных филотипов, статистически значимые отличия частот их обнаружения в 1-й и 2-й группах не обнаружены. В то же время в группе пациентов с ожирением достоверно чаще ($p < 0,05$) верифицировали *Tenericutes*, *Planctomycetes* и *Lentisphaerae*.

По данным проведённого нами исследования,

частота обнаружения филотипа *Cyanobacteria* в группе контроля и в группе пациентов с ожирением составила 76 и 82% соответственно. Однако, по данным литературы, у людей филотип *Cyanobacteria* в образцах фекалий присутствует в незначительном количестве. Вероятно, в данном исследовании просеквенировались хлоропласты растений из потреблённой пищи людей, т.к. исследование проводилось в летний период, когда растительная пища составляет большую часть пищевого рациона [19].

На сегодняшний день проведено незначительное количество исследований, изучавших роль микробиома кишечника в развитии МЗО. В одном из экспериментальных исследований показано, что микробиом кишечника у мышей с ожирением и сахарным диабетом 2-го типа по сравнению с мышами с МЗО характеризовался 20% уменьшением содержания *Firmicutes* в пользу *Bacteroidetes* со стабильной частотой встречаемости *Actinobacteria* [20]. В нашем исследовании частота встречаемости изучаемых филотипов МО у пациентов с МЗО и МНЗО отличалась только для филотипа *Lentisphaerae*, встречаемость которого была статистически значимо выше у пациентов с МНО. Однако при анализе количественных показателей 24 изучаемых филотипов в подгруппах пациентов с МЗО и МНЗО были выявлены статистически значимые отличия ($p = 0,03$) для двух из них, а именно — *Bacteroidetes* были повышены, а *Firmicutes* снижены в подгруппе больных МНЗО.

Таким образом, микробиом толстой кишки у здоровых людей имеет определённые отличия от такового при ожирении и его различных фенотипах. Однако для установления микробных биомаркёров ожирения и его фенотипов необходимы дальнейшие исследования с анализом не только филотипов МО, верифицированных в кишечнике, но и родовых и видовых характеристик их представителей.

Выводы

1. У здоровых взрослых людей и пациентов с ожирением (на примере жителей Ростова-на-Дону и Ростовской области) в микробиоме кишечника в 100% случаев регистрируют 5 филотипов МО (Unassigned;Other, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*), филотип *Verrucomicrobia* обнаружен у 85 и 88% обследованных соответственно, филотип *Tenericutes* — у 81 и 93%.
2. У пациентов с ожирением в микробиоме кишечника значимо ($p < 0,05$) повышены частоты обнаружения *Tenericutes*, *Planctomycetes* и *Lentisphaerae* по сравнению с аналогичными показателями у здоровых обследуемых.
3. У пациентов с ожирением в микробиоме кишечника статистически значимо ($p < 0,05$) повышены количественные показатели для

- Bacteroidetes*, *Proteobacteria* и снижены — для *Actinobacteria*, *Firmicutes*, ТМ 7 (*Saccharibacteria*), *Fusobacteria* по сравнению с аналогичными у здоровых обследуемых.
- У пациентов с фенотипом МЗО в микробиоме кишечника значимо реже ($p = 0,03$) регистрируют филотип *Lentisphaerae* по сравнению с пациентами с МНЗО.
 - У пациентов с фенотипом МНЗО значимо ($p < 0,05$) повышены количественные характеристики для *Bacteroidetes* и снижены — для *Firmicutes* по сравнению с аналогичными показателями у пациентов с МЗО.
 - Сравнительный анализ по признаку частот обнаружения изучаемых филотипов МО у пациентов с разными фенотипами ожирения и у здоровых людей выявил значимые отличия по двум из них — *Tenericutes* ($p = 0,002$) и *Lentisphaerae* ($p = 0,0009$) только у пациентов с МЗО, но не с МНЗО.
 - У пациентов с МНЗО в микробиоме кишечника значимо ($p < 0,05$) повышены количественные характеристики *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* и снижены — *Firmicutes* по сравнению с аналогичными показателями у здоровых людей.
 - У пациентов с МЗО в микробиоме кишечника значимо ($p < 0,05$) повышены значения количественных показателей для неидентифицированного филотипа (Unassigned;Other) и снижены ($p < 0,05$) — для *Actinobacteria* по сравнению с аналогичными показателями у здоровых людей.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Iacobini C., Pugliese G., Blasetti Fantauzzi C., Federici M., Menini S. Metabolically healthy versus metabolically unhealthy obesity. *Metabolism*. 2019; 92: 51–60. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.11.009>
- Brandão I., Martins M.J., Monteiro R. Metabolically healthy obesity-heterogeneity in definitions and unconventional factors. *Metabolites*. 2020; 10(2): 48. <https://doi.org/10.3390/metabo10020048>
- Zhi C., Huang J., Wang J., Cao H., Bai Y., Guo J., et al. Connection between gut microbiome and the development of obesity. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2019; 38(11): 1987–98. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03623-x>
- Rinninella E., Raoul P., Cintoni M., Franceschi F., Miggiano G.A.D., Gasbarrini A., et al. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms*. 2019; 7(1): 14. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014>
- Turnbaugh P.J., Ley R.E., Mahowald M.A., Magrini V., Mardis E.R., Gordon J.I. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006; 444(7122): 1027–31. <https://doi.org/10.1038/nature05414>
- Волкова Н.И., Ганенко Л.А., Головин С.Н. Роль микробиоты кишечника в развитии ожирения и его метаболического профиля. (Часть II). *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2019; 14(2): 391–6. <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14098>
- Arumugam M., Raes J., Pelletier E., Le Paslier D., Yamada T.,

- Mende D.R., et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011; 473(7346): 174–80. <https://doi.org/10.1038/nature09944>
- Harakeh S.M., Khan I., Kumosani T., Barbour E., Almasaudi S.B., Bahjiri S.M., et al. Gut microbiota: a contributing factor to obesity. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2016; 6: 95. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00095>
 - Меньшиков В.В. *Методики клинических лабораторных исследований*. М.: Лабора; 2009.
 - Егшатын Л.В., Ткачева О.Н., Каштанова Д.А., Дудинская Е.Н., Бойцов С.А. «Маркерные» изменения состава микробиоты кишечника у пациентов с нарушениями углеводного обмена. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2019; (12): 51–60. <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-172-12-51-60>
 - Odamaki T., Kato K., Sugahara H., Hashikura N., Takahashi S., Xiao J.Z., et al. Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study. *BMC Microbiol.* 2016; (16): 90. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0708-5>
 - Nakayama J., Yamamoto A., Palermo-Conde L.A., Higashi K., Sonomoto K., Tan J., et al. Impact of westernized diet on gut microbiota in children on Leyte Island. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 197. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00197>
 - Smith G.I., Mittendorfer B., Klein S. Metabolically healthy obesity: facts and fantasies. *J. Clin. Invest.* 2019; 129(10): 3978–89. <https://doi.org/10.1172/JCI129186>
 - Camhi S.M., Whitney Evans E., Hayman L.L., Lichtenstein A.H., Must A. Healthy eating index and metabolically healthy obesity in U.S. adolescents and adults. *Prev. Med.* 2015; 77: 23–7. <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2015.04.023>
 - Ley R.E., Bäckhed F., Turnbaugh P., Lozupone C.A., Knight R.D., Gordon J.I. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2005; 102(31): 11070–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504978102>
 - Gérard P. Gut microbiota and obesity. *Cell Mol. Life Sci.* 2016; 73(1): 147–62. <https://doi.org/10.1007/s00018-015-2061-5>
 - Schwartz A., Taras D., Schäfer K., Beijer S., Bos N.A., Donus C., et al. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity (Silver Spring)*. 2010; 18(1): 190–5. <https://doi.org/10.1038/oby.2009.167>
 - Duncan S.H., Lobley G.E., Holtrop G., Ince J., Johnstone A.M., Louis P., et al. Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. *Int. J. Obes. (Lond)*. 2008; 32(11): 1720–4. <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.155>
 - Mitra S., Förster-Fromme K., Damms-Machado A., Scheurenbrand T., Biskup S., Huson D.H., et al. Analysis of the intestinal microbiota using SOLiD 16S rRNA gene sequencing and SOLiD shotgun sequencing. *BMC Genomics*. 2013; 14(Suppl. 5): S16. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-S5-S16>
 - Rial S.A., Karelis A.D., Bergeron K.F., Mounier C. Gut microbiota and metabolic health: The potential beneficial effects of a medium chain triglyceride diet in obese individuals. *Nutrients*. 2016; 8(5): 281. <https://doi.org/10.3390/nu8050281>

REFERENCES

- Iacobini C., Pugliese G., Blasetti Fantauzzi C., Federici M., Menini S. Metabolically healthy versus metabolically unhealthy obesity. *Metabolism*. 2019; 92: 51–60. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.11.009>
- Brandão I., Martins M.J., Monteiro R. Metabolically healthy obesity-heterogeneity in definitions and unconventional factors. *Metabolites*. 2020; 10(2): 48. <https://doi.org/10.3390/metabo10020048>
- Zhi C., Huang J., Wang J., Cao H., Bai Y., Guo J., et al. Connection between gut microbiome and the development of obesity. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2019; 38(11): 1987–98. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03623-x>

4. Rinninella E., Raoul P., Cintoni M., Franceschi F., Miggianno G.A.D., Gasbarrini A., et al. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms*. 2019; 7(1): 14. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014>
5. Turnbaugh P.J., Ley R.E., Mahowald M.A., Magrini V., Mardis E.R., Gordon J.I. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006; 444(7122): 1027–31. <https://doi.org/10.1038/nature05414>
6. Volkova N.I., Ganenko L.A., Golovin S.N. The role of gut microbiota in the development of obesity and its metabolic profile (Part II). *Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza*. 2019; 14(2): 391–6. <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14098> (in Russian)
7. Arumugam M., Raes J., Pelletier E., Le Paslier D., Yamada T., Mende D.R., et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011; 473(7346): 174–80. <https://doi.org/10.1038/nature09944>
8. Harakeh S.M., Khan I., Kumosani T., Barbour E., Almasaudi S.B., Bahijri S.M., et al. Gut microbiota: a contributing factor to obesity. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2016; 6: 95. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00095>
9. Men'shikov V.V. *Clinical Laboratory Techniques [Metodiki klinicheskikh laboratornykh issledovaniy]*. Moscow: Labora; 2009. (in Russian)
10. Egshatyan L.V., Tkacheva O.N., Kashtanova D.A., Dudinskaya E.N., Boytsov S.A. “Marker” changes in the composition of gut microbiota in patients with disorders of carbohydrate metabolism. *Ekspieriment'naya i klinicheskaya gastroenterologiya*. 2019; (12): 51–60. <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-172-12-51-60> (in Russian)
11. Odamaki T., Kato K., Sugahara H., Hashikura N., Takahashi S., Xiao J.Z., et al. Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study. *BMC Microbiol.* 2016; (16): 90. <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0708-5>
12. Nakayama J., Yamamoto A., Palermo-Conde L.A., Higashi K., Sonomoto K., Tan J., et al. Impact of westernized diet on gut microbiota in children on Leyte Island. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 197. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00197>
13. Smith G.I., Mittendorfer B., Klein S. Metabolically healthy obesity: facts and fantasies. *J. Clin. Invest.* 2019; 129(10): 3978–89. <https://doi.org/10.1172/JCI129186>
14. Camhi S.M., Whitney Evans E., Hayman L.L., Lichtenstein A.H., Must A. Healthy eating index and metabolically healthy obesity in U.S. adolescents and adults. *Prev. Med.* 2015; 77: 23–7. <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2015.04.023>
15. Ley R.E., Bäckhed F., Turnbaugh P., Lozupone C.A., Knight R.D., Gordon J.I. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2005; 102(31): 11070–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504978102>
16. Gérard P. Gut microbiota and obesity. *Cell Mol. Life Sci.* 2016; 73(1): 147–62. <https://doi.org/10.1007/s00018-015-2061-5>
17. Schwiertz A., Taras D., Schäfer K., Beijer S., Bos N.A., Donus C., et al. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity (Silver Spring)*. 2010; 18(1): 190–5. <https://doi.org/10.1038/oby.2009.167>
18. Duncan S.H., Lobley G.E., Holtrop G., Ince J., Johnstone A.M., Louis P., et al. Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. *Int. J. Obes. (Lond)*. 2008; 32(11): 1720–4. <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.155>
19. Mitra S., Förster-Fromme K., Damms-Machado A., Scheurenbrand T., Biskup S., Huson D.H., et al. Analysis of the intestinal microbiota using SOLiD 16S rRNA gene sequencing and SOLiD shotgun sequencing. *BMC Genomics*. 2013; 14(Suppl. 5): S16. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-S5-S16>
20. Rial S.A., Karelis A.D., Bergeron K.F., Mounier C. Gut microbiota and metabolic health: The potential beneficial effects of a medium chain triglyceride diet in obese individuals. *Nutrients*. 2016; 8(5): 281. <https://doi.org/10.3390/nu8050281>

Информация об авторах

Гапонов Андрей Михайлович — к.м.н., зав. отделом инфекционной иммунологии Института цифровой и трансляционной биомедицины ООО «Центр молекулярного здоровья», Москва, Россия; зав. лаб. инфекционной иммунологии НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3429-1294>

Волкова Наталья Ивановна — д.м.н., проф.; проректор по научной работе, зав. каф. внутренних болезней №3 РостГМУ, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4874-7835>

Ганенко Лилия Александровна — ассистент каф. внутренних болезней №3 РостГМУ, Ростов-на-Дону, Россия, ganenko.lilia@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3381-9894>

Набока Юлия Лазаревна — д.м.н., проф., зав. каф. микробиологии и вирусологии №1, РостГМУ, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0937-4573>

Маркелова Мария Ивановна — м.н.с. НИЛ «Омиксные технологии» Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета, Казань, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7445-2091>

Синягина Мария Николаевна — м.н.с. НИЛ «Омиксные технологии» Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета, Казань, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8138-9235>

Харченко Анастасия Михайловна — м.н.с. НИЛ «Омиксные технологии» Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета, Казань, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9491-1694>

Хуснутдинова Дилара Рашидовна — м.н.с. НИЛ «Омиксные технологии» Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета, Казань, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9982-9059>

Information about the authors

Andrey M. Gaponov — Cand. Sci. (Med.), Head, Department of Infectious Immunology, Center of Digital and Translational Biomedicine, Center for Molecular Health, Moscow, Russia; Head, Laboratory of Infectious Immunology, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3429-1294>

Natalia I. Volkova — D. Sci. (Med.), Professor, Vice-rector for scientific work, Head, Department of Internal Diseases N 3, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4874-7835>

Liliya A. Ganenko — assistant, Department of Internal Diseases N 3, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia, ganenko.lilia@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3381-9894>

Yulia L. Naboka — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of microbiology and virology N 1, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0937-4573>

Maria I. Markelova — junior researcher, Research laboratory “Omics technologies”, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7445-2091>

Maria N. Siniagina — junior researcher, Research laboratory “Omics technologies”, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8138-9235>

Anastasia M. Kharchenko — junior researcher, Research laboratory “Omics technologies”, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University, Kazan, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9491-1694>

Dilyara R. Khusnutdinova — junior researcher, Research laboratory “Omics technologies”, Institute of Fundamental Medicine and Biology,

Румянцев Сергей Александрович — д.м.н., проф., член-корр. РАН, директор Центра цифровой и трансляционной биомедицины «Центр молекулярного здоровья», Москва, Россия; зав. каф. онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7418-0222>

Тутельян Алексей Викторович — д.м.н., член-корр. РАН, зам. директора Центра цифровой и трансляционной биомедицины ООО «Центр молекулярного здоровья» Москва, Россия; зав. отделом молекулярной иммунологии, инфектологии и фармакотерапии и лабораторией молекулярной визуализации НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, Москва, Россия; зав. лаб. инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи ЦНИИ эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-2706-6689>

Макаров Валентин Владимирович — к.б.н., зав. отделом анализа и прогнозирования медико-биологических рисков здоровью человека Центра стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью ФМБА, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9495-0266>

Юдин Сергей Михайлович — д.м.н., проф., генеральный директор Центра стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью ФМБА, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7942-8004>

Шестопалов Александр Вячеславович — д.м.н., проф., зам. директора Центра цифровой и трансляционной биомедицины «Центр молекулярного здоровья», Москва, Россия; директор управления последипломного образования, ординатуры, аспирантуры НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, Москва, Россия; зав. каф. биохимии и молекулярной биологии лечебного факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1428-7706>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

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

Статья поступила в редакцию 16.07.2020;
принята к публикации 18.02.2021;
опубликована 20.04.2021.

gy, Kazan Federal University, Kazan, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9982-9059>.

Sergey A. Roumiantsev — D. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, director, Center for Molecular Health, Moscow, Russia; Head, Department of oncology and hematology and radiotherapy of the Pediatric faculty, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7418-0222>

Aleksey V. Tutelyan — D. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Deputy director, Center for Molecular Health, Moscow, Russia; Head, Department of molecular immunology, infectology and pharmacotherapy and the Molecular imaging laboratory, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia; Head, Laboratory of infections associated with the provision of medical care, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-2706-6689>

Valentin V. Makarov — Cand. Sci. (Biol.), Head, Department of analysis and forecasting of medical and biological risks to human health, Center for Strategic Planning and Management of Medical and Biological Health Risks, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9495-0266>

Sergey M. Yudin — D. Sci. (Med.), Professor, General Director, Center for Strategic Planning and Management of Medical and Biological Health Risks, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7942-8004>

Alexander V. Shestopalov — D. Sci. (Med.), Professor, Deputy director, Center of Digital and Translational Biomedicine, Center for Molecular Health, Moscow, Russia; Director, Department of postgraduate education, residency, postgraduate studies, Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia, Head, Department of biochemistry and molecular biology, Medical faculty, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1428-7706>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 16.07.2020;
accepted for publication 18.02.2021;
published 20.04.2021.

Научная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-28>

Влияние иммуномодуляции на внутриклеточную экспрессию цитокинов Т-хелперами селезёнки мышей, иммунизированных *Yersinia pestis* EV НИИЭГ

Клюева С.Н.[✉], Гончарова А.Ю., Кравцов А.Л., Бугоркова С.А.

Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Россия

Аннотация

Цель работы — охарактеризовать внутриклеточную экспрессию цитокинов Т-хелперами селезенки и спонтанную продукцию цитокинов в крови мышей линии BALB/c, иммунизированных *Yersinia pestis* EV НИИЭГ на фоне иммуномодуляции.

Материалы и методы. Внутриклеточную экспрессию CD4⁺IFN- γ ⁺, CD4⁺IL-4⁺, CD4⁺IL-17⁺ определяли в суспензии клеток селезенки мышей методом проточной цитометрии, а IFN- γ и IL-10 — в супернатантах крови методом иммуноферментного анализа на 3-и и 21-е сутки после иммунизации *Y. pestis* EV НИИЭГ на фоне иммуномодуляции. Заражение животных *Y. pestis* 231 в дозе 400 LD₅₀ проводили на 21-е сутки после иммунизации.

Результаты. Выявлены различия в цитокиновом ответе при введении исследуемых препаратов, коррелирующие с уровнем CD4⁺IFN- γ ⁺ у животных. Так, на 3-и сутки установлено достоверное снижение CD4⁺IFN- γ ⁺ при введении *Y. pestis* EV НИИЭГ и препарата рекомбинантного γ -интерферона (ингарон). В ответ на применение вакцинного штамма с азоксимером бромида (полиоксидоний) регистрировали значимое повышение CD4⁺IFN- γ ⁺. На 21-е сутки внутриклеточная экспрессия всех исследуемых цитокинов IFN- γ , IL-4 и IL-17 увеличивалась в среднем в 2,3 раза при использовании иммуномодуляторов в схеме иммунизации. Кроме того, на 21-е сутки регистрировали достоверное ($p < 0,05$) увеличение доли Т-хелперов, экспрессирующих IFN- γ , а также уровня спонтанной продукции IFN- γ в супернатантах крови только у животных, иммунизированных с применением схем, включающих иммуномодуляторы. При заражении *Y. pestis* 231 животных, предварительно иммунизированных в сочетании с полиоксидонием, методом корреляционного анализа подтверждена связь ($r = 0,94$; $p = 0,0004$) выживаемости мышей с интенсивностью экспрессии CD4⁺IFN- γ ⁺.

Заключение. Полученные данные подтверждают эффективность применения полиоксидония в схемах иммунизации экспериментальных животных *Y. pestis* EV НИИЭГ и информативность оценки степени протекции, создаваемой иммунизацией, по результатам внутриклеточной экспрессии цитокинов.

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, азоксимера бромид, рекомбинантный интерферон-гамма, Т-хелперы, цитокины, проточная цитометрия

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23.07.2010). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом РосНИПЧИ «Микроб».

Источник финансирования. Исследование выполнено при поддержке бюджетного финансирования в рамках темы НИР № АААА-А16-118011590103-А.

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

Для цитирования: Клюева С.Н., Гончарова А.Ю., Кравцов А.Л., Бугоркова С.А. Влияние иммуномодуляции на внутриклеточную экспрессию цитокинов Т-хелперами селезёнки мышей, иммунизированных *Yersinia pestis* EV НИИЭГ. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98(2): 156–162. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-28>

Influence of immunomodulation on intracellular cytokine expression by spleen T-helpers of mice immunized by *Yersinia pestis* EV NIEG

Svetlana N. Klyueva[✉], Anastasiya Yu. Goncharova, Aleksandr L. Kravtsov, Svetlana A. Bugorkova

Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russia

Abstract

Aim. To characterize the intracellular expression of cytokines by spleen T-helpers and the spontaneous production of cytokines in the blood of BALB/c mice immunized with *Yersinia pestis* EV NIEG against the background of immunomodulation.

Materials and methods. Intracellular expression of CD4⁺IFN- γ ⁺, CD4⁺IL-4⁺, CD4⁺IL-17⁺ was determined in mice spleen cell suspensions by flow cytometry, IFN- γ and IL-10 were measured in ELISA in blood supernatants on day 3 and day 21 after the immunization with *Y. pestis* EV against the background of immunomodulation. On day 21 after the immunization animals were infected by *Y. pestis* 231 at a dose of 400 LD₅₀.

Results. Differences in cytokine response to studied drugs, correlated with CD4⁺IFN- γ ⁺ levels in animals, were identified. On day 3, a significant decrease in CD4⁺IFN- γ ⁺ was observed in response to *Y. pestis* EV and to recombinant gamma interferon (Ingaron). A significant increase in CD4⁺IFN- γ ⁺ was detected in response to vaccine strain administered with azoximer bromide (Polyoxidonium). Intracellular expression of IFN- γ , IL-4 and IL-17 increased on day 21 by an average of 2,3 times when immunomodulators were used in the immunization schedule. In addition, on day 21 a significant ($p < 0.05$) increase in the proportion of T-helpers expressing IFN- γ , as well as in level of spontaneous IFN- γ production in blood supernatants was observed only in animals immunized by schedules that included immunomodulators. After the challenge with *Y. pestis* 231 of animals previously immunized by schedules that included Polyoxidonium, the correlation analysis confirmed the association ($r = 0,94$; $p = 0,0004$) of mice survival with intensity of CD4⁺IFN- γ ⁺ expression.

Conclusion. The data obtained confirm the effectiveness of Polyoxidonium application in experimental animal *Y. pestis* EV immunization schedule and the usefulness of intracellular cytokine expression measurement for assessment of the level of protection following the immunization.

Keywords: *Yersinia pestis*, azoximer bromide, recombinant gamma interferon, T-helper cells, cytokines, flow cytometry

Ethics approval. Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23 July 2010). The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe».

Funding source. The study was supported by budget funding within the framework of the research topic No AAA-A-16-118011590103-A.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Klyueva S.N., Goncharova A.Yu., Kravtsov A.L., Bugorkova S.A. Influence of immunomodulation on intracellular cytokine expression by spleen T-helpers of mice immunized by *Yersinia pestis* EV NIEG. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2021;98(2): 156–162. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-49>

Введение

Применение иммуномодуляторов — это один из способов воздействия на реактивность клеток иммунной системы для повышения эффективности вакцинации, в том числе против чумы [1]. В России зарегистрирован ряд веществ, обладающих иммуномодулирующими и адьювантными свойствами, охарактеризован их иммуномодулирующий потенциал. Так, адьювантные свойства азоксимера бромид (полиоксидоний, ПО) и рекомбинантного интерферона-гамма (IFN- γ , ингарон) используют в составе различных вакцин [2]. Экспериментально доказан модулирующий эффект

ПО при сочетанном применении с *Yersinia pestis* EV НИИЭГ, выражающийся в стимуляции процесса антителообразования, повышении эффективности протективных характеристик вакцинного штамма и в снижении его цитотоксического воздействия на иммунную систему биомоделей [3–6].

В зависимости от набора секретируемых цитокинов, факторов транскрипции и путей передачи сигналов эффекторные CD4⁺-Т-хелперные лимфоциты подразделяются на Th1-, Th2-, Th9-, Th17-, Th22- и Tfh-субпопуляции [7]. В защите организма от инфекции важную роль играют продуцируемые Т-клетками цитокины, которые, например, в виде

рекомбинантных препаратов широко используют в качестве адьювантов и для повышения эффективности специфической профилактики против ряда инфекционных заболеваний, включая чуму [2].

Определение содержания цитокинов в активированных Т-клетках и биологических жидкостях проводят для оценки эффективности защиты в модельных экспериментах при разработке вакцин против чумы и для оценки выраженности противочумного иммунитета [8, 9]. Если концентрация цитокинов в сыворотке или других биологических жидкостях показывает текущее состояние иммунной системы, определение уровня продукции цитокинов мононуклеарами крови отражает функциональное состояние клеток (спонтанная продукция) или их потенциальную способность отвечать на антигенный стимул (индуцированная продукция), то метод внутриклеточного окрашивания цитокинов дает возможность, применяя проточную цитофлюориметрию, определять популяционную принадлежность клеток, продуцирующих тот или иной цитокин [10].

Определение экспрессии цитокинов в стимулированных *in vitro* специфическим антигеном Т-лимфоцитах-хелперах применяли при клинических испытаниях вакцин против туберкулеза, менингита и малярии [10, 11], для оценки клеточного ответа у мышей, иммунизированных антигенами чумного микроба [12].

Цель работы — охарактеризовать внутриклеточную экспрессию цитокинов (IFN- γ , IL-4, IL-17) Т-хелперами селезенки и спонтанную продукцию цитокинов (IFN- γ , IL-10) в супернатантах крови мышей линии BALB/c, иммунизированных *Yersinia pestis* EV НИИЭГ на фоне иммуномодуляции.

Материалы и методы

В работе использовали вакцинный (*Y. pestis* EV НИИЭГ) и вирулентный (*Y. pestis* 231) штам-

мы чумного микроба, полученные из «Государственной коллекции патогенных бактерий» (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»). Культуру *Y. pestis* выращивали на агаре Хоттингера (рН 7,2) в течение 48 ч при $28 \pm 1^\circ\text{C}$. Взвесь *Y. pestis* с концентрацией 10^9 КОЕ готовили в 0,9% растворе NaCl рН 7,2 по стандартному образцу мутности ОСО 42-28-59-85П. Методом последовательных разведений доводили концентрацию клеток до 1×10^2 КОЕ. Фактическое содержание микробных клеток в 0,1 мл взвеси контролировали путем высева на 3 чашки Петри с агаром Хоттингера.

Экспериментальной моделью служили 270 мышей линии BALB/c массой 20 ± 5 г, полученные из отдела экспериментальных животных с виварием РосНИПЧИ «Микроб». Мыши были разделены на 3 опытных и контрольную группы (табл. 1).

Животных 1-й группы подкожно иммунизировали 2-суточной культурой *Y. pestis* EV НИИЭГ в концентрации $2,5 \times 10^4$ КОЕ. Мышам 2-й группы за 1 ч до иммунизации вводили ингарон («Фармаклон») в дозе 150 МЕ, а 3-й группы — ПО («ПетроваксФарм») в дозе 4 мкг. Контрольную группу (4-ю) составили интактные мыши.

Работу с животными проводили в соответствии с международными принципами «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей» ETS N 123 (Страсбург, 1986), Приказом Минздрава РФ от 01.04.2016 № 199Н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики», положительным заключением Этического комитета при ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» (протокол № 1 от 15.01.2019).

Мышей выводили из эксперимента на 3-и и 21-е сутки иммуногенеза, выделяли кровь и селезенку. По общепринятому методу готовили взвесь клеток селезенки в концентрации 10^6 клеток/мл в сре-

Таблица 1. Схема исследования*

Table 1. Study design*

Группа / Group	Схема иммунизации / Immunization schedule	Заражение / Infection	Количество животных / Number of animals
1	<i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ ($2,5 \times 10^4$ КОЕ)	–	40
	<i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ ($2,5 \times 10^4$ КОЕ) <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ ($2,5 \times 10^4$ КОЕ) <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ ($2,5 \times 10^4$ КОЕ)	<i>Y. pestis</i> 231 (400 LD ₅₀)	30
2	<i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ ($2,5 \times 10^4$ КОЕ + Ингарон)	–	40
	<i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ ($2,5 \times 10^4$ КОЕ + Ингарон) <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ ($2,5 \times 10^4$ КОЕ + Ингарон) <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ ($2,5 \times 10^4$ КОЕ + Ингарон)	<i>Y. pestis</i> 231 (400 LD ₅₀)	30
3	<i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ ($2,5 \times 10^4$ КОЕ + ПО)	–	40
	<i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ ($2,5 \times 10^4$ КОЕ + ПО) <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ ($2,5 \times 10^4$ КОЕ + ПО) <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ ($2,5 \times 10^4$ КОЕ + ПО)	<i>Y. pestis</i> 231 (400 LD ₅₀)	30
4	Контроль / Control	–	30
	Контроль / Control	<i>Y. pestis</i> 231 (400 LD ₅₀)	30

Примечание. *Все этапы исследования выполнялись в 3 повторях.

Note. *All steps of the study were performed in 3 repetitions.

де RPMI-1640 с гентамицином (100 мкг/мл). Для определения процентного содержания Т-хелперов и доли клеток, положительных по экспрессии IFN- γ , IL-4, IL-17, использовали коммерческий набор «Mouse Th1/Th2/Th17 Phenotyping Kit» («BD Biosciences»), который применяли в соответствии с инструкцией производителя. Готовые окрашенные клеточные суспензии анализировали на проточном цитофлюориметре «BD Accuri C6 Plus Flow Cytometer» («Becton Dickinson»). Методом проточной цитометрии во взвесах клеток селезенки по параметрам светорассеяния (размеру и степени гранулярности) дифференцировали лимфоциты и фагоциты, чтобы определить в исследуемых образцах соотношение лимфоцитов и клеток врождённого иммунитета [4].

Гепаринизированную мышиную кровь разводили в соотношении 1 : 4 средой RPMI-1640 с 100 мкг/мл гентамицина. Образцы инкубировали в течение 24 ч при 37°C, затем осаждали центрифугированием при 300g в течение 15 мин, отбирали супернатанты. Спонтанную продукцию цитокинов определяли в супернатантах крови методом иммуоферментного анализа (ИФА) с помощью коммерческих наборов для определения IFN- γ и IL-10 («eBioscience»). Исследования выполняли на автоматическом иммуоферментном анализаторе «Lazurit» («Dynex Technologies») при длине волны 450 нм.

На 21-е сутки иммуногенеза часть животных заражали *Y. pestis* 231 в дозе 400 LD₅₀ (3600 КОЕ). За зараженными животными наблюдали в течение 21 сут. Результат оценивали по количеству выживших животных.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием стандартного пакета программ «Microsoft Office Excel 2016», «Statistica v.10.0» («StatSoft Inc.»). Взаимосвязь между переменными определяли с помощью ран-

гового корреляционного анализа по Спирмену. Достоверность различий сравниваемых величин оценивали с помощью парного *t*-критерия Стьюдента. Данные представляли в виде средней и средней квадратической ошибки средней арифметической.

Результаты и обсуждение

Основными клетками селезенки мышей были лимфоциты, доля которых изменялась в диапазоне 71–85%. Лишь у мышей 3-й группы на 21-е сутки иммуногенеза отмечали достоверное ($p < 0,05$) снижение общего количества лимфоцитов по отношению к интактным животным, но при этом регистрировали заметное увеличение среди них доли Т-хелперов (табл. 2). В то же время во 2-й группе на 3-и сутки после иммунизации отмечали на фоне 85,8% лимфоцитов снижение доли Т-хелперов до 29,1% (в контроле 34,6%). В целом значимого влияния применённых схем иммунизации на субпопуляционный состав лимфоцитов крови не выявлено.

При оценке внутриклеточной экспрессии IFN- γ Т-хелперами селезенки у иммунизированных мышей установлено, что уже на 3-и сутки отмечается статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение доли CD4⁺IFN- γ ⁺-клеток (табл. 2), исключением была реакция животных во 2-й группе, где этот показатель был в 1,5 раза ниже ($p < 0,05$), чем в контрольной группе. Возможно, такая реакция Т-хелперов у мышей, иммунизированных *Y. pestis* в сочетании с ингаляцией, обусловлена повышением секреции цитокина во внеклеточное пространство. В пользу этого положения свидетельствуют данные по значительному увеличению спонтанной продукции IFN- γ мононуклеарами крови (до 78,8 пг/мл), выявленному методом ИФА.

К 21-м суткам наблюдения регистрировали достоверное ($p < 0,05$) увеличение доли Т-хелперов, экспрессирующих IFN- γ , а также уровня спонтанной продукции IFN- γ в супернатантах крови толь-

Таблица 2. Влияние иммуномодуляторов на показатели клеточного иммунитета мышей линии BALB/c, иммунизированных *Y. pestis* EV НИИЭГ ($M \pm m$)

Table 2. The effect of immunomodulators on the cellular immunity of BALB/c mice immunized with *Y. pestis* EV NIEG ($M \pm m$)

Группа Group	Сутки Day	Общее количество лимфоцитов, % Total amount of lymphocytes, %	Доля Т-хелперов CD4 ⁺ , % The proportion of T-helpers CD4 ⁺ , %	IFN- γ в супернатантах крови, пг/мл IFN- γ in blood supernatants, pg/ml	CD4 ⁺ IFN- γ ⁺ , %	CD4 ⁺ IL-4 ⁺ , %	CD4 ⁺ IL-17 ⁺ , %
1	3	78,8 ± 1,4	32,0 ± 0,4	58,3 ± 3,06*	20,8 ± 2,9*	4,3 ± 0,3*	12,2 ± 1,1
	21	82,0 ± 1,9	31,8 ± 1,9	54,1 ± 3,4*	18,4 ± 2,5	2,3 ± 0,2	13,3 ± 2,0*
2	3	85,8 ± 1,7	29,1 ± 1,2	78,8 ± 4,6*	10,4 ± 0,7*	1,3 ± 0,2*	5,7 ± 1,1
	21	71,8 ± 4,6	37,9 ± 1,9	58,9 ± 5,35*	20,9 ± 2,4*	4,4 ± 0,7*	21,0 ± 2,3*
3	3	79,1 ± 4,3	30,6 ± 1,4	57,2 ± 2,2*	26,1 ± 2,5*	2,2 ± 0,2	9,9 ± 1,0
	21	60,2 ± 2,7*	47,4 ± 1,1*	47,9 ± 1,05*	44,4 ± 2,6*	6,1 ± 0,5*	31,2 ± 3,7*
4	–	81,2 ± 4,8	34,6 ± 1,3	28,2 ± 3,23	16,3 ± 1,6	2,6 ± 0,4	8,3 ± 2,1

Примечание. * $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Note. * $p < 0,05$ compared to control.

ко у животных, иммунизированных с применением схем, включающих иммуномодуляторы.

На 3-и сутки иммуногенеза применённые схемы иммунизации отличались и по реакции $CD4^+IL-4^+$. Так, если у мышей в 1-й группе экспрессия $IL-4^+$ была выше в 1,7 раза, чем у интактных животных, а во 2-й группе — в 2 раза ниже, то в 3-й группе регистрировали реакцию на уровне контроля. К 21-м суткам после иммунизации только в группах мышей, иммунизированных в сочетании с иммуномодуляторами, отмечали достоверное увеличение доли $CD4^+IL-4^+$ -клеток.

На 3-и сутки после иммунизации аналогичная тенденция была прослежена и относительно $CD4^+IL-17^+$ -клеток. Доля Т-хелперов, синтезирующих $IL-17$, достоверно ($p < 0,05$) повышалась во всех трёх опытных группах только на 21-е сутки иммуногенеза. В этот период у мышей, привитых живой чумной вакциной, формируется, как известно, наиболее напряжённый противочумный иммунитет [4].

Из полученных данных следует, что применённые схемы иммунизации мышей отличались по своей реакции со стороны $CD4^+IFN-\gamma^+$, $CD4^+IL-4^+$, $CD4^+IL-17^+$ -клеток преимущественно в нестерильной фазе формирования противочумного иммунитета.

Отсутствие ингибирующего эффекта на внутриклеточное накопление $IFN-\gamma$ в Т-хелперах на ранней стадии иммуногенеза при включении в схемы иммунизации ПО укладывается в ранее выявленную способность этого иммуномодулятора стимулировать как раннюю фазу антигенспецифического противочумного иммунного ответа, ускоряя появление и исчезновение лимфоцитов с рецепторами к капсульному антигену (F1) *Y. pestis*, так и его эффекторную фазу, способствуя более раннему развитию антительного ответа [5].

Максимальное увеличение показателей $CD4^+IFN-\gamma^+$, $CD4^+IL-4^+$, $CD4^+IL-17^+$, зарегистрированное в 3-й группе на 21-е сутки ($p < 0,05$), возможно, объясняется комплементарным действием $IL-17$ и $IFN-\gamma$, что согласуется с данными зарубежных исследователей, продемонстрировавших синергическое участие этих цитокинов в коорди-

нации антимикробного потенциала нейтрофилов и макрофагов в защите от острой легочной чумы [13]. Кроме того, способность ПО повышать уровень экспрессии $IFN-\gamma$ в Т-хелперах свидетельствует о формировании в организме приобретённого поствакцинального иммунитета, оцениваемого по изменению продукции именно этого цитокина [14].

При анализе взаимосвязи относительных количеств $CD4^+$ -Т-хелперов, синтезирующих цитокины, с общим содержанием $CD3^+CD4^+$ -клеток в процессе иммуногенеза выявлен ряд корреляционных связей: в 1-й группе — для $CD4^+IFN-\gamma^+$ и $CD4^+IL-17^+$ ($r = 0,83-0,88$; $p = 0,04$), а во 2-й группе — для $CD4^+IFN-\gamma^+$, $CD4^+IL-4^+$, $CD4^+IL-17^+$ ($r = 0,83-0,94$; $p = 0,02$).

Нормальное функционирование иммунной системы строится на балансе Th1- и Th2-клеток, обусловленном продукцией этими клетками определенных регуляторных цитокинов. Для характеристики направленности сдвига функционального баланса в системе Th1/Th2-клеток сравнили изменение соотношения в культуре спленоцитов — $CD4^+IFN-\gamma^+/CD4^+IL-4^+$ и в супернатантах крови — Th1- и Th2-ассоциированных цитокинов ($IFN-\gamma/IL-10$). Из данных, приведенных в табл. 3, следует, что во всех опытных группах соотношение $CD4^+IFN-\gamma^+/CD4^+IL-4^+$ было значимо больше 1,0 и превышало аналогичный показатель у интактных мышей, что подтверждало популяционное превалирование активированных Th1-клеток у животных, иммунизированных против чумы. В то же время, ориентируясь только на оценку функционального состояния мононуклеаров по спонтанной продукции Th1- и Th2-ассоциированных цитокинов в супернатантах крови, можно не вполне адекватно оценить факт снижения соотношения $IFN-\gamma/IL-10$, трактуя его как смещение в сторону Th2-ответа. В комплексе характеристика как популяционной принадлежности активированных клеток, так и их функционального состояния позволяет более точно определять направленность иммунологических реакций у иммунизированных животных.

На 21-е сутки после иммунизации *Y. pestis* EV НИИЭГ в концентрации $2,5 \times 10^4$ КОЕ, а также в

Таблица 3. Коэффициенты соотношений Th1- и Th2-клеток и ассоциированных с ними цитокинов ($M \pm m$)

Table 3. Ratios of Th1 cells to Th2 cells and their associated cytokines ($M \pm m$)

Группа Group	$CD4^+IFN-\gamma^+/CD4^+IL-4^+$		$IFN-\gamma/IL-10$	
	3-и сутки / day 3	21-е сутки / day 21	3-и сутки / day 3	21-е сутки / day 21
1	6,02 ± 0,37	7,87 ± 0,35	1,94 ± 0,19*	3,59 ± 0,67
2	7,05 ± 0,15	6,7 ± 1,19	2,39 ± 0,22	1,38 ± 0,2*
3	11,78 ± 0,48*	7,27 ± 0,34	0,89 ± 0,07*	0,96 ± 0,02*
4	5,82 ± 0,47		2,73 ± 0,18	

Примечание. * $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Note. * $p < 0,05$ compared to control.

сочетании с иммуномодуляторами по 10 животных из каждой группы заражали подкожно 400 LD₅₀ вирулентного штамма *Y. pestis* 231. Наблюдение за мышами проводили в течение 21 сут, учитывая количество выживших животных в группах. Установлено, что в 1-й группе выжили 9 животных при средней продолжительности жизни $5,1 \pm 0,4$ дня, во 2-й — 3 животных при средней продолжительности жизни $5,5 \pm 0,4$ дня, а в 3-й группе все животные оставались живы в течение всего срока наблюдения.

Затем был проведен корреляционный анализ между показателями выживаемости животных в группах и уровнем внутриклеточной экспрессии изучаемых цитокинов. Выявлена высокая степень прямой связи ($r = 0,94$; $p = 0,0004$) между количеством выживших животных и повышением доли Т-лимфоцитов, экспрессирующих IFN- γ у мышей из 3-й группы, что подтверждает имеющиеся сведения об определяющей роли IFN- γ в эффективности клеточного иммунного ответа [15].

В то же время меньшая эффективность сочетанного применения *Y. pestis* с ингароном, сопровождающаяся снижением доли CD4⁺ и CD4⁺IFN- γ ⁺ в нестерильной фазе формирования иммунного ответа, по-видимому, можно объяснить возможностью использования рекомбинантного человеческого IFN- γ бактериальными клетками вакцинного штамма для индукции апоптоза Т-клеток у мышей как одного из механизмов уклонения патогена от реакции иммунной системы [15].

Установленный факт увеличения доли CD4⁺IFN- γ ⁺-лимфоцитов в 2,7 раза по сравнению с интактными животными и корреляции эффективности экспрессии IFN- γ Т-клетками иммунной системы мышей с их выживаемостью при заражении вирулентной культурой чумного микроба позволяет сделать вывод о перспективности применения ПО в схемах вакцинации против чумы. Это согласуется с ранее полученными нами данными о стимулирующем фагоцитарную и цитокин-продуцирующую активность лейкоцитов крови по отношению к чумному микробу потенциале ПО [8]. Иммуномодулирующий эффект ингарона оказался не достаточным для формирования напряжённого иммунитета у экспериментальных животных.

Таким образом, современные представления о механизмах действия иммуномодуляторов в сочетании с новыми экспериментальными данными, полученными при выполнении настоящей работы, позволили подтвердить эффективность применения именно ПО в схемах иммунизации экспериментальных животных вакцинным штаммом *Y. pestis* EV НИИЭГ и информативность оценки степени протекции, создаваемой иммунизацией, по результатам внутриклеточной экспрессии цитокинов Т-хелперами селезенки.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Verma S.K., Tuteja U. Plague vaccine development: current research and future trends. *Front. Immunol.* 2016; 7: 602. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00602>
2. Омельченко Н.Д., Иванова И.А., Беспалова И.А., Филиппенко А.В. Иммуномодуляторы и специфическая профилактика инфекционных болезней. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2017; (3): 21–6. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2017-3-21-2>
3. Бугоркова С.А., Курылина А.Ф., Щуковская Т.Н. Морфофункциональная характеристика иммунокомпетентных органов мышей линии Balb/c при иммунизации вакцинным штаммом *Yersinia pestis* EV НИИЭГ на фоне иммуномодуляции. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2017; (2): 58–62. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2017-2-58-62>
4. Кравцов А.Л., Курылина А.Ф., Ключева С.Н., Щуковская Т.Н. Модулирующий эффект полиоксидония на реактивность клеток иммунной системы при формировании противочумного иммунитета. *Иммунология.* 2016; 37(6): 320–5. <https://doi.org/10.18821/0206-4952-2016-37-6-320-325>
5. Пономарева Т.С., Дерябин П.Н., Каральник Б.В., Тугамбаев Т.И., Атшабар Б.Б., Денисова Т.Г. и др. Влияние полиоксидония на иммуногенную и протективную активность живой чумной вакцины. *Иммунология.* 2014; 35(5): 286–90.
6. Щуковская Т.Н., Курылина А.Ф., Шавина Н.Ю., Бугоркова С.А. Влияние полиоксидония, Poly(I:C), даларгина на защитное действие вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ при экспериментальной чуме. *Российский иммунологический журнал.* 2020; 23(1): 41–50. <https://doi.org/10.15789/1028-7221-005-IOP>
7. Костарева О.С., Габдулхаков А.Г., Коляденко И.А., Гарбер М.Б., Тищенко С.В. Интерлейкин-17: функциональные и структурные особенности; использование в качестве терапевтической мишени. *Успехи биологической химии.* 2019; 59: 393–418.
8. Ключева С.Н., Кравцов А.Л., Бугоркова С.А., Щуковская Т.Н., Кожевников В.А., Гончарова А.Ю. Фагоцитарная и цитокин-продуцирующая активность лейкоцитов крови мышей линии Balb/c, привитых против чумы на фоне иммуномодуляции полиоксидонием. *Российский иммунологический журнал.* 2019; 13(4): 1412–20. <https://doi.org/10.31857/S102872210007044-3>
9. Parent M.A., Wilhelm L.B., Kummer L.W., Szaba F.M., Mullarky I.K., Smiley S.T. Gamma interferon, tumor necrosis factor alpha, and nitric oxide synthase 2, key elements of cellular immunity, perform critical protective functions during humoral defense against lethal pulmonary *Yersinia pestis* infection. *Infect. Immun.* 2006; 74(6): 3381–6. <https://doi.org/10.1128/iai.00185-06>
10. Smith S.G., Smits K., Joosten S.A., Meijgaarden K.E., Satti I., Fletcher H.A., et al. Intracellular cytokine staining and flow cytometry: Considerations for application in clinical trials of novel tuberculosis vaccines. *PLoS One.* 2015; 10(9): e0138042. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138042>
11. Flaxman A., Ewer K.J. Methods for measuring T-cell memory to vaccination: from mouse to man. *Vaccines (Basel).* 2018; 6(3): 43. <https://doi.org/10.3390/vaccines6030043>
12. Leal E.A., Moreira J.D., Nunes F.F., Souza L.R., Martins J.M., Toledo V.P.C., et al. Humoral and cellular immune response of mice challenged with *Yersinia pestis* antigenic preparations. *Braz. J. Infect. Dis.* 2017; 21(6): 620–6. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2017.09.001>
13. Bi Y., Zhou J., Yang H., Wang X., Zhang X., Wang Q., et al. IL-17A produced by neutrophils protects against pneumonic plague through orchestrating IFN- γ -activated macrophage programming. *J. Immunol.* 2014; 192(2): 704–13. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301687>
14. Бугоркова С.А., Щуковская Т.Н., Микшиш Н.И., Ключева С.Н., Кудрявцева О.М., Кравцов А.Л. и др. Комплексное

иммунологическое исследование вакцинированных живой чумной вакциной лиц, проживающих на территории Прикаспийского песчаного очага чумы в Республике Калмыкия. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018; 17(3): 38–49. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-3-38-50>

15. Луцкий А.А., Жирков А.А., Лобзин Д.Ю., Рао М., Алексеева Л.А., Мейерер М. и др. Интерферон- γ : биологическая функция и значение для диагностики клеточного иммунного ответа. *Журнал инфектологии*. 2015; 7(4): 10–22. <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2015-7-4-10-22>

REFERENCES

- Verma S.K., Tuteja U. Plague vaccine development: current research and future trends. *Front. Immunol.* 2016; 7: 602. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00602>
- Omel'chenko N.D., Ivanova I.A., Bepalova I.A., Filippenko A.V. Immunomodulators and specific prophylaxis of infectious diseases. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2017; (3): 21–6. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2017-3-21-2> (in Russian)
- Bugorkova S.A., Kurylina A.F., Shchukovskaya T.N. Morphological-functional characteristics of immune competent organs of balb/c mice in case of vaccination with *Yersinia pestis* NIEG strain against the background of immune modulation. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2017; (2): 58–62. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2017-2-58-62> (in Russian)
- Kravtsov A.L., Kurylina A.F., Klyueva S.N., Shchukovskaya T.N. The modulating effect of polyoxidonium on the reactivity of immune cells in the formation of anti-plague immunity. *Immunologiya*. 2016; 37(6): 320–5. <https://doi.org/10.18821/0206-4952-2016-37-6-320-325> (in Russian)
- Ponomareva T.S., Deryabin P.N., Karal'nik B.V., Tugambaev T.I., Atshabar B.B., Denisova T.G., et al. The impact of polyoxidonium on immunogenic and protective activity alive plague vaccine. *Immunologiya*. 2014; 35(5): 286–90. (in Russian)
- Shchukovskaya T.N., Kurylina A.F., Shavina N.Yu., Bugorkova S.A. Influence of polyoxidonium, poly(I:C), dalargin on the protective efficacy of *Yersinia pestis* vaccine strain EV line NIEG in experimental plague. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal*. 2020; 23(1): 41–50. <https://doi.org/10.15789/1028-7221-005-IOP> (in Russian)
- Kostareva O.S., Gabdulkhakov A.G., Kolyadenko I.A., Garber M.B., Tishchenko S.V. Interleukin-17: functional and structural features; use as a therapeutic target. *Uspekhi biologicheskoy khimii*. 2019; 59: 393–418. (in Russian)
- Klyueva S.N., Kravtsov A.L., Bugorkova S.A., Shchukovskaya T.N., Kozhevnikov V.A., Goncharova A.Yu. Blood leukocyte phagocytic and cytokine-producing activity of anti-plague vaccinated Balb/c line mice against the background of immunomodulation by polyoxidonium. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal*. 2019; 13(4): 1412–20. <https://doi.org/10.31857/S102872210007044-3> (in Russian)
- Parent M.A., Wilhelm L.B., Kummer L.W., Szaba F.M., Mullarky I.K., Smiley S.T. Gamma interferon, tumor necrosis factor alpha, and nitric oxide synthase 2, key elements of cellular immunity, perform critical protective functions during humoral defense against lethal pulmonary *Yersinia pestis* infection. *Infect. Immun.* 2006; 74(6): 3381–6. <https://doi.org/10.1128/iai.00185-06>
- Smith S.G., Smits K., Joosten S.A., Meijgaarden K.E., Satti I., Fletcher H.A., et al. Intracellular cytokine staining and flow cytometry: considerations for application in clinical trials of novel tuberculosis vaccines. *PLoS One*. 2015; 10(9): e0138042. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138042>
- Flaxman A., Ewer K.J. Methods for measuring T-cell memory to vaccination: from mouse to man. *Vaccines (Basel)*. 2018; 6(3): 43. <https://doi.org/10.3390/vaccines6030043>
- Leal E.A., Moreira J.D., Nunes F.F., Souza L.R., Martins J.M., Toledo V.P.C., et al. Humoral and cellular immune response of mice challenged with *Yersinia pestis* antigenic preparations. *Braz. J. Infect. Dis.* 2017; 21(6): 620–6. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2017.09.001>
- Bi Y., Zhou J., Yang H., Wang X., Zhang X., Wang Q., et al. IL-17A produced by neutrophils protects against pneumonic plague through orchestrating IFN- γ -activated macrophage programming. *J. Immunol.* 2014; 192(2): 704–13. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301687>
- Bugorkova S.A., Shchukovskaya T.N., Mikshis N.I., Klyueva S.N., Kudryavtseva O.M., Kravtsov A.L., et al. Comprehensive immunological study of persons vaccinated with live plague vaccine living on the territory of the pre-Caspian sand foci of the plague in the Republic of Kalmykia. *Epidemiologiya i vaksinosprofilaktika*. 2018; 17(3): 38–49. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-3-38-50> (in Russian)
- Lutskiy A.A., Zhirkov A.A., Lobzin D.Yu., Rao M., Alekseeva L.A., Meyrer M., et al. Interferon- γ : biological function and application for study of cellular immune response. *Zhurnal infekologii*. 2015; 7(4): 10–22. <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2015-7-4-10-22> (in Russian)

Информация об авторах

Клюева Светлана Николаевна[✉] — к.б.н., н.с. отд. иммунологии, РосНИПЧИ «Микроб», Саратов, Россия, klyueva.cvetlana@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5550-6063>

Гончарова Анастасия Юрьевна — к.м.н., н.с. отд. иммунологии РосНИПЧИ «Микроб», Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9994-7936>

Кравцов Александр Леонидович — д.б.н., в.н.с. отд. иммунологии, РосНИПЧИ «Микроб», Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9016-6578>

Бугоркова Светлана Александровна — д.м.н., и.о. зав. отд. иммунологии РосНИПЧИ «Микроб», Саратов, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7548-4845>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 23.04.2020;
принята к публикации 15.12.2021;
опубликована 10.03.2021

Information about the authors

Svetlana N. Klyueva[✉] — Cand. Sci. (Biol.), researcher, Department of immunology, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russia, klyueva.cvetlana@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5550-6063>

Anastasiya Yu. Goncharova — Cand. Sci. (Med.), researcher, Department of immunology, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9994-7936>

Aleksandr L. Kravtsov — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Department of immunology, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9016-6578>

Svetlana A. Bugorkova — D. Sci. (Med.), deputy head, Department of immunology, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7548-4845>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 23.04.2020;
accepted for publication 15.12.2021;
published 10.03.2021



Результаты мониторинга холеры на административных территориях России в период с 2013 по 2019 год

Носков А.К.¹, Кругликов В.Д.^{1✉}, Лопатин А.А.², Чемисова О.С.¹, Левченко Д.А.¹, Иванова С.М.², Монахова Е.В.¹, Архангельская И.В.¹, Водопьянов А.С.¹, Гаевская Н.Е.¹, Подойницына О.А.¹, Ежова М.И.¹

¹Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия;

²Противочумный центр Роспотребнадзора, Москва, Россия

Аннотация

Цель. Проведение динамического сравнительного анализа результатов идентификации изолятов из проб воды и материала от людей, выделенных в ходе мониторинга холеры на всей территории Российской Федерации в 2013–2019 гг.

Материалы и методы. Идентифицировано 385 штаммов *Vibrio cholerae* серогруппы O1 (один токсигенный *V. cholerae* O1 El Tor Inaba — Ростовская область, 2014 г.) и R-варианта, выделенных из объектов окружающей среды (ООС) на территории 21 субъекта РФ.

Результаты. Установлено, что 91% штаммов выделены в 7 субъектах РФ: Республике Калмыкия, Краснодарском, Забайкальском, Хабаровском, Приморском краях, Ростовской и Иркутской областях. Атипичными по агглютинабельности были 2,3% штаммов, а по фагочувствительности — 75,3%. Фаготипы определены у 13,2% штаммов, изолированных на 11 административных территориях. К фаготипу 11 относилось 48,8% штаммов, выделенных в основном в Забайкальском крае. Идентифицировано 46 нетоксигенных штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139, изолированных от 43 больных острыми кишечными инфекциями и отитами в 8 субъектах РФ. Проведено ПЦР-типирование 377 нетоксигенных штаммов *V. cholerae*, выявлена их принадлежность к 13 кластерам и 71 генотипу. Обнаружены штаммы с уникальными генотипами (вероятный занос) и с одинаковыми генотипами, которые встречались в разные годы на территориях многих или одного субъекта РФ, что свидетельствует о распространенности штаммов в ООС на территории страны.

Заключение. Результаты позволили охарактеризовать эпидемиологическую ситуацию по холере в России (по показателю контаминации ООС *V. cholerae* O1) как неустойчивую, но не претерпевшую существенных изменений за истекший 7-летний период, что имеет значение при обосновании прогноза её дальнейшего развития.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, фено- и генотипирование, мониторинг, субъект РФ, объекты окружающей среды

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

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

Для цитирования: Носков А.К., Кругликов В.Д., Лопатин А.А., Чемисова О.С., Левченко Д.А., Иванова С.М., Монахова Е.В., Архангельская И.В., Водопьянов А.С., Гаевская Н.Е., Подойницына О.А., Ежова М.И. Результаты мониторинга холеры на административных территориях России в период с 2013 по 2019 год. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98(2): 163–175.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-56>

Original article
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-56>

Results of cholera monitoring in administrative territories of Russia from 2013 to 2019

Alexey K. Noskov¹, Vladimir D. Kruglikov^{1✉}, Anton A. Lopatin², Olga S. Chemisova¹, Daria A. Levchenko¹, Svetlana M. Ivanova², Elena V. Monakhova¹, Irina V. Arkhangelskaya¹, Alexey S. Vodopyanov¹, Natalya E. Gayevskaya¹, Oksana A. Podoynitsyna¹, Maria I. Yezhova¹

¹Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russia;

²Anti-Plague Center, Moscow, Russia

Abstract

Purpose. A dynamic comparative analysis of the results of identification of *Vibrio cholerae* (*V. cholera*) isolates from water and human specimens isolated during the monitoring of cholera throughout the Russian Federation in 2013–2019.

Materials and methods. Total 385 strains of *V. cholerae* O1 serogroup (including one toxigenic *V. cholerae* O1 El Tor Inaba — Rostov region, 2014) and the R-variant from environment objects were identified in the territory of 21 regions of the Russian Federation.

Results. It was found that 91% of the strains were isolated in 7 regions of the Russian Federation: Republic of Kalmykia, Krasnodar Krai, Transbaikal Krai, Khabarovsk Krai, Primorsky Krai, Rostov region and Irkutsk region. 2.3% of strains were atypical in their agglutinability, and 75.3% of strains had atypical phagosensitivity. Phagotypes were identified for 13.2% of strains isolated in 11 administrative territories. Phageotype 11 included 48.8% of the strains isolated mainly in the Transbaikal Krai. Non-toxigenic strains of *V. cholerae* nonO1/nonO139 ($n = 46$) were isolated from 43 patients with acute intestinal infections and otitis in 8 regions of Russia. PCR-typing of 377 non-toxigenic *V. cholerae* strains demonstrated that they belong to 13 clusters and 71 genotypes. Strains with unique genotypes (probable cases of importation) and with the same genotypes repeatedly isolated in different years in one or several territories of the Russian Federation were identified, indicating the prevalence of strains in environment throughout the country.

Conclusion. The results allowed us to characterize the epidemiological situation of cholera in Russia (in terms of the environment contamination with *V. cholerae* O1) as unstable, but not significantly changed over the past 7-year period. These data are important for substantiating the forecast for further development of the epidemiological situation.

Keywords: *Vibrio cholerae*, pheno- and genotyping, monitoring, subject of the Russian Federation, environment objects

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Noskov A.K., Kruglikov V.D., Lopatin A.A., Chemisova O.S., Levchenko D.A., Ivanova S.M., Monakhova E.V., Arkhangelskaya I.V., Vodopyanov A.S., Gaevskaya N.E., Podoyntsyna O.A., Ezhova M.I. Results of cholera monitoring in administrative territories of Russia from 2013 to 2019. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2021; 98(2): 163–175.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-56>

Введение

Масштабные эпидемические проявления холеры на территории отдельных государств в период 7-й пандемии, в том числе связанные с чрезвычайными ситуациями природного характера, и, как следствие, завозы болезни в эпидемиологически благополучные страны обуславливают сохраняющиеся риски её распространения, связанные с международной миграцией, и актуальность для национальных систем здравоохранения [1, 2]. В настоящее время эпидемиологическая ситуация по холере на территории России характеризуется имевшими место спорадическими завозами болезни в отдельные административные территории страны без распространения и наличием эпидемиологических рисков новых завозов [3, 4].

Результаты ежегодного мониторинга наличия холерных вибрионов на объектах окружающей среды (ООС) в субъектах РФ свидетельствуют о нерегулярном выделении единичных эпидемически опасных (токсигенных) штаммов *V. cholerae* O1 El Tor и ежегодном обнаружении десятков нетоксигенных штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139 *V. cholerae* O1 серогруппы [5]. Нетоксигенные штаммы, включая штаммы, не имеющие гена холерного токсина (*ctxAB*), но содержащие ген *tcpA*, а также штаммы *V. cholerae* nonO1/nonO139, которые являются ин-

дикатором наличия условий, способствующих жизнедеятельности *V. cholerae* в экологической нише, могут стать причиной спорадических заболеваний (вспышек) острыми кишечными инфекциями (ОКИ) [6–9]. Выявлен широкий спектр стрессоустойчивости водной популяции *V. cholerae* El Tor, связанной с наличием приспособительных механизмов, обеспечивающих их выживание в воде поверхностных водоёмов на разных территориях страны [10, 11]. Кроме того, показано, что водоёмы умеренных широт могут рассматриваться как резервуары генов, детерминирующих дополнительные факторы патогенности и персистенции *V. cholerae* [12, 13].

Цель работы состояла в проведении динамического сравнительного анализа результатов идентификации изолятов из проб воды и материала от людей, выделенных в ходе мониторинга холеры на всей территории России в 2013–2019 гг.

Материалы и методы

Было исследовано 385 штаммов *V. cholerae* El Tor, выделенных из ООС, и 46 штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139 — изолятов от людей. Штаммы *V. cholerae* O1 были отобраны и охарактеризованы с использованием пополняемой до 2019 г. ГИС «Холера 1989–2014» содержащей информацию о

Таблица 1. Штаммы *V. cholerae* O1 и R-варианта, выделенные в России в 2013–2019 гг.
Table 1. Strains of *V. cholerae* O1 and R-variant isolated in the Russian Federation in 2013–2019

№ No.	Субъект РФ Subject of the Russian Federation	Количество идентифицированных штаммов The number of identified strains							Всего Total
		2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	
1	Алтайский край / Altai Krai	0	1	0	0	0	0	0	1
2	Забайкальский край / Transbaikal Krai	3	1	7	11	23	0	2	47
3	Краснодарский край / Krasnodar Krai	1	0	98	0	0	0	0	99
4	Приморский край / Primorsky Krai	0	3	0	5	3	0	0	11
5	Ставропольский край / Stavropol Krai	0	0	0	1	0	0	0	1
6	Хабаровский край / Khabarovsk Krai	2	0	0	1	0	7	1	11
7	Республика Бурятия / Republic of Buryatia	1	0	0	1	1	0	0	3
8	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	27	17	8	19	34	26	20	151
9	Республика Коми / Republic of Komi	4	0	0	1	0	0	0	5
10	Республика Крым / Republic of Crimea	0	3	0	1	0	0	1	5
11	Республика Татарстан / Republic of Tatarstan	0	0	0	1	0	0	0	1
12	Иркутская область / Irkutsk region	0	1	1	0	8	1	1	12
13	Калининградская область / Kaliningrad region	0	2	0	0	0	0	0	2
14	Кировская область / Kirov region	0	0	0	0	0	1	0	1
15	Липецкая область / Lipetsk region	0	0	0	0	0	0	1	1
16	Московская область / Moscow region	0	1	0	0	0	0	0	1
17	Псковская область / Pskov region	0	1	0	0	0	1	0	2
18	Ростовская область / Rostov region	7	3	3	7	1	1	1	23
19	Рязанская область / Ryazan region	0	1	0	0	0	0	0	1
20	Свердловская область / Sverdlovsk region	0	0	0	4	1	0	0	5
21	Челябинская область / Chelyabinsk region	0	0	1	1	0	0	0	2
	Всего выделено культур Total isolated culture strains	45	34	118	53	71	37	27	385
	Количество субъектов РФ, в ООС которых обнаруживались <i>V. cholerae</i> O1 The number of regions of the Russian Federation where <i>V. cholerae</i> O1 was detected in environment objects	7	11	6	12	7	6	7	21

биологических свойствах штаммов *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп (разной эпидемической опасности), выделенных из ООС на территории России в процессе многолетних мониторинговых исследований, начиная с 1989 г. [14, 15].

Идентификация штаммов проводилась по общепринятым методикам¹. Для определения родовой и видовой принадлежности выделенных штаммов применяли метод MALDI-TOF-масс-спектрометрии [16] в соответствии с инструкцией к оборудованию и с использованием программного обеспечения «Viotyper 3.1». Видовую идентификацию проводили с использованием базы белковых спектров ком-

пании «Bruker». Вероятность соответствия исследуемого спектра к известному таксону определяли с помощью показателя Score. Генотипирование (по 14 генам — детерминантам факторов патогенности) нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 проводили методом ПЦР [17].

Кластерный анализ распределения генотипов осуществляли методом невзвешенного попарного среднего. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью компьютерной программы «Statistica v.6.1.478» («StatSoft Inc.»). Результаты исследований считали достоверными при вероятности достоверности различий $p < 0,05$ (доверительный интервал — 95%).

Результаты

В 2013–2019 гг. в лабораториях Референс-центра по мониторингу за холерой (Ростовский-на-До-

¹ МУК 4.2.2218-07 «Лабораторная диагностика холеры»; МУК 4.2.2870-11 «Порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней».

ну противочумный институт Роспотребнадзора) идентифицировано 385 штаммов *V. cholerae* серогруппы O1 и R-варианта, выделенных из ООС на территории 21 субъекта РФ (табл. 1).

Характеристика биологических свойств штаммов *V. cholerae*, изолированных из ООС в РФ за 2013–2019 гг. и подтвержденных в Референс-центре, представлена в табл. 2.

Изучаемые культуры в 51% случаев (по отношению к общему количеству штаммов) относились к серовару Инаба, в 46,7% — к Огава, а в 2,3% принадлежали к R-варианту. Эпидемически неопасные штаммы (нетоксигенные) составили 99,7% всех идентифицированных штаммов. Один (0,3%) эпидемически опасный (токсигенный) штамм *V. cholerae* El Tor Inaba № 81 был выделен в 2014 г. в Ростове-на-Дону из речной воды. Штамм относился к геновариантам с повышенным эпидемическим потенциалом (генотип *ctxB7tcpA^{CIRS101}rtxA4VSP-II*). Полногеномные последовательности ДНК штамма опубликованы и выложены в GenBank [18].

Изменчивость по признаку фаголизабельности была выявлена у 290 (75,3%) штаммов, а именно: 283 штамма (73,5%) были резистентными к фагам классическому и El Tor, а у 7 штаммов *V. cholerae* O1 El Tor (1,8%) выявлена чувствительность к классическому фагу. У 51 (13,2%) штамма, выделенного на 11 из 21 субъекта РФ, установлена принадлежность к определенному фаготипу: 4, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19 и 20.

При анализе результатов ПЦР-типирования 377 нетоксигенных штаммов *V. cholerae* выявлена их принадлежность к 13 кластерам, в которые вошел 71 генотип (рис. 1). Данные по выделению штаммов,

у которых определен генотип, по годам (за 7-летний период) представлены на рис. 2, а по территориям субъектов РФ — на рис. 3. В табл. 3 отражены установленные генотипы, годы и территории, на которых регистрировалось выделение.

За 2013–2019 гг. в Референс-центре были идентифицированы 46 штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139-серогрупп, выделенных от 43 больных ОКИ и отитами в 8 субъектах РФ:

- Тамбовская область (завоз из Таиланда, 2017 г.: 1 штамм, 1 больной ОКИ);
- Магаданская область (завоз из Вьетнама, 2017 г.: 1 штамм, 1 больной ОКИ);
- Челябинская область (завоз из Туниса, 2017 г.: 1 штамм, 1 больной с отитом; не связан с завозом, 2017 г.: 2 штамма, 1 больной с отитом; не связан с завозом, 2019 г.: 1 штамм, 1 больной с отитом);
- Ростовская область (не связаны с завозом, 2014–2015 гг., 2018 г.: 21 штамм, 19 больных ОКИ);
- Республика Крым (не связаны с завозом, 2015–2017 гг.: 11 штаммов, 11 больных ОКИ);
- Москва (результат исследования проб, поступивших с других территорий страны, — 2018 г.: 1 штамм, 1 больной с отитом; 2019 г.: 3 штамма, 3 больных с отитом);
- Республика Калмыкия (не связаны с завозом, 2014 г.: 2 штамма, 1 больной ОКИ; 2015 г., 2018 г.: по 1 штамму, 2 больных ОКИ);
- Волгоградская область (не связан с завозом, 2018 г.: 1 штамм, 1 больной ОКИ).

Все штаммы *V. cholerae* nonO1/nonO139, выделенные от людей, были типичны по родовым и ви-

Таблица 2. Фенотипическая и генотипическая характеристика штаммов *V. cholerae* серогруппы O1 El Tor и R-вариант, выделенных в России в 2013–2019 гг.

Table 2. Phenotypic and genotypic characteristics of strains of *V. cholerae* serogroup O1 El Tor and R-variant isolated in the Russian Federation in 2013–2019

Год Year	Количество штаммов / Number of strains						
	O1	в том числе серовариант including serovariant		R-вариант R-variant	генотип genotype		
		Огава / Ogawa	Инаба / Inaba		<i>ctxAB⁺tcpA⁺</i>	<i>ctxAB⁻tcpA⁺</i>	<i>ctxAB⁻tcpA⁻</i>
2013	45	35	10	0	0	4	41
2014	33	21	12	1	1*	1	32
2015	118	10	108	0	0	6	112
2016	49	30	19	4	0	4	49
2017	70	34	36	1	0	1	70
2018	36	27	9	1	0	1	36
2019	25	23	2	2	0	2	25
Всего Total	376	180	196	9	1*	19	365

Примечание. *Штамм, выделенный в Ростове-на-Дону в 2014 г.
Note. *Strain isolated in Rostov-on-Don in 2014.

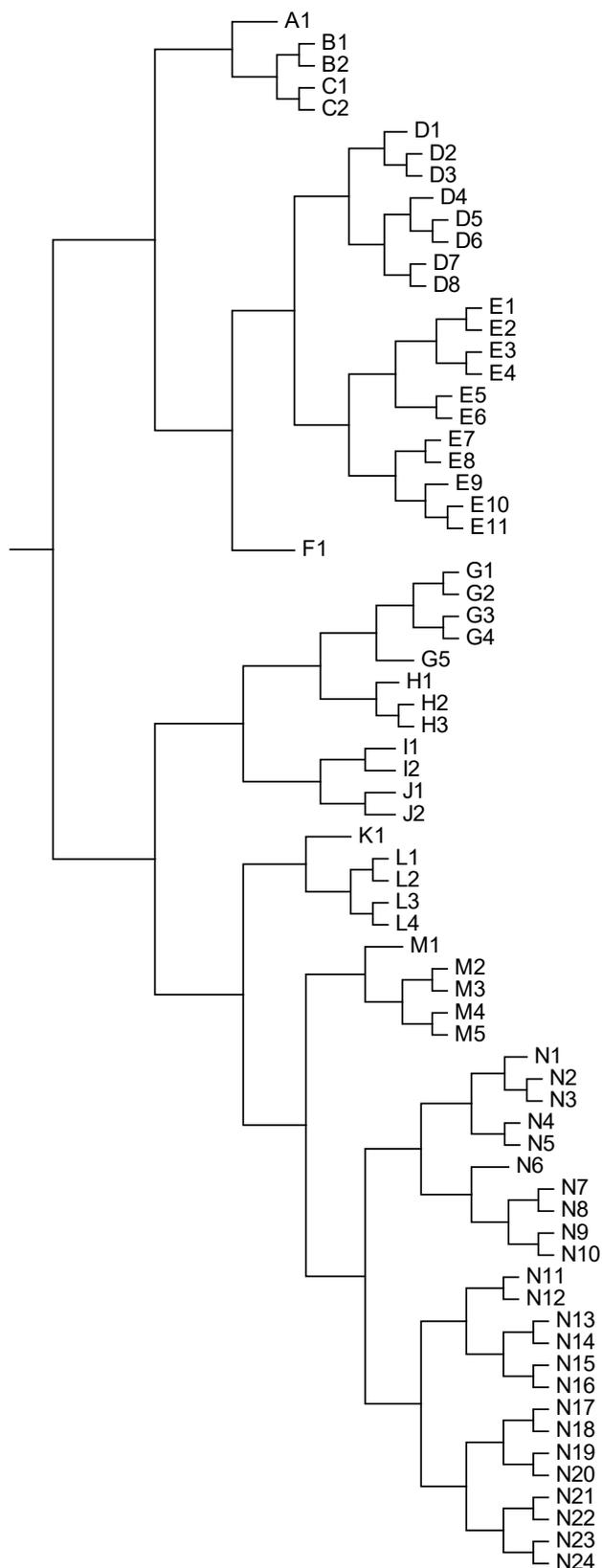


Рис. 1. Дендрограмма ПЦР-генотипов нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1, выделенных из ООС в 2013–2019 гг.

Fig. 1. Dendrogram for determined by PCR genotypes of non-toxicogenic strains of *V. cholerae* O1 isolated from environment objects in 2013–2019.

довым свойствам и определены как нетоксигенные (*ctxA tcpA*).

Обсуждение

В 2013–2019 гг. из воды ООС 21 субъекта РФ выделено 385 штаммов *V. cholerae* серогруппы O1 и R-варианта (табл. 1). В среднем за год *V. cholerae* серогруппы O1 обнаруживались в пробах из ООС на 8 ± 1 ($p < 0,05$) административных территориях РФ. На субъекты РФ в составе Южного федерального округа (ФО) пришлось 72,2% выделенных культур (278 штаммов); Сибирского ФО (включая Республику Бурятия и Забайкальский край, с 03.11.2018 вошедших в состав Дальневосточного ФО) — 16,4% (63); Дальневосточного ФО — 5,7% (22); Северо-Западного ФО — 2,3% (9); Уральского ФО — 1,8% (7); Центрального ФО — 0,8% (3); Приволжского ФО — 0,5% (2) и Северо-Кавказского ФО — 0,3% (1). Необходимо отметить, что 91% выделенных штаммов (354 культуры) пришлось на 7 субъектов РФ: Республику Калмыкия, Краснодарский, Забайкальский, Хабаровский, Приморский края, Ростовскую и Иркутскую области. Ежегодно в течение 7-летнего периода *V. cholerae* выделялись только из ООС Республики Калмыкия (151 штамм) и Ростовской области (23), из ООС Забайкальского края — в течение 6 лет (47 штаммов), Иркутской области — 5 лет (12 штаммов). В течение 4 лет *V. cholerae* серогруппы O1 выделялись из ООС Хабаровского края (11 штаммов); 3 лет — Республики Крым (5) и Республики Бурятия (3), Приморского края (11); 2 лет — Республики Коми (5), Краснодарского края (99), Псковской (2), Свердловской (5) и Челябинской (2) областей. Однократно штаммы *V. cholerae* изолированы из ООС Республики Татарстан, Алтайского, Ставропольского краев, Калининградской, Кировской, Липецкой, Московской и Рязанской областей. Наибольшее количество культур *V. cholerae* (118 штаммов) выделено в 2015 г., что составило 30,7% всех 385 штаммов за анализируемый период, из них 98 идентичных штаммов одного клона (Краснодарский край, р. Агура, 2015 г.) за 3 мес.

Необходимо отметить, что в 2013–2019 гг. из 6 субъектов Южного ФО *V. cholerae* O1 изолированы в 4. На Республику Калмыкия пришлось 39,2%, Краснодарский край — 25,7%, Ростовскую область — 6,0%, Республику Крым — 1,3% всех штаммов, изолированных в стране.

Из изученных 385 штаммов *V. cholerae* атипичными по агглютинабельности оказалось 2,3% (R-вариант), практически подавляющее большинство штаммов было типичным по данному признаку, но 75,3% штаммов отличалось атипичностью по фаготчувствительности. Всего фаготипировался 51 штамм (13,2%), изолированный на 11 из 21 территории. Из этих штаммов к фаготипу 11 относилось 20 штаммов (48,8%), большин-

Год Year	Генотипы Genotypes																		
2013	A1	C1	C2	E10	E4	L4	M5	N10	N14	N15	N16								
2014	D6	E5	E7	E8	E9	G4	N13	N19	N21	N22	N24	N7							
2015	F1	G3	H2	M1	M4	N24	N6	N8	N9										
2016	D1	D2	D3	D4	D7	D8	G1	G2	I1	J1	J2	K1	M2	N1	N2				
2017	D6	D7	D8	E1	E2	G3	H1	L1	L2	L3	L4	M2	M3	N1	N11	N17	N3	N4	N5
2018	B1	B2	C2	D5	D6	E3	E6	G4	G5	M3	N12	N14	N18	N20	N24	N9			
2019	D6	E11	E8	H3	I2	N18	N23	N24											

Рис. 2. ПЦР-генотипы нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1, выделенных из ООС в 2013–2019 гг.

Цвет соответствует определённому кластеру

Fig. 2. Determined by PCR genotypes of nontoxigenic strains of *V. cholerae* O1 isolated from environment objects in 2013–2019.

Each specific cluster is marked by color.

ство из которых было выделено в Забайкальском крае. Штаммы, принадлежащие к фаготипу 15, были изолированы в Забайкальском, Хабаровском краях и в Ростовской области. Единичные штаммы, обнаруженные на разных территориях, относились к фаготипам 12, 16, 17 и 19. Штаммы *V. cholerae* O1 El Tor, выделенные из ООС в Республиках Крым и Татарстан, Краснодарском крае, Калининградской, Московской, Псковской и Челябинской областях, не типировались фагами. Выявлены фаготипы, не встречавшиеся ранее на территории РФ: фаготип 8 (Хабаровский край, 2016 г.), 12 (Свердловская область, 2016 г.) и 20 (Кировская область, 2018 г.). Таким образом, установлено, что нетоксигенные штаммы *V. cholerae* O1, выделявшиеся в России из ООС на протяжении 2013–2019 гг., характеризовались устойчивостью к холерным диагностическим фагам (El Tor и классический), что вызывает определенные затруднения в диагностике, а также в своём большинстве фагами не типировались.

Однако среди штаммов, которые типировались фагами, была выявлена принадлежность к новым для территории РФ фаготипам.

За 2013–2019 гг. на территории РФ было изолировано 94,8% штаммов с генетической характеристикой *ctxAB*⁻*tcpA*⁻ и 4,9% *ctxAB*⁻*tcpA*⁺-штаммов. В Ростовской области из р. Темерник в 2014 г. был выделен один генетически изменённый эпидемически опасный штамм *V. cholerae* O1 El Tor Inaba № 81.

При проведении эпидемиологического расследования источник инфекции установить не удалось. Как показали результаты исследований, штамм № 81, как и штамм № 301, изолированный в 2011 г. из морской воды Таганрогского залива (Ростовская область, Азовское море) на фоне эпидемического благополучия [19], имели сходные генотипы. Таким образом, на эндемичной по холере территории

России на протяжении 7 лет из ООС выделялись в основном только нетоксигенные штаммы, которые не обладают способностью вызывать заболевание холерой, но могут быть этиологической причиной ОКИ. Обнаружение эпидемически опасного штамма *V. cholerae* O1 El Tor отмечалось на фоне отсутствия эпидемического осложнения по холере.

Наибольшая доля штаммов (54%) *V. cholerae* nonO1/nonO139, выделенных от больных ОКИ, выявлена на территории Ростовской области. В течение изучаемого периода наблюдалась ежегодная регистрация заболеваний ОКИ и отитами (внекишечная локализация возбудителя), этиологией которых были вышеуказанные микроорганизмы, на одной или на нескольких административных территориях РФ.

Что касается генотипирования нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1, то в настоящее время, при отсутствии универсального подхода, существуют несколько методов, которые с успехом применяются в том числе в комплексных исследованиях для определения филогенеза штаммов в соотношении с эпидемиологическими данными: мультилокусный анализ переменных tandemных повторов, пульс-электрофорез, типирование (вставка/делеция нескольких нуклеотидов), однонуклеотидный полиморфизм [7, 20, 21]. При генотипировании 377 нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 в работе был использован метод ПЦР-детекции по 14 генам, детерминирующим их патогенные свойства, для получения унифицированных результатов на момент исследования. В число протестированных не вошли 7 штаммов, определённых как субкультуры.

Интерпретация полученных данных позволила дать общую оценку распространённости штаммов *V. cholerae* O1 тех или иных генотипов по административным территориям, повторяемости их выделения по годам, наличию новых генотипов (т.е. возможных заносов или переживании в течение нескольких лет).

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Субъект РФ Subject of Russia	Генотипы Genotypes															
Алтайский край Altai Krai	D6															
Забайкальский край Transbaikal Krai	D2	D3	D6	D8	E11	E2	G3	N16								
Иркутская область Irkutsk region	D6	G3	I2	L1	L2	L4	N20									
Калининградская область Kaliningrad region	E8															
Кировская область Kirov region	D6															
Краснодарский край Krasnodar Krai	C2	N8														
Липецкая область Lipetsk region	E11															
Московская область Moscow region	N13															
Приморский край Primorsky Krai	D3	D7	E2	E9	N11	N7										
Псковская область Pskov region	D6															
Республика Бурятия Republic of Buryatia	D7	N16														
Республика Калмыкия Republic of Kalmykia	D2	D4	D5	D6	D8	E1	E3	E4	E5	E6	E7	E8	G3	H1	K1	
	L3	M1	M3	M4	M5	N1	N12	N14	N15	N16	N17	N18	N19	N21	N22	
	N23	N24	N3	N4	N5	N6	N9									
Республика Коми Republic of Komi	J2															
Республика Крым Republic of Crimea	D3	D6	G4													
Республика Татарстан Republic of Tatarstan	D7															
Ростовская область Rostov region	A1	C1	D2	D6	D8	E10	E5	E7	F1	G5	H2	I1	L4	N10	N2	
Рязанская область Ryazan region	D6															
Свердловская область Sverdlovsk region	D1	D3	G1	M2												
Севастополь Sevastopol	E8															
Ставропольский край Stavropol Krai	G2															
Хабаровский край Khabarovsk Krai	B1	B2	C2	G4	H3	J1										
Челябинская область Chelyabinsk region	D8	N9														

Рис. 3. Субъекты РФ и ПЦР-генотипы нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1, выделенные из ООС в 2013–2019 гг.
 Цвет соответствует определённому кластеру.

Fig. 3. Subjects of the Russian Federation and determined by PCR genotypes of nontoxigenic strains of *V. cholerae* O1 isolated from environment objects in 2013–2019.
 Each specific cluster is marked by color.

Таблица 3. Генотипы штаммов *V. cholerae* O1 и R-варианта, выделенных на административных территориях России в 2013–2019 гг.**Table 3.** Genotypes of strains of *V. cholerae* O1 and R-variant isolated in the administrative territories of Russia in 2013–2019

Генотип штамма Strain genotype	Административная территория Administrative territory	Год выделения Year of isolation	Количество штаммов Number of strains
A1	Ростовская область / Rostov region	2013	1
B1	Хабаровский край / Khabarovsk Krai	2018	2
B2	Хабаровский край / Khabarovsk Krai	2018	2
C1	Ростовская область / Rostov region	2013	1
C2	Хабаровский край / Khabarovsk Krai	2018	1
C2	Краснодарский край / Krasnodar Krai	2013	1
D1	Свердловская область / Sverdlovsk region	2016	1
D2	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2016	8
D2	Ростовская область / Rostov region	2016	1
D2	Забайкальский край / Transbaikal Krai	2016	6
D3	Приморский край / Primorsky Krai	206	4
D3	Забайкальский край / Transbaikal Krai	2016	2
D3	Республика Крым / Republic of Crimea	2016	1
D3	Свердловская область / Sverdlovsk region	2016	1
D4	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2016	2
D5	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2018	1
D6	Иркутская область / Irkutsk region	2014	1
D6	Алтайский край / Altai Krai	2011	1
D6	Рязанская область / Ryazan region	2014	1
D6	Республика Крым / Republic of Crimea	2014	2
D6	Забайкальский край / Transbaikal Krai	2014	1
D6	Псковская область / Pskov region	2014	1
D6	Иркутская область / Irkutsk region	2017	1
D6	Кировская область / Kirov region	2018	1
D6	Псковская область / Pskov region	2018	1
D6	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2019	1
D6	Ростовская область / Rostov region	2019	1
D6	Забайкальский край / Transbaikal Krai	2019	1
D7	Приморский край / Primorsky Krai	2016	1
D7	Республика Бурятия / Republic of Buryatia	2016	1
D7	Республика Бурятия / Republic of Buryatia	2017	1
D7	Республика Татарстан / Republic of Tatarstan	2016	1
D8	Ростовская область / Rostov region	2016	4
D8	Забайкальский край / Transbaikal Krai	2016	3
D8	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2017	2
D8	Ростовская область / Rostov region	2017	1
D8	Челябинская область / Chelyabinsk region	2016	1
E1	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2017	1
E2	Забайкальский край / Transbaikal Krai	2019	23
E2	Приморский край / Primorsky Krai	2014	2
E3	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2018	1
E4	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2013	1
E5	Ростовская область / Rostov region	2014	1
E5	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2014	3

Продолжение табл. 3 / Continuation of Table 3

Генотип штамма Strain genotype	Административная территория Administrative territory	Год выделения Year of isolation	Количество штаммов Number of strains
E6	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2018	1
E7	Ростовская область / Rostov region	2014	1
E7	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2015	5
E8	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2014	3
E8	Севастополь / Sevastopol	2019	1
E8	Калининградская область / Kaliningrad region	2014	2
E9	Приморский край / Primorsky Krai	2014	2
E10	Ростовская область / Rostov region	2013	3
E11	Липецкая область / Lipetsk region	2019	1
E11	Забайкальский край / Transbaikal Krai	2019	1
F1	Ростовская область / Rostov region	2015	1
G1	Свердловская область / Sverdlovsk region	2016	1
G2	Ставропольский край / Stavropol Krai	2016	1
G3	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2015	1
G3	Иркутская область / Irkutsk region	2015	1
G3	Забайкальский край / Transbaikal Krai	2015	7
G3	Иркутская область / Irkutsk region	2017	1
G3	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2017	1
G4	Республика Крым / Republic of Crimea	2014	1
G4	Хабаровский край / Khabarovsk Krai	2018	2
G5	Ростовская область / Rostov region	2018	1
H1	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2017	1
H2	Ростовская область / Rostov region	2015	2
H3	Хабаровский край / Khabarovsk Krai	2019	1
I1	Ростовская область / Rostov region	2016	1
I2	Иркутская область / Irkutsk region	2019	1
J1	Хабаровский край / Khabarovsk Krai	2016	1
J2	Республика Коми / Republic of Komi	2016	1
K1	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2016	2
L1	Иркутская область / Irkutsk region	2017	1
L2	Иркутская область / Irkutsk region	2017	4
L3	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2017	1
L4	Иркутская область / Irkutsk region	2017	1
L4	Ростовская область / Rostov region	2013	1
M1	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2015	1
M2	Свердловская область / Sverdlovsk region	2016	1
M2	Свердловская область / Sverdlovsk region	2017	1
M3	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2017	2
M3	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2018	2
M4	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2015	1
M5	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2013	1
N1	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2016	7
N1	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2017	1
N2	Ростовская область / Rostov region	2016	1
N3	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2017	6

Окончание табл. 3 / End of Table 3

Генотип штамма Strain genotype	Административная территория Administrative territory	Год выделения Year of isolation	Количество штаммов Number of strains
N4	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2017	13
N5	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2017	1
N6	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2015	4
N7	Приморский край / Primorsky Krai	2014	1
N8	Краснодарский край / Krasnodar Krai	2015	98
N9	Челябинская область / Chelyabinsk region	2015	1
N9	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2018	2
N10	Ростовская область / Rostov region	2013	1
N11	Приморский край / Primorsky Krai	2017	1
N12	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2018	1
N13	Московская область / Moscow region	2014	1
N14	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2018	3
N14	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2013	1
N15	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2013	5
N16	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2013	17
N16	Забайкальский край / Transbaikal Krai	2013	3
N16	Республика Бурятия / Republic of Buryatia	2013	1
N17	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2017	5
N18	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2018	1
N18	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2019	2
N19	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2014	1
N20	Иркутская область / Irkutsk region	2018	1
N21	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2014	1
N22	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2014	1
N23	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2019	1
N24	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2014	3
N24	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2015	1
N24	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2018	14
N24	Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	2019	16

После принятия 71 определенного генотипа у 377 штаммов за 100% результаты кластеризации выглядели следующим образом (рис. 1): генотипы (в %), входящие в кластер А, составили 1,6%; В — 2,8%; С — 2,8%; D — 11,3%; E — 15,5%; F — 1,6%; G — 7,0%; H — 4,1%; I — 2,8%; J — 2,8%; K — 1,6%; L — 5,4%; M — 7,0%; N — 33,7%.

Данные, представленные в табл. 3, свидетельствуют о том, что наибольшее число генотипов (24, 11 и 8) вошли, соответственно, в кластеры N, E и D, причем 98 штаммов, выделенных в Краснодарском крае (2015 г.), имели идентичный генотип — N8, который раньше не встречался у штаммов, выделенных из ООС на территории России. Кроме того, штаммы с уникальными генотипами (A1, C1 и F1) были зарегистрированы в Ростовской области (2013, 2015 г.), C2 — в Хабаровском крае (2018 г.),

D1 — в Свердловской области (2016 г.) и др., что свидетельствует о вероятном заносе.

Вместе с тем были отмечены штаммы с одинаковыми генотипами, которые встречались в разные годы на различных административных территориях, в том числе с повторными выделениями. Например, генотип G3 был установлен у штаммов, выделенных в 3 субъектах РФ (Республика Калмыкия, 2015, 2017 гг.; Иркутская область, 2017 г.; Забайкальский край, 2015 г.); генотип D6 — в 9 субъектах РФ и др. Наряду с этим установлены штаммы, выделенные на различных территориях — N16 (Республика Калмыкия, Забайкальский край, Республика Бурятия) в течение 1 года (2013 г.), или на одной территории в течение ряда лет — N24 (Республика Калмыкия, 2014, 2015, 2018, 2019 гг.). Полученные данные свидетельствуют о распро-

странённости и циркуляции штаммов в ООС на территории страны.

Из 12 нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 (*ctxA*⁺*tcpA*⁺), 4 (N6) вошли в кластер N, наряду со штаммами *ctxA*⁻*tcpA*⁻. Остальные штаммы, содержащие ген *tcpA* при отсутствии гена *ctxA*, имели индивидуальные генотипы, встречавшиеся в течение 1 года на одной территории: J1 (Хабаровский край, 2016 г.), J2 (Республика Коми, 2016 г.), I1 (Ростовская область, 2016 г.), I2 (Иркутская область, 2019 г.), H1, H2, H3 (Республика Калмыкия, 2017 г.; Ростовская область, 2015 г.; Хабаровский край, 2019 г.), которые не повторялись за изученный временной период. Штаммы R-варианта имели разные генотипы (D3, D8, I2, N13, N20) и были выделены в различные годы на нескольких территориях страны, что предполагает их заносное происхождение.

Результаты изучения контаминации ООС штаммами *V. cholerae* O1 и их биологических свойств позволяют охарактеризовать ситуацию с позиции происхождения. Занос — касается единичных штаммов, однократно встречавшихся и имевших уникальный генотип. Длительное сохранение в ООС — относится к штаммам с одинаковым генотипом, но повторно выявляемых в разных местах и в разное время. При этом мы не исключаем факт того, что *ctxA*⁻*tcpA*⁻ штаммы с разными генотипами, но входящие в крупные кластеры (N, E, D), приобретают свою «уникальность» за счет генетической рекомбинации в водных экосистемах.

Таким образом, была дана динамическая сравнительная характеристика штаммов *V. cholerae* O1, выделенных из ООС, и *V. cholerae* nonO1/nonO139, выделенных от людей, в 2013–2019 гг., по фенотипическим признакам, что позволило дать оценку данным штаммам с позиций распространения и происхождения. Результаты проведённых исследований являются ключевым моментом в оценке эпидемиологической ситуации по холере на территории нашей страны как неустойчивой (по показателю контаминации ООС *V. cholerae* O1) и не прерывшей существенных изменений за 7-летний период.

Полученные данные могут быть использованы для совершенствования микробиологической составляющей мониторинга холеры в рамках эпидемиологического надзора за холерой на территории субъектов РФ, а также при обосновании прогноза развития эпидемиологической ситуации по этой инфекции в России на современном этапе 7-й пандемии.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Москвитина Э.А., Янович Е.Г., Кругликов В.Д., Титова С.В., Куриленко М.Л., Пичурина Н.Л. и др. Прогноз по холере на 2019 г. на основании анализа эпидемиологической обстановки в мире, СНГ и России в 2009–2018 гг. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; (1): 64–73. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-1-64-73>

2. Seventy-first world health assembly. Cholera prevention and control; 2018. Agenda item 11.2. Available at: https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA71/A71_R4-en.pdf

3. Миронова Л.В. Современные представления о закономерностях эпидемического процесса при холере: экологические и молекулярно-биологические аспекты. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2018; 23(5): 242–50. <https://doi.org/10.18821/1560-9529-2018-23-5-242-250>

4. Онищенко Г.Г., Попова А.Ю., Кутырев В.В., Смирнова Н.И., Щербак С.А., Москвитина Э.А. и др. Актуальные проблемы эпидемиологического надзора, лабораторной диагностики и профилактики холеры в Российской Федерации. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2016; 93(1): 89–101. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2016-1-89-101>

5. Смирнова Н.И., Агафонова Е.Ю., Щелканова Е.Ю., Агафонов Д.А., Краснов Я.М., Ливанова Л.Ф. и др. Геномное разнообразие нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1, выделенных на территории России и сопредельных стран. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2018; 36(2): 76–84. <https://doi.org/10.18821/0208-0613-2018-36-2-76-84>

6. Агафонова Е.Ю., Смирнова Н.И., Альхова Ж.В., Краснов Я.М., Ливанова Л.Ф., Лозовский Ю.В. и др. Нетоксигенные штаммы *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор, выделенные на территории России: молекулярно-генетические особенности и патогенные свойства. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2019; 96(2): 13–24. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-2-13-24>

7. Миронова Л.В., Бочалгин Н.О., Гладких А.С., Феранчук С.И., Пономарева А.С., Балахонов С.В. Филогенетическое положение и особенности структуры геномов *ctxA*⁻*tcpA*⁺ *Vibrio cholerae* из поверхностных водоемов на неэндемичной по холере территории. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; (1): 115–23. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-1-115-123>

8. Monakhova E.V. Phenotypic and molecular characteristics of epidemic and non-epidemic *Vibrio cholerae* strains isolated in Russia and certain countries of Commonwealth of Independent States (CIS). In: Ramamurthy T., Bhattacharya S.K., eds. *Epidemiological and Molecular Aspects on Cholera*. New York: Springer Science+Business Media; 2011: 51–78. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-265-0_4

9. Монахова Е.В., Архангельская И.В. Холерные вибрионы неO1/неO139 серогрупп в этиологии острых кишечных инфекций: современная ситуация в России и в мире. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; (2): 14–23. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2016-2-14-23>

10. Крицкий А.А., Заднова С.П., Плеханов Н.А., Челдышова Н.Б., Смирнова Н.И. Адаптационные свойства типичных и генетических измененных штаммов *Vibrio cholerae* биовара El Tor в условиях недостатка питательных веществ. В кн.: *Молекулярная диагностика — 2018. Сборник трудов Международной научно-практической конференции*. М.; 2018: 448–9.

11. Кульшань Т.А., Заднова С.П., Челдышева Н.Б., Смирнова Н.И. Оценка функциональных особенностей и стрессоустойчивости изогенных токсигенных и нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2015; 92(3): 11–7.

12. Faruque S.M., Nair G.B. Molecular ecology of toxigenic *Vibrio cholerae*. *Microbiol. Immunol.* 2002; 46(2): 59–66. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2002.tb02659.x>

13. Титова С.В., Монахова Е.В., Архангельская И.В., Писанов Р.В., Непомнящая Н.Б. Природные популяции холерных вибрионов как резервуар генов факторов патогенности. *Здоровье населения и среда обитания*. 2016; (5): 45–7.

14. Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Титова С.В., Архангельская И.В., Непомнящая Н.Б. и др. ГИС:

- возможности анализа данных фено- и генотипирования холерных вибрионов O1 Эль Тор, изолированных из водных объектов окружающей среды на территории Российской Федерации. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2016; 93(6): 19–25.
15. Зубкова Д.А., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Непомнящая Н.Б., Шестиалтынова И.С., Архангельская И.В. и др. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2014621055. Геоинформационная система. Холера 1989–2014; 2014.
 16. Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Непомнящая Н.Б. Способ идентификации нетоксигенных штаммов холерных вибрионов O1 серогруппы с помощью ПЦР для выделения генетических детерминант. Патент РФ № 2665542; 2018.
 17. Балахонов С.В., Миронова Л.В., Афанасьев М.В., Куликалова Е.С., Остяк А.С. MALDI-TOF масс-спектрометрическое определение видовой принадлежности патогенов в совершенствовании эпидемиологического надзора за опасными инфекционными болезнями. *Бактериология*. 2016; 1(1): 88–95. <https://doi.org/10.20953/2500-1027-2016-1-88-94>
 18. Писанов Р.В., Ежова М.И., Монахова Е.В., Черкасов А.В., Краснов Я.М., Водопьянов А.С. и др. Особенности структуры генома токсигенного штамма *Vibrio cholerae* El Tor Инаба, выделенного в 2014 г. из открытого водоема в Ростове-на-Дону. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; (2): 63–7. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2015-2-63-67>
 19. Мазрухо А.Б., Кругликов В.Д., Монахова Е.В., Москвитина Э.А., Шестиалтынова И.С., Подойницына О.А. и др. Результаты мониторинга за холерными вибрионами в акватории Таганрогского залива Азовского моря в 2011–2012 гг. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2013; (6): 39–42.
 20. Бочалгин Н.О., Миронова Л.В., Беляева А.С., Балахонов С.В. Разработка схемы полногеномного мультилокусного сиквенс-типирования *Vibrio cholerae*. В кн.: *Холера и патогенные для человека вибрионы: сборник статей Проблемной комиссии (48.04) Координационного совета по санитарной охране территории Российской Федерации. Выпуск 32*. Новосибирск: Типография Прогресс; 2019: 162–3.
 21. Kumar P., Thulaseedharan A., Chowdhury G., Ramamurthy T., Thomas S. Characterization of novel alleles of toxin co-regulated pilus A gene (*tcpA*) from environmental isolates of *Vibrio cholerae*. *Curr. Microbiol.* 2011; 62(3): 758–63. <https://doi.org/10.1007/s00284-010-9774-3>
- #### REFERENCES
1. Moskvitina E.A., Yanovich E.G., Kruglikov V.D., Titova S.V., Kurilenko M.L., Pichurina N.L., et al. Cholera forecast for the year 2019 based on assessment of epidemiological situation around the world, across CIS and Russia in 2009–2018. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2019; (1): 64–73. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2019-1-64-73> (in Russian)
 2. Seventy-first world health assembly. Cholera prevention and control; 2018. Agenda item 11.2. Available at: https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA71/A71_R4-en.pdf
 3. Mironova L.V. Current conceptions concerning the objective laws of a cholera epidemic process: ecological and molecular biological aspects. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2018; 23(5): 242–50. <https://doi.org/10.18821/1560-9529-2018-23-5-242-250> (in Russian)
 4. Onishchenko G.G., Popova A.Yu., Kutyrev V.V., Smirnova N.I., Shcherbakova S.A., Moskvitina E.A., et al. Actual problems of epidemiologic control, laboratory diagnostics and prophylaxis of cholera in Russian Federation. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2016; 93(1): 89–101. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2016-1-89-101> (in Russian)
 5. Smirnova N.I., Agafonova E.Yu., Shchelkanova E.Yu., Agafonov D.A., Krasnov Ya.M., Livanova L.F., et al. Genomic diversity of nontoxicogenic *Vibrio cholerae* O1 strains isolated in the territory of Russia and neighboring states. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya*. 2018; 36(2): 76–84. <https://doi.org/10.18821/0208-0613-2018-36-2-76-84> (in Russian)
 6. Agafonova E.Yu., Smirnova N.I., Al'khova Zh.V., Krasnov Ya.M., Livanova L.F., Lozovskiy Yu.V., et al. Non-toxicogenic strains of *Vibrio cholerae* biovar El Tor, isolated in the territory of Russia: molecular-genetic peculiarities and pathogenic properties. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2019; 96(2): 13–24. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-2-13-24> (in Russian)
 7. Mironova L.V., Bochalgin N.O., Gladkikh A.S., Feranchuk S.I., Ponomareva A.S., Balakhonov S.V. Phylogenetic affinity and genome structure features of *ctxAB*–*tcpA* *Vibrio cholerae* from the surface waterbodies in the territory that is non-endemic as regards cholera. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2020; (1): 115–23. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-1-115-123> (in Russian)
 8. Monakhova E.V. Phenotypic and molecular characteristics of epidemic and non-epidemic *Vibrio cholerae* strains isolated in Russia and certain countries of Commonwealth of Independent States (CIS). In: Ramamurthy T., Bhattacharya S.K., eds. *Epidemiological and Molecular Aspects on Cholera*. New York: Springer Science+Business Media; 2011: 51–78. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-265-0_4
 9. Monakhova E.V., Arkhangel'skaya I.V. Cholera vibrios of non-O1/nonO139 serogroups in etiology of acute intestinal infections: current situation in Russia and around the world. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2016; (2): 14–23. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2016-2-14-23> (in Russian)
 10. Kritskiy A.A., Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Cheldyshova N.B., Smirnova N.I. *Vibrio cholerae* strains of the El Tor biovar under conditions of nutrient deficiency. In: *Molecular Diagnostics — 2018. Proceedings of the International Scientific and Practical Conference [Molekulyarnaya diagnostika – 2018. Sbornik trudov Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii]*. Moscow; 2018: 448–9. (in Russian)
 11. Kul'shan' T.A., Zadnova S.P., Cheldysheva N.B., Smirnova N.I. Evaluation of functional features and stress resistance of isogenic toxigenic and non-toxicogenic biovar El Tor *Vibrio cholerae* strains. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2015; 92(3): 11–7. (in Russian)
 12. Faruque S.M., Nair G.B. Molecular ecology of toxigenic *Vibrio cholerae*. *Microbiol. Immunol.* 2002; 46(2): 59–66. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2002.tb02659.x>
 13. Titova S.V., Monakhova E.V., Arkhangel'skaya I.V., Pisano R.V., Nepomnyashchaya N.B. Natural populations of *Vibrio cholerae* as a reservoir of virulence-associated genes. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2016; (5): 45–7. (in Russian)
 14. Levchenko D.A., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Titova S.V., Arkhangel'skaya I.V., Nepomnyashchaya N.B., et al. GIS: capabilities of data analysis of pheno- and genotyping of El Tor O1 serogroup cholera vibrios isolated from aquatic objects of the environment in Russia Federation. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2016; 93(6): 19–25. (in Russian)
 15. Zubkova D.A., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Nepomnyashchaya N.B., Shestialtynova I.S., Arkhangel'skaya I.V., et al. Certificate of state registration of the database No. 2014621055. Geoinformation system. Cholera 1989–2014; 2014. (in Russian)
 16. Levchenko D.A., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Nepomnyashchaya N.B. Method for identification of non-toxicogenic strains of cholera vibrios of O1 serogroup using PCR for isolation of genetic determinants. Patent RF № 2665542; 2018. (in Russian)

17. Balakhonov S.V., Mironova L.V., Afanas'ev M.V., Kulikalova E.S., Ostyak A.S. MALDI-ToF mass-spectrometric detection of pathogen specific belonging in improvement of epidemiological surveillance for dangerous infectious diseases. *Bakteriologiya*. 2016; 1(1): 88–95. <https://doi.org/10.20953/2500-1027-2016-1-88-94> (in Russian)
18. Pisanov R.V., Ezhova M.I., Monakhova E.V., Cherkasov A.V., Krasnov Ya.M., Vodop'yanov A.S., et al. Peculiarities of genome structure of toxigenic *Vibrio cholerae* El Tor Inaba strain, isolated from a surface water body in the territory of Rostov-on-Don in 2014. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2015; (2): 63–7. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2015-2-63-67> (in Russian)
19. Mazrukho A.B., Kruglikov V.D., Monakhova E.V., Moskvitina E.A., Shestialynova I.S., Podoynitsyna O.A., et al. The results of the monitoring of *Vibrio cholerae* in the Taganrog bay of the Azov sea in 2011–2012. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2013; (6): 39–42. (in Russian)
20. Bochalgin N.O., Mironova L.V., Belyaeva A.S., Balakhonov S.V. Development of a scheme for full-genome multilocus sequence typing of *Vibrio cholerae*. In: *Cholera and Pathogenic for Humans, Vibrio cholerae: A Collection of Articles of the Commission (48.04) Coordination Council for Sanitary Protection of the Territory of the Russian Federation. Issue 32 [Kholera i patogennyye dlya cheloveka vibriony: sbornik statey Problemnoy komissii (48.04) Koordinatsionnogo soveta po sanitarnoy okhrane territorii Rossiyskoy Federatsii. Vypusk 32]*. Novosibirsk: Tipografiya Prodvizhenie; 2019: 162–3. (in Russian)
21. Kumar P., Thulaseedharan A., Chowdhury G., Ramamurthy T., Thomas S. Characterization of novel alleles of toxin co-regulated pilus A gene (*tcpA*) from environmental isolates of *Vibrio cholerae*. *Curr. Microbiol.* 2011; 62(3): 758–63. <https://doi.org/10.1007/s00284-010-9774-3>

Информация об авторах

Носков Алексей Кимович — к.м.н., директор Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

Кругликов Владимир Дмитриевич[✉] — д.м.н., г.н.с., зав. лаб. микробиологии холеры Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, vd kru58@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6540-2778>

Лопатин Антон Александрович — к.м.н., директор Противочумного центра Роспотребнадзора, Москва, Москва, <https://orcid.org/0000-0002-5426-3311>

Чемисова Ольга Сергеевна — к.б.н., в.н.с., зав. отд. «Музей живых культур с Центром патогенных для человека холерных вибрионов» Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>

Левченко Дарья Александровна — к.м.н., с.н.с. лаб. микробиологии холеры Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-4676-0377>

Иванова Светлана Михайловна — зам. директора Противочумного центра Роспотребнадзора, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6999-1875>

Монахова Елена Владимировна — д.б.н., г.н.с., рук. группы молекулярной биологии лаборатории микробиологии холеры Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9216-7777>

Архангельская Ирина Викторовна — к.м.н., н.с. лаб. микробиологии холеры Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7569-8584>

Водопьянов Алексей Сергеевич — к.м.н., с.н.с. лаб. диагностики особо опасных инфекций Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8884-968X>

Гаевская Наталья Евгеньевна — к.м.н., в.н.с., зав. лаб. бактериофагов Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0762-3628>

Подойницына Оксана Андреевна — к.б.н., н.с. лаб. микробиологии холеры Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9996-4189>

Ежова Мария Ивановна — н.с. лаб. микробиологии холеры Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4254-3313>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 11.06.2020;
принята к публикации 20.10.2020;
опубликована 20.03.2021

Information about the authors

Alexey K. Noskov — Cand. Sci. (Med.), director, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-05502221>

Vladimir D. Kruglikov[✉] — D. Sci. (Med.), chief researcher, Head, Laboratory of cholera microbiology, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russia, vd kru58@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6540-2778>

Anton A. Lopatin — Cand. Sci. (Med.), director, Anti-Plague Center, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5426-3311>

Olga S. Chemisova — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Head, Museum of live cultures with the Center for *Vibrio cholerae* pathogenic for humans, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>

Daria A. Levchenko — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Laboratory of cholera microbiology, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-4676-0377>

Svetlana M. Ivanova — deputy director, Anti-Plague Center, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6999-1875>

Elena V. Monakhova — D. Sci. (Biol.), chief researcher, Head, Molecular biology group, Laboratory of cholera microbiology, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9216-7777>

Irina V. Arkhangelskaya — Cand. Sci. (Med.), researcher, Laboratory of cholera microbiology, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7569-8584>

Alexey S. Vodopyanov — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Laboratory for the diagnosis of highly dangerous infections, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8884-968X>

Natalya E. Gayevskaya — Cand. Sci. (Med.), leading researcher, Head, Bacteriophage laboratory, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0762-3628>

Oksana A. Podoynitsyna — Cand. Sci. (Biol.), researcher, Laboratory of cholera microbiology, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9996-4189>

Maria I. Yezhova — researcher, Laboratory of cholera microbiology, Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4254-3313>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 11.06.2020;
accepted for publication 20.10.2020;
published 20.03.2021

Научная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-67>

Ассоциация увеличения количества циркулирующих CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов с распространённостью каротидного атеросклероза

Долгушин И.И., Генкель В.В.[✉], Батурина И.Л., Емельянов И.В., Савочкина А.Ю., Шапошник И.И.

Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

Аннотация

Введение. Изучение роли нейтрофилов в инициации и прогрессировании атеросклероза и развитии его осложнений активно ведется лишь на протяжении последних нескольких лет. К настоящему времени имеются данные, свидетельствующие о важной роли оси CXCL12/CXCR4 в поддержании воспаления при различных хронических воспалительных заболеваниях путем задержки нейтрофилов в очагах воспаления.

Цель исследования — установить диагностическую и прогностическую значимость циркулирующих CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов у пациентов с каротидным атеросклерозом.

Материалы и методы. Обследовали 75 пациентов (52% мужчин и 48% женщин) в возрасте 40–64 лет без установленных атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний. Всем пациентам проводили дуплексное сканирование артерий каротидного бассейна. Фенотипирование и дифференцировку субпопуляций нейтрофилов осуществляли методом проточной цитометрии с использованием конъюгатов моноклональных антител CD16, CD11b, CD62L, CD182 (CXCR2) и CD184 (CXCR4).

Результаты. Атеросклеротические бляшки в артериях каротидного бассейна были выявлены у 72% пациентов, при этом у большинства пациентов диагностировано стенозирование более одной сонной артерии (СА). Увеличение количества циркулирующих CXCR4^{hi}-нейтрофилов ассоциировалось с уровнями общего холестерина ($r = 0,377$; $p = 0,001$), холестерина липопротеинов низкой плотности ($r = 0,293$; $p = 0,014$) и триглицеридов ($r = 0,388$; $p = 0,003$). Выявлены прямые корреляционные связи между количеством циркулирующих CXCR4^{hi}-нейтрофилов и суммарным процентом стенозирования СА ($r = 0,300$; $p = 0,011$), а кроме того — с количеством стенозированных СА ($r = 0,291$; $p = 0,034$). Отмечено статистически значимое нарастание количества CXCR4^{hi}-нейтрофилов по мере увеличения количества стенозированных СА ($p = 0,025$). По данным ROC-анализа, увеличение количества CXCR4^{hi}-нейтрофилов ≥ 260 кл/мкл позволяло диагностировать стенозирующее поражение 4 СА с чувствительностью 71,4% и специфичностью 76,6%.

Заключение. У пациентов с каротидным атеросклерозом увеличение количества циркулирующих CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов ассоциировалось с увеличением числа стенозированных СА при отсутствии значимых изменений в других оцениваемых субпопуляциях нейтрофильных гранулоцитов. Увеличение количества CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов позволяло с достаточной чувствительностью и специфичностью диагностировать стенозирующее поражение 4 СА.

Ключевые слова: атеросклероз, нейтрофилы, каротидный атеросклероз, стареющие нейтрофилы

Этическое утверждение. Исследование проводилось при информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ЮУГМУ.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

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

Для цитирования: Долгушин И.И., Генкель В.В., Батурина И.Л., Емельянов И.В., Савочкина А.Ю., Шапошник И.И. Ассоциация увеличения количества циркулирующих CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов с распространённостью каротидного атеросклероза. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98(2): 176–183. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-67>

Original article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-67>

Association of the increased circulating CD62L^{lo}CXCR4^{hi} neutrophil count with carotid atherosclerosis

Ilya I. Dolgushin, Vadim V. Genkel[✉], Irina L. Baturina, Ilya V. Emelyanov, Albina Y. Savochkina, Igor I. Shaposhnik

South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

Abstract

Introduction. The role of neutrophils in the initiation and progression of atherosclerosis as well as in the development of its complications has received scientific attention only in the recent years. Today, there is growing evidence to support a role of the CXCL12/CXCR4 axis in sustained inflammation during different chronic inflammatory diseases by retaining neutrophils at inflammatory sites.

The aim of the study is to assess the diagnostic and prognostic significance of circulating CD62L^{lo}CXCR4^{hi} neutrophils in patients with carotid atherosclerosis.

Materials and methods. A total of 75 patients (52% of men and 48% of women) aged 40 to 64 years were examined. None of them were diagnosed with atherosclerotic cardiovascular diseases. All the patients underwent carotid artery duplex scanning. The flow cytometry and CD16, CD11b, CD62L, CD182 (CXCR2) and CD184 (CXCR4) conjugated monoclonal antibodies were used for phenotyping and differentiation of neutrophil subpopulations.

Results. Atherosclerotic plaques in carotid arteries were detected in 72% of the patients; most of the patients were diagnosed with stenosis development in more than one of the carotid arteries (CA). The elevated levels of circulating CXCR4^{hi} neutrophils were associated with the levels of total cholesterol ($r = 0.377$; $p = 0.001$), low-density lipoprotein (LDL) cholesterol ($r = 0.293$; $p = 0.014$) and triglycerides ($r = 0.388$; $p = 0.003$). The study revealed direct correlation between the circulating CXCR4^{hi} neutrophil count and the cumulative percentage of CA stenosis ($r = 0.300$; $p = 0.011$), including the number of stenosed CA ($r = 0.291$; $p = 0.034$). It was also found that CXCR4^{hi} neutrophil counts demonstrated a statistically significant increase along with the increased number of stenosed CA ($p = 0.025$). The ROC analysis findings show that the elevated CXCR4^{hi} neutrophil counts ≥ 260 cells/ μ L made it possible to diagnose stenotic lesion of 4 CAs with a sensitivity of 71.4% and specificity reaching 76.6%.

Conclusion. In patients with carotid atherosclerosis, the increased count of circulating CD62L^{lo}CXCR4^{hi} neutrophils was associated with the increased number of stenosed CAs, while no significant changes were observed in the other examined subpopulations of neutrophil granulocytes. The increased CD62L^{lo}CXCR4^{hi} neutrophil count made it possible to diagnose stenotic lesion of 4 CAs with a sufficient sensitivity and specificity.

Keywords: atherosclerosis, neutrophils, carotid atherosclerosis, aged neutrophils

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the South-Ural State Medical University.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Dolgushin I.I., Genkel V.V., Baturina I.L., Emelyanov I.V., Savochkina A.Y., Shaposhnik I.I. Association of the increased circulating CD62L^{lo}CXCR4^{hi} neutrophil count with carotid atherosclerosis. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2021; 98(2): 176–183. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-67>

Введение

Изучение роли нейтрофилов в инициации и прогрессировании атеросклероза и развитии его осложнений активно ведется лишь на протяжении последних нескольких лет [1]. Этому во многом способствовали новые открытия в биологии нейтрофилов, которые позволили пересмотреть традиционные представления о длительности их жизни и неоднородности популяционного состава [2]. Открытие новых патофизиологических механизмов, посредством которых нейтрофильные гранулоциты влияют на атерогенез и развитие сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), привело к рассмотрению их в качестве терапевтической мишени и дало начало целому ряду клинических исследований [3, 4].

Установлено, что на протяжении своей жизни нейтрофилы изменяют фенотип. Это процесс принято обозначать как «старение нейтрофилов» [5]. Центральную роль в данных процессах играет ось C-X-C motif chemokine ligand (CXCL)12/CXCR4 [6]. Также важен тот факт, что старение нейтрофила оказывает существенное влияние на его функциональные особенности: снижается экспрессия CD62L, увеличивается экспрессия CD11b, TLR4,

способность к формированию внеклеточных нейтрофильных ловушек и продукции активных форм кислорода [7]. К настоящему времени имеются данные, свидетельствующие о важной роли оси CXCL12/CXCR4 в поддержании воспаления при различных хронических воспалительных заболеваниях путем задержки нейтрофилов в очагах воспаления [8, 9]. Установлено увеличение экспрессии CXCR4 на циркулирующих нейтрофилах при хронических воспалительных заболеваниях, например при системной красной волчанке [10]. В ряде экспериментальных исследований была показана проатерогенная роль CXCL12, являющегося лигандом для CXCR4 [11]. Наблюдается увеличение экспрессии CXCL12 в нестабильных атеросклеротических бляшках (АСБ) [12]. Диагностическая и прогностическая роль циркулирующих CXCR4^{hi}-нейтрофилов у пациентов с атеросклеротическими ССЗ требует изучения в клинических исследованиях.

Цель исследования: установить диагностическую и прогностическую значимость циркулирующих CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов у пациентов с каротидным атеросклерозом.

Материалы и методы

В исследование включали 75 пациентов (39 (52%) мужчин и 36 (48%) женщин) в возрасте 40–64 лет без установленных атеросклеротических ССЗ, прошедших дуплексное ультразвуковое сканирование артерий каротидного бассейна по направлению лечащего врача с целью уточнения кардиоваскулярного риска (КВР). Необходимым условием включения пациентов в исследование было подписанное информированное согласие. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом ЮУГМУ.

Критериями невключения в исследование и/или исключения из исследования являлись следующие клинические состояния:

- установленные ранее атеросклеротические ССЗ (цереброваскулярная болезнь в анамнезе, ишемическая болезнь сердца, заболевание периферических артерий, реваскуляризация коронарных или периферических артерий);
- тяжелые нарушения функции печени и почек (снижение скорости клубочковой фильтрации до уровня менее 30 мл/мин/1,73 м²);
- злокачественные новообразования;
- установленные хронические воспалительные заболевания;
- острые воспалительные или инфекционные заболевания в предшествующие 28 дней.

Ультразвуковое исследование

Всем пациентам проводили дуплексное сканирование артерий каротидного бассейна. Осматривали с обеих сторон в продольном и поперечном сечении на всем протяжении следующие сосуды: общие сонные артерии (ОСА) с бифуркацией ОСА, внутренние сонные артерии (ВСА), наружные сонные артерии (НСА) из переднего, латерального и заднего доступов. Исследование проводили в В-режиме, режиме цветового картирования, импульсной доплерографии, энергетической доплерографии на цифровом ультразвуковом многофункциональном диагностическом сканере «Samsung Medison ЕКО7» с использованием линейного датчика с частотой 10 МГц.

Толщину комплекса интима–медиа (ТКИМ) определяли в автоматическом режиме (функция AutoIMT) с обеих сторон в дистальной трети ОСА на 1 см проксимальнее бифуркации ОСА из переднего доступа. Среднюю ТКИМ ОСА (ТКИМ_{ср}) определяли по формуле:

$$\text{ТКИМ}_{\text{ср}} = \frac{(\text{ТКИМ ОСА}_{\text{слева}} + \text{ТКИМ ОСА}_{\text{справа}})}{2}$$

АСБ считали фокальное утолщение комплекса интима–медиа более 1,5 мм, либо на 0,5 мм больше окружающей ТКИМ, либо на 50% больше ТКИМ прилежащих участков ОСА [13]. Процент стенози-

рования измеряли планиметрически в В-режиме по диаметру в поперечном сечении сосуда. Процент стеноза определяли согласно методу ECST (The European Carotid Surgery Trial) [14]. В случае выявления АСБ, стенозирующих просвет сосудов, определяли максимальный процент стеноза у конкретного пациента и суммарный процент стенозирования СА. Определяли количество стенозированных ОСА и ВСА (максимальное количество — 4).

Лабораторное исследование

Определяли следующие лабораторные показатели: общий холестерин (ХС), ХС липопротеинов низкой (ХС ЛПНП) и высокой плотности (ХС ЛПВП), триглицериды, гликированный гемоглобин, креатинин с последующим расчетом скорости клубочковой фильтрации по формуле СКД-ЕРІ, высокочувствительный С-реактивный белок.

Фенотипирование и дифференцировку субпопуляций нейтрофилов осуществляли методом проточной цитометрии на аппарате «Navios 6/2» («Beckman Coulter») с использованием конъюгатов моноклональных антител — CD16-PE-Cy7.0 («Invitrogen»), CD11b-FITC, CD62L-PE («Beckman Coulter»), CD182 (CXCR2)-PE-Cy5.0 («BD Biosciences»), CD184 (CXCR4)-PE-CF594 («BD Biosciences»). Фенотипирование нейтрофилов проводили в цельной крови с детекцией не менее 30 000 событий.

Статистический анализ

Анализ полученных данных проводили с использованием пакета статистического анализа данных «IBM SPSS Statistics v.18». Качественные переменные описывали абсолютными и относительными частотами (процентами). Количественные переменные описывали медианой (Me) с указанием интерквартильного интервала (Q₂₅–Q₇₅) в случае несоответствия распределения величины нормальному, средним и стандартным отклонением — в случае нормального распределения величины. В целях определения взаимосвязей показателей использовали корреляционный анализ Спирмена. Для оценки различий между двумя группами использовали критерий Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при критическом уровне значимости 0,05.

Для выявления независимых предикторов зависимости переменной использовали множественный логистический регрессионный анализ, позволяющий выявить зависимость бинарной категориальной переменной от ряда других переменных — как непрерывных, так и категориальных. Для оценки зависимости одной количественной переменной от другой применяли процедуру линейной регрессии. С целью установления пороговых значений исследуемых показателей проводили ROC-анализ с

определением чувствительности и специфичности, а также расчётом площади под характеристической кривой с 95% доверительным интервалом.

Результаты

Клиническая характеристика пациентов представлена в **табл. 1**.

Таблица 1. Клиническая и лабораторная характеристика пациентов

Table 1. Clinical characteristics of patients

Показатель Parameter	Значение Value
Возраст, лет, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Age, years, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	50,0 (44,5; 56,0)
Индекс массы тела, кг/м ² , Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Body mass index, kg/m ² , Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	27,4 (25,0; 31,2)
Ожирение, n (%) Obesity, n (%)	23 (30,6)
Абдоминальное ожирение, n (%) Abdominal obesity, n (%)	45 (60,0)
Курение, n (%) Smoking, n (%)	16 (21,3)
Сахарный диабет 2-го типа, n (%) Type 2 diabetes mellitus, n (%)	5 (6,66)
Артериальная гипертензия, n (%) Hypertension, n (%)	38 (50,6)
Дезагреганты, n (%) Antiplatelets, n (%)	9 (12,0)
β-Адреноблокаторы, n (%) β-Blockers, n (%)	19 (25,3)
Ингибиторы ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, n (%) Inhibitors of renin-angiotensin system, n (%)	19 (25,3)
Диуретики, n (%) Diuretics, n (%)	8 (10,6)
Статины, n (%) Statins, n (%)	23 (30,6)
Пероральные сахароснижающие препараты, n (%) Oral hypoglycemic agents, n (%)	6 (8,00)
Общий ХС, ммоль/л, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Total cholesterol, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	5,80 (5,14; 6,50)
ХС ЛПНП, ммоль/л, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Low-density lipoproteins cholesterol, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	3,46 (2,96; 4,26)
ХС ЛПВП, ммоль/л, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) High-density lipoproteins cholesterol, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	1,40 (1,19; 1,61)
Триглицериды, ммоль/л, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Triglycerides, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	1,33 (1,00; 1,80)
Высокочувствительный С-реактивный белок, мг/л, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) High sensitivity C-reactive protein, mg/l, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	1,40 (0,85; 3,48)
Гликированный гемоглобин, %, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Glycated hemoglobin, %, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	5,67 (5,20; 6,05)
Скорость клубочковой фильтрации, мл/мин/1,73 м ² , Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Estimated glomerular filtration rate, ml/min/1.73 m ² , Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	73,0 (61,8; 96,5)

В соответствии с актуальными европейскими рекомендациями на момент включения в исследование очень высокий КВР был установлен у 13 (17,3%) пациентов, высокий КВР — у 11 (14,6%), умеренный КВР — у 31 (41,3%), низкий — у 20 (26,6%) [15].

АСБ в артериях каротидного бассейна были выявлены у 72% пациентов (**табл. 2**). При этом у большинства пациентов было диагностировано стенозирование более одной СА.

По данным корреляционного анализа установлено, что увеличение количества циркулирующих CXCR4^{hi}-нейтрофилов (**табл. 3**) ассоциировалось с уровнями общего ХС ($r = 0,377$; $p = 0,001$), ХС ЛПНП ($r = 0,293$; $p = 0,014$), триглицеридов ($r = 0,388$; $p = 0,003$). Также выявлены прямые кор-

Таблица 2. Результаты дуплексного ультразвукового сканирования каротидных артерий

Table 2. Results of carotid duplex ultrasound scanning

Показатель Parameter	Значение Value
ТКИМ _{cp} ОСА, мм, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Mean carotid intima-media thickness, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	0,65 (0,56; 0,71)
АСБ в СА, n (%) Carotid plaque, n (%)	54 (72,0)
Максимальный процент стеноза у конкретного пациента, %, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Maximal carotid stenosis, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	24,0 (0,00; 32,0)
Суммарный процент стенозирования СА, %, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅) Total carotid stenosis, Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	27,0 (0,00; 73,0)
Стенозы СА ≥50%, n (%) Carotid stenosis ≥50%, n (%)	5 (6,66)
Количество стенозированных СА, n (%) Number of carotid arteries with stenosis, n (%)	
1	19 (25,3)
2	16 (21,3)
3	12 (16,0)
4	7 (9,33)

Таблица 3. Дифференцировка нейтрофилов в исследуемой когорте пациентов

Table 3. Differentiation of neutrophils in the studied cohort of patients

Фенотип нейтрофилов Neutrophil phenotype	Значение, кл/мкл Value, cells/μl
CD16 ^{hi} CD11b ^{hi} CD62L ^{hi} (взрослые нейтрофилы) (mature neutrophils)	2666 (2111; 3313)
CD16 ^{hi} CD11b ^{hi} CD62L ^{lo} (активированные нейтрофилы) (activated neutrophils)	27,5 (14,0; 46,2)
CD16 ^{hi} CD11b ^{br} CD62L ^{lo} CXCR4 ^{hi} (старяющиеся нейтрофилы) (aging neutrophils)	185 (98,5; 269)

реляционные связи между количеством циркулирующих CXCR4^{hi}-нейтрофилов и суммарным процентом стенозирования СА ($r = 0,300$; $p = 0,011$), а кроме того — с количеством стенозированных СА ($r = 0,291$; $p = 0,034$).

Как видно из **рис. 1**, количество CXCR4^{hi}-нейтрофилов значимо нарастало по мере увеличения количества стенозированных СА ($p = 0,025$). Так, у пациентов с поражением 4 СА количество CXCR4^{hi}-нейтрофилов (341 (229; 420) кл/мкл) было статистически значимо выше, чем у пациентов с поражением 1 СА (182 (85,0; 267) кл/мкл; $p = 0,042$) и 2 СА (110 (60,5; 232) кл/мкл; $p = 0,006$). Количество CD16^{hi}CD11b^{br}CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов также было значимо выше у пациентов со стенозами 3 СА в сравнении с пациентами, имеющими стенозы в 2 СА, — 240 (176; 311) кл/мкл против 110 (60,5; 232) кл/мкл ($p = 0,020$).

С целью определения возможной предиктивной ценности количества циркулирующих CD16^{hi}CD11b^{br}CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов в отношении наличия распространённого атеросклероза артерий каротидного бассейна с формированием стенотического поражения 4 СА был проведен ROC-анализ (**рис. 2**).

Увеличение количества CXCR4^{hi}-нейтрофилов ≥ 260 кл/мкл позволяло диагностировать стенозирующее поражение 4 СА с чувствительностью 71,4% и специфичностью 76,6%. Увеличение порогового значения до 333 кл/мкл позволяло повысить специфичность до 90,6% при снижении чувствительности до 57,1%. По данным логистического регрессионного анализа, при увеличении количества циркулирующих CXCR4^{hi}-нейтрофилов ≥ 260 кл/мкл отношение шансов наличия стенозирующего поражения 4 СА составляло 14,1 (95% ДИ 1,6–119; $p = 0,015$) с поправкой на пол, возраст, наличие сахарного диабета 2-го типа и артериальной гипертензии, курения и уровня ХС ЛПНП.

Обсуждение

Исследования участия клеток врождённого и адаптивного иммунитета в атерогенезе традиционно фокусируются на моноцитах, макрофагах и Т-лимфоцитах. Важнейшая роль нейтрофилов в развитии атеросклероза и его осложнений в настоящее время не вызывает сомнений. Однако имеющиеся данные крайне неоднородны, фрагментарны и требуют дальнейших исследований *in vivo* [16].

Основными результатами проведённого исследования являются следующие:

1) в исследуемой нами группе пациентов количество «старееющих» нейтрофилов прямо коррелировало с уровнями общего ХС, ХС ЛПНП и триглицеридов;

2) по мере увеличения числа стенозированных СА отмечалось увеличение циркулирующих

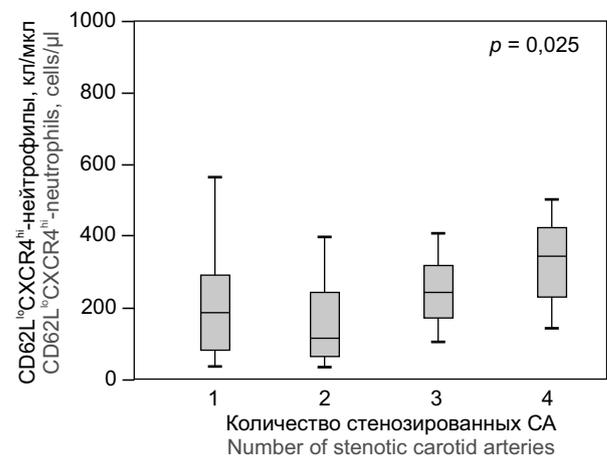


Рис. 1. Количество циркулирующих CXCR4^{hi}-нейтрофилов в зависимости от числа поражённых СА.
Fig. 1. The circulating CXCR4^{hi} neutrophil count in relation to the number of the affected CAs.

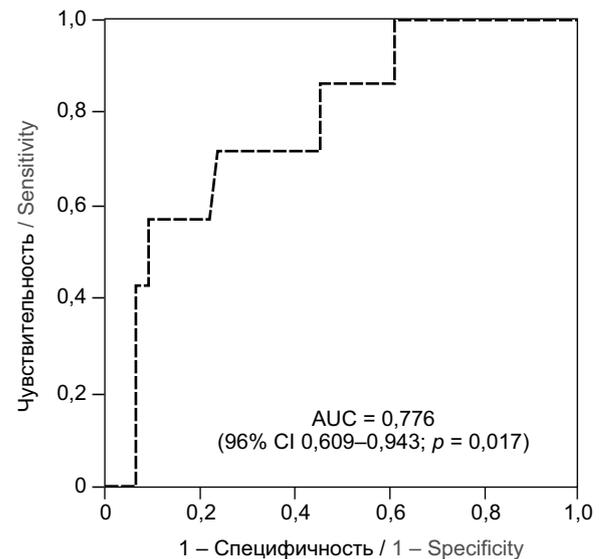


Рис. 2. ROC-кривая для CD16^{hi}CD11b^{br}CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов.

Fig. 2. ROC-curve for CD16^{hi}CD11b^{br}CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-neutrophils.

CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов при отсутствии значимых изменений в других оцениваемых субпопуляциях нейтрофильных гранулоцитов;

3) увеличение количества CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов позволяло с достаточной чувствительностью и специфичностью диагностировать стенозирующее поражение 4 СА.

CXCL12, также известный как SDF-1 (stromal cell-derived factor-1), — хемокин, играющий ключевую роль в хоуминге нейтрофилов, чьё значение в патогенезе атеросклероза на сегодняшний день точно не установлено [11]. Тем не менее доказано, что в АСБ отмечается увеличение экспрессии CXCL12, а увеличение содержания CXCL12 в сыворотке является фактором прогрессирования атеросклероза и

прямо коррелирует с тяжестью коронарного атеросклероза [17, 18]. Известно, что клиренс циркулирующих CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов происходит преимущественно в ночные часы, когда концентрация CXCL12 в костном мозге достигает пиковых значений [19]. Возможно, что в условиях системного персистирующего низкоинтенсивного воспаления, наблюдающегося при атеросклерозе, и повышения содержания CXCL12 в системной циркуляции и АСБ нарушается миграция стареющих нейтрофилов в костный мозг, увеличиваются продолжительность их жизни и содержание в крови [7]. В свою очередь, субпопуляция CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов, отличающаяся наиболее активной миграцией в очаги воспаления и способностью к формированию внеклеточных нейтрофильных ловушек и продукции активных форм кислорода, имеет максимальный потенциал для миграции в субэндотелиальное пространство с последующим поддержанием сосудистого воспаления и прогрессирования атеросклероза [8, 19, 20].

По нашему мнению, увеличение количества CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов по мере увеличения числа СА свидетельствует о большей интенсивности системного воспаления у пациентов, имеющих распространённый поливаскулярный фенотип атеросклероза [21]. Также это может подтверждать активацию одного из воспалительных сигнальных путей — CXCL12/CXCR4. Продемонстрированная в исследовании диагностическая значимость CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов в отношении атеросклеротического поражения СА говорит о возможном практическом применении количественной оценки популяционного состава нейтрофилов в диагностике и прогнозировании атеросклеротических ССЗ.

Представленное исследование имеет ряд ограничений:

- небольшое количество включённых в исследование пациентов;
- отсутствие определения сывороточной концентрации CXCL12.

Заключение

У пациентов с каротидным атеросклерозом повышение содержания циркулирующих CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов ассоциировалось с увеличением числа стенозированных СА. Количество CD62L^{lo}CXCR4^{hi}-нейтрофилов ≥ 260 кл/мкл позволяло диагностировать стенозирующее поражение 4 СА с чувствительностью 71,4% и специфичностью 76,6%.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Silvestre-Roig C., Braster Q., Ortega-Gomez A., Soehnlein O. Neutrophils as regulators of cardiovascular inflammation. *Nat. Rev. Cardiol.* 2020; 17(6): 327–40. <https://doi.org/10.1038/s41569-019-0326-7>

2. Долгушин И.И. Нейтрофильные гранулоциты: новые лица старых знакомых. *Бюллетень сибирской медицины.* 2019; 18(1): 30–7. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-1-30-37>
3. Xue Y., Wu Y., Wang Q., Xue L., Su Z., Zhang C. Cellular vehicles based on neutrophils enable targeting of atherosclerosis. *Mol. Pharm.* 2019; 16(7): 3109–20. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b00342>
4. Geng S., Zhang Y., Lee C., Li L. Novel reprogramming of neutrophils modulates inflammation resolution during atherosclerosis. *Sci. Adv.* 2019; 5(2): eaav2309. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aav2309>
5. Adrover J.M., Nicolás-Ávila J.A., Hidalgo A. Aging: a temporal dimension for neutrophils. *Trends Immunol.* 2016; 37(5): 334–45. <https://doi.org/10.1016/j.it.2016.03.005>
6. Rosales C. Neutrophil: a cell with many roles in inflammation or several cell types? *Front. Physiol.* 2018; 9: 113. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00113>
7. Bonaventura A., Montecucco F., Dallegri F., Carbone F., Lüscher T.F., Camici G.G., et al. Novel findings in neutrophil biology and their impact on cardiovascular disease. *Cardiovasc. Res.* 2019; 115(8): 1266–85. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvz084>
8. Isles H.M., Herman K.D., Robertson A.L., Loynes C.A., Prince L.R., Elks P.M., et al. The CXCL12/CXCR4 signaling axis retains neutrophils at inflammatory sites in zebrafish. *Front. Immunol.* 2019; 10: 1784. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01784>
9. Hartl D., Krauss-Etschmann S., Koller B., Hordijk P.L., Kuijpers T.W., Hoffmann F., et al. Infiltrated neutrophils acquire novel chemokine receptor expression and chemokine responsiveness in chronic inflammatory lung diseases. *J. Immunol.* 2008; 181(11): 8053–67. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.11.8053>
10. García-Cuesta E.M., Santiago C.A., Vallejo-Díaz J., Juarranz Y., Rodríguez-Frade J.M., Mellado M. The role of the CXCL12/CXCR4/ACKR3 axis in autoimmune diseases. *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2019; 10: 585. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00585>
11. Li L., Du Z., Rong B., Zhao D., Wang A., Xu Y., et al. Foam cells promote atherosclerosis progression by releasing CXCL12. *Biosci. Rep.* 2020; 40(1): BSR20193267. <https://doi.org/10.1042/BSR20193267>
12. Merckelbach S., van der Vorst E.P.C., Kallmayer M., Rischpler C., Burgkart R., Döring Y., et al. Expression and cellular localization of CXCR4 and CXCL12 in human carotid atherosclerotic plaques. *Thromb. Haemost.* 2018; 118(1): 195–206. <https://doi.org/10.1160/TH17-04-0271>
13. Sprynger M., Rigo F., Moonen M., Aboyns V., Edvardsen T., de Alcantara M.L., et al. Focus on echovascular imaging assessment of arterial disease: complement to the ESC guidelines (PARTIM 1) in collaboration with the Working Group on Aorta and Peripheral Vascular Diseases. *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging.* 2018; 19(11): 1195–221. <https://doi.org/10.1093/ehjci/jey103>
14. Mozzini C., Roscia G., Casadei A., Cominacini L. Searching the perfect ultrasonic classification in assessing carotid artery stenosis: comparison and remarks upon the existing ultrasound criteria. *J. Ultrasound.* 2016; 19(2): 83–90. <https://doi.org/10.1007/s40477-016-0193-6>
15. Mach F., Baigent C., Catapano A.L., Koskinas K.C., Casula M., Badimon L., et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur. Heart J.* 2020; 41(1): 111–88. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz455>
16. Саранчина Ю.В., Дутова С.В., Килина О.Ю., Ханарин Н.В., Кулакова Т.С. Роль нейтрофилов в патогенезе атеросклероза. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2018; 17(6): 110–6. <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2018-6-110-116>
17. Sjaarda J., Gerstein H., Chong M., Yusuf S., Meyre D., Anand S.S., et al. Blood CSF1 and CXCL12 as causal mediators

- of coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2018; 72(3): 300–10. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.04.067>
18. Tavakolian Ferdousie V., Mohammadi M., Hassanshahi G., Khorramdelazad H., Khanamani Falahati-Pour S., Mirzaei M., et al. Serum CXCL10 and CXCL12 chemokine levels are associated with the severity of coronary artery disease and coronary artery occlusion. *Int. J. Cardiol.* 2017; 233: 23–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2017.02.011>
 19. De Filippo K., Rankin S.M. CXCR4, the master regulator of neutrophil trafficking in homeostasis and disease. *Eur. J. Clin. Invest.* 2018; 48(Suppl. 2): e12949. <https://doi.org/10.1111/eci.12949>
 20. Uhl B., Vadlau Y., Zuchtriegel G., Nekolla K., Sharaf K., Gaertner F., et al. Aged neutrophils contribute to the first line of defense in the acute inflammatory response. *Blood.* 2016; 128: 2327–37. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-05-718999>
 21. Gutierrez J.A., Aday A.W., Patel M.R., Jones W.S. Polyvascular disease: reappraisal of the current clinical landscape. *Circ. Cardiovasc. Interv.* 2019; 12(12): e007385. <https://doi.org/10.1161/CIRCINTERVENTIONS.119.007385>
 10. García-Cuesta E.M., Santiago C.A., Vallejo-Díaz J., Juarranz Y., Rodríguez-Frade J.M., Mellado M. The role of the CXCL12/CXCR4/ACKR3 axis in autoimmune diseases. *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2019; 10: 585. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00585>
 11. Li L., Du Z., Rong B., Zhao D., Wang A., Xu Y., et al. Foam cells promote atherosclerosis progression by releasing CXCL12. *Biosci. Rep.* 2020; 40(1): BSR20193267. <https://doi.org/10.1042/BSR20193267>
 12. Merckelbach S., van der Vorst E.P.C., Kallmayer M., Rischpler C., Burgkart R., Döring Y., et al. Expression and cellular localization of CXCR4 and CXCL12 in human carotid atherosclerotic plaques. *Thromb. Haemost.* 2018; 118(1): 195–206. <https://doi.org/10.1160/TH17-04-0271>
 13. Sprynger M., Rigo F., Moonen M., Aboyans V., Edvardsen T., de Alcantara M.L., et al. Focus on echovascular imaging assessment of arterial disease: complement to the ESC guidelines (PARTIM 1) in collaboration with the Working Group on Aorta and Peripheral Vascular Diseases. *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging.* 2018; 19(11): 1195–221. <https://doi.org/10.1093/ehjci/ehy103>
 14. Mozzini C., Roscia G., Casadei A., Cominacini L. Searching the perfect ultrasonic classification in assessing carotid artery stenosis: comparison and remarks upon the existing ultrasound criteria. *J. Ultrasound.* 2016; 19(2): 83–90. <https://doi.org/10.1007/s40477-016-0193-6>
 15. Mach F., Baigent C., Catapano A.L., Koskinas K.C., Casula M., Badimon L., et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur. Heart J.* 2020; 41(1): 111–88. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz455>
 16. Saranchina Yu.V., Dutova S.V., Kilina O.Yu., Khanarin N.V., Kulakova T.S. The role of neutrophils in the pathogenesis of atherosclerosis. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika.* 2018; 17(6): 110–6. <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2018-6-110-116> (in Russian)
 17. Sjaarda J., Gerstein H., Chong M., Yusuf S., Meyre D., Anand S.S., et al. Blood CSF1 and CXCL12 as causal mediators of coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2018; 72(3): 300–10. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.04.067>
 18. Tavakolian Ferdousie V., Mohammadi M., Hassanshahi G., Khorramdelazad H., Khanamani Falahati-Pour S., Mirzaei M., et al. Serum CXCL10 and CXCL12 chemokine levels are associated with the severity of coronary artery disease and coronary artery occlusion. *Int. J. Cardiol.* 2017; 233: 23–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2017.02.011>
 19. De Filippo K., Rankin S.M. CXCR4, the master regulator of neutrophil trafficking in homeostasis and disease. *Eur. J. Clin. Invest.* 2018; 48(Suppl. 2): e12949. <https://doi.org/10.1111/eci.12949>
 20. Uhl B., Vadlau Y., Zuchtriegel G., Nekolla K., Sharaf K., Gaertner F., et al. Aged neutrophils contribute to the first line of defense in the acute inflammatory response. *Blood.* 2016; 128: 2327–37. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-05-718999>
 21. Gutierrez J.A., Aday A.W., Patel M.R., Jones W.S. Polyvascular disease: reappraisal of the current clinical landscape. *Circ. Cardiovasc. Interv.* 2019; 12(12): e007385. <https://doi.org/10.1161/CIRCINTERVENTIONS.119.007385>

REFERENCES

1. Silvestre-Roig C., Braster Q., Ortega-Gomez A., Soehnlein O. Neutrophils as regulators of cardiovascular inflammation. *Nat. Rev. Cardiol.* 2020; 17(6): 327–40. <https://doi.org/10.1038/s41569-019-0326-7>
2. Dolgushin I.I. Neutrophil granulocytes: new faces of old acquaintances. *Byulleten' sibirskoy meditsiny.* 2019; 18(1): 30–7. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-1-30-37> (in Russian)
3. Xue Y., Wu Y., Wang Q., Xue L., Su Z., Zhang C. Cellular vehicles based on neutrophils enable targeting of atherosclerosis. *Mol. Pharm.* 2019; 16(7): 3109–20. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b00342>
4. Geng S., Zhang Y., Lee C., Li L. Novel reprogramming of neutrophils modulates inflammation resolution during atherosclerosis. *Sci. Adv.* 2019; 5(2): eaav2309. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aav2309>
5. Adrover J.M., Nicolás-Ávila J.A., Hidalgo A. Aging: a temporal dimension for neutrophils. *Trends Immunol.* 2016; 37(5): 334–45. <https://doi.org/10.1016/j.it.2016.03.005>
6. Rosales C. Neutrophil: a cell with many roles in inflammation or several cell types? *Front. Physiol.* 2018; 9: 113. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00113>
7. Bonaventura A., Montecucco F., Dallegri F., Carbone F., Lüscher T.F., Camici G.G., et al. Novel findings in neutrophil biology and their impact on cardiovascular disease. *Cardiovasc. Res.* 2019; 115(8): 1266–85. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvz084>
8. Isles H.M., Herman K.D., Robertson A.L., Loynes C.A., Prince L.R., Elks P.M., et al. The CXCL12/CXCR4 signaling axis retains neutrophils at inflammatory sites in zebrafish. *Front. Immunol.* 2019; 10: 1784. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01784>
9. Hartl D., Krauss-Etschmann S., Koller B., Hordijk P.L., Kuijpers T.W., Hoffmann F., et al. Infiltrated neutrophils acquire novel chemokine receptor expression and chemokine responsiveness in chronic inflammatory lung diseases. *J. Immunol.* 2008; 181(11): 8053–67. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.11.8053>

Информация об авторах

Долгушин Илья Ильич — д.м.н., проф., академик РАН, зав. каф. микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики, директор НИИ иммунологии, президент ФГБОУ ВО ЮУГМУ, Челябинск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0901-8042>

Information about the authors

Ilya I. Dolgushin — D. Sci. (Med.), Prof., Full member of the Russian Academy of Sciences, Head, Department of microbiology, virology, immunology and clinical laboratory diagnostics, Director, Institute of Immunology, President, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0901-8042>

Генкель Вадим Викторович[✉] — к.м.н., доц. каф. пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО ЮУГМУ, Челябинск, Россия, henkel-07@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5902-3803>

Батурина Ирина Леонидовна — к.м.н., с.н.с. НИИ иммунологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ, Челябинск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5960-4189>

Емельянов Илья Владимирович — старший лаборант НИИ иммунологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ, Челябинск, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0425-4596>

Савочкина Альбина Юрьевна — д.м.н., проф. каф. микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики, г.н.с. НИИ иммунологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ, Челябинск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0536-0924>

Шапошник Игорь Иосифович — д.м.н., проф., зав. каф. пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО ЮУГМУ, Челябинск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7731-7730>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 17.07.2020;
принята к публикации 22.01.2021;
опубликована 20.03.2021

Vadim V. Genke[✉] — Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Department of propedeutics of internal medicine, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia, e-mail: henkel-07@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5902-3803>

Irina L. Baturina — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Research Institute of Immunology, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5960-4189>

Ilya V. Emelyanov — research assistant, Research Institution of Immunology, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0425-4596>

Albina Y. Savochkina — D. Sci. (Med.), Prof., Department of microbiology, virology, immunology and clinical laboratory diagnostics, principal researcher, Research Institution of Immunology, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0536-0924>

Igor I. Shaposhnik — D. Sci. (Med.), Prof., Head, Department of propedeutics of internal medicine, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7731-7730>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 17.07.2020;
accepted for publication 22.01.2021;
published 20.03.2021

Научная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-49>

Десятилетнее наблюдение за сенсibilизацией к клещам домашней пыли

Петрова С.Ю.^{1✉}, Хлгатын С.В.^{1,2}, Бержец В.М.¹, Емельянова О.Ю.¹¹Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, Москва, Россия;²Научный центр неврологии, Москва, Россия

Аннотация

Введение. Статистические исследования сенсibilизации пациентов к аллергенам позволяют сформировать общую для страны картину сенсibilизации, помогают врачам на приёме выработать грамотную тактику обследования пациентов и могут быть использованы при создании новых лекарственных форм аллерговакцин.

Цель исследования — изучить сенсibilизацию к ингаляционным аллергенам *Dermatophagoides pteronyssinus* (*Der. p.*) и *Dermatophagoides farinae* (*Der. f.*) в Москве и Московской области за 2010–2019 гг.

Материалы и методы. Сыворотки крови москвичей и жителей Подмоскovie с IgEA ($n = 2849$) исследованы методом RIDA AllergyScreen.

Результаты. По данным исследования за последние 10 лет, около 18–21% пациентов с IgEA в Москве и Московской области имеют сенсibilизацию к *Der. p.* и/или *Der. f.* С 2017 по 2019 г. отмечается статистически значимое падение встречаемости сенсibilизации к *Der. p.* Клещи вида *Der. f.* чаще вызывают более высокий уровень сенсibilизации, чем *Der. p.*

Обсуждение. Полученные данные свидетельствуют об изменении сенсibilизации пациентов к клещам сем. *Pyroglyphidae*, а именно к *Der. p.*, на фоне перемен в акарокомплексе жилищ Москвы и Московской области. Особенности молекул белковых аллергенов данных видов пылевых клещей, возможно, способствуют их различной степени воздействия на иммунологическую реактивность в исследованной нами популяции.

Выводы. Причина снижения распространённости *Der. p.*, вероятнее всего, — в изменении экосистемы жилищ москвичей и жителей Подмоскovie.

Ключевые слова: *аллергены, сенсibilизация, клещи домашней пыли, статистические данные, Dermatophagoides pteronyssinus, Dermatophagoides farinae*

Благодарность. Авторы благодарят заведующую лабораторией экологической биотехнологии НИИВС им. И.И. Мечникова доктора биологических наук Т.М. Желтикову-Вострокнутову за консультацию.

Этическое утверждение. Исследование проводилось при информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен этическим комитетом ФГБНУ им. И.И. Мечникова.

Финансирование. Государственный источник финансирования плановой темы НИР «Разработка новых лекарственных форм аллергенов из клещей домашней пыли».

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

Для цитирования: Петрова С.Ю., Хлгатын С.В., Бержец В.М., Емельянова О.Ю. Десятилетнее наблюдение за сенсibilизацией к клещам домашней пыли. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2021; 98(2): 184–189.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-49>

Original article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-49>

Ten-year monitoring of sensitization to house dust mites

Stanislava Yu. Petrova^{1✉}, Svetlana V. Khlgatian^{1,2}, Valentina M. Berzhets¹, Olga Yu. Emelyanova¹¹I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia;²Research Center of Neurology, Moscow, Russia

Abstract

Statistical studies of patients' sensitization to allergens make it possible to form a general picture of sensitization for the whole country, help doctors to develop competent tactics for examining patients in the regions and can be used for the development of new formulations of allergy vaccines.

Objective. To study the sensitization to inhalation allergens *Dermatophagoides pteronyssinus* (*Der. p.*) and *Dermatophagoides farinae* (*Der. f.*) in Moscow and the Moscow region in 2010–2019 and to identify the structure, features and dynamic changes in sensitization to *Der. p.* and *Der. f.* based on the analysis of the allergosensitivity profile of patients with IgE-mediated allergic diseases (IgEA).

Materials and methods. Blood serum samples of Moscow and the Moscow region residents with IgEA ($n = 2849$) were examined by RIDA AllergyScreen method in 2010–2019.

Results. According to the results of the study spanning the last ten years, about 18–21% of patients with IgEA in Moscow and the Moscow region have sensitization to *Der. p.* and/or *Der. f.* There was a statistically significant decrease in sensitization to *Der. p.* from 2017 to 2019. House dust mites of the type *Der. f.* more often cause a higher level of sensitization compared to *Der. p.*

Discussion. The data obtained indicate the change in the sensitization of patients to *Pyroglyphidae*, namely *Der. p.* against the background of changes in the housing acarocomplex of Moscow and the Moscow region. Features of protein molecules of these species of dust mites may contribute to their varying degrees of the impact on immunological reactivity in the population studied.

Conclusions. The decrease in the prevalence of *Der. p.* is most likely accounted for the changes in the ecosystem of homes of residents of Moscow and the Moscow region.

Keywords: allergens, sensitization, house dust mites, statistics, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*

Acknowledgments. We would like to thank Tatyana Zheltikova-Vostroknutova, D. Sci. (Biol.), head of the Laboratory of environmental biotechnology, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, for her consultation.

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the institution Mechnikov research Institute of Vaccines and Sera.

Funding. The state source of funding for the planned research topic "Development of new medicinal forms of allergens from house dust mites".

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Petrova S.Yu., Khlgtian S.V., Berzhets V.M., Emelyanova O.Yu. Ten-year monitoring of sensitization to house dust mites. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2021; 98(2): 184–189.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-49>

Введение

Одним из мощных аллергенных триггеров, способствующих развитию респираторных видов atopических реакций, в том числе бронхиальной астмы, являются клещи домашней пыли (КДП) семейства *Pyroglyphidae* — *Dermatophagoides pteronyssinus* (*Der. p.*) и *Dermatophagoides farinae* (*Der. f.*) [1, 2]. Наличие ферментативной активности у клещевых белков-аллергенов обуславливает их влияние на рецепторы, активируемые протеазами (PARs-2) клеток врождённой иммунной системы, и способствует их проникновению через барьерные ткани организма. Последнее связано с тем, что протеазы клещевых аллергенов повреждают клетки эпителия [3]. Эпителиальная клетка, как и любая другая, продуцирует молекулы, сигнализирующие о ее повреждении, — damage-associated molecular patterns (DAMPs) [4]. Клетки врождённой иммунной системы, прежде всего макрофаги и дендритные клетки, воспринимают DAMPs как дополнительные активирующие факторы и способствуют формированию протективного иммунного ответа [5, 6]. Кроме того, главные аллергены *Der. p.* и *Der. f.* взаимодействуют с TLR4-рецепторами эпителиальных клеток [7]. В ответ на активацию клещевыми аллергенами рецепторов

клеток врождённой иммунной системы изменяются характер и количественное соотношение выделяемых клетками цитокинов и хемокинов (интерлейкин-6, -8, -25, -33, тимусный стромальный лимфопоэтин, гранулоцитарно-макрофагальный лимфостимулирующий фактор и др.), что способствует формированию Th2-иммунного ответа и продукции IgE В-клетками у лиц, предрасположенных к atopии [3, 7–9].

Воздействие аллергенов КДП на клетки эпителия респираторного тракта происходит круглогодично, поэтому сенсibilизация к дерматофагоидам, протекающая в виде аллергического ринита, чаще, чем другие аллергены, приводит к бронхиальной астме [10]. Из известных методов лечения только аллергенспецифическая иммунотерапия влияет на иммуногенез аллергического заболевания и имеет длительный эффект [11].

Статистические исследования сенсibilизации пациентов к аллергенам позволяют сформировать общую картину сенсibilизации и помогают врачам выработать грамотную тактику обследования пациентов. Анализ результатов статистических исследований может быть использован для создания перспективных региональных лекарственных форм аллерговакцин.

Ранее в нашем исследовании, проведенном за 9 лет (2009–2017 гг.), мы выявили, что в Москве и Московской области антигены пыльцы растений и трав являются наиболее значимыми ингаляционными аллергенами в развитии IgE-обусловленных аллергических заболеваний (IgEA). Меньшая значимость обнаружена у эпидермальных, грибковых и клещевых аллергенов. За 9 лет, несмотря на снижение численности клещей в помещениях, не выявлено уменьшения частоты сенсибилизации к КДП. В том же исследовании показано, что 20% пациентов с атопией в Московском регионе имеют сенсибилизацию к *Der. p.* и/или *Der. f.*, причем процент аллергочувствительности к *Der. p.* выше, чем к *Der. f.* [12].

Целью настоящего исследования является подведение итогов десятилетнего периода (2010–2019 гг.) изучения сенсибилизации жителей Москвы и Московской области к двум видам наиболее распространенных клещей — *Der. p.* и *Der. f.*

Материалы и методы

Методом RIDA AllergyScreen¹ были проанализированы сыворотки крови 2849 пациентов с IgEA, обратившихся в клинику-диагностическое подразделение НИИВС им. И.И. Мечникова. Регистрировали концентрацию и класс специфических IgE. Исследовали сыворотки с помощью диагностической панели, содержащей набор из 20 ингаляционных аллергенов 4 групп:

- 1-я группа — КДП: *Der. p.* и *Der. f.*;
- 2-я группа — эпидермальные аллергены;
- 3-я группа — плесневые грибы;
- 4-я группа — аллергены пыльцы деревьев и трав.

Мониторинг изменений частоты клещевой сенсибилизации у пациентов с IgEA к *Der. p.* и *Der. f.* проводили ежегодно в течение 2010–2019 гг. Результаты обрабатывали с помощью пакета прикладных статистических программ «Microsoft Excel» с анализом качественных признаков: вычисление выборочной процентной доли единиц, имеющих изучаемый признак, от общего числа единиц; вычисление стандартной ошибки выборочной доли (S_p); определение 95% доверительного интервала (ДИ) при критерии $z_{0,05} = 1,96$ для оценки статистической значимости различий. Критической величиной уровня значимости считали $\alpha = 0,05$ [13]. Для анализа изменений показателей сенсибилизации за последние 10 лет использовали метод укрупнения временных интервалов.

Результаты

Сенсибилизация к клещам *Der. p.* и/или *Der. f.* обнаружена в 549 сыворотках крови ($19,3 \pm 0,7\%$;

95% ДИ 17,9–20,7%; $p < 0,05$). Число пациентов с аллергочувствительностью к *Der. p.* за 10 лет составило 491 из 2849 обследованных, что соответствует $17,2 \pm 0,7\%$ (95% ДИ 15,8–18,6%; $p < 0,05$). Число пациентов с аллергочувствительностью к *Der. f.* за 10 лет — 386 из 2849, что соответствует $13,6 \pm 0,6\%$ (95% ДИ 12,3–14,8%; $p < 0,05$). Данные доказывают статистически значимое преобладание пациентов, страдающих IgEA, вызванными клещами *Der. p.*

Особенности сенсибилизации к клещам домашней пыли

Проводили исследование 549 сывороток пациентов, имеющих сенсибилизацию к КДП. Большая часть обследованных — 328 человек (59,7%) — реагировали сразу на оба изучаемых вида. Сенсибилизация только к одному *Der. p.* выявлена у 163 (29,7%) пациентов. Моносенсибилизация к *Der. f.* обнаружена у 58 (10,6%) пациентов.

При анализе частоты встречаемости пациентов с сенсибилизацией к белкам-аллергенам двух изучаемых видов КДП вычисляли долю пациентов, имеющих высокий уровень реагенов к *Der. p.* и *Der. f.* (содержание специфических IgE $> 3,5$ МЕ/мл). Среди 491 пациента с сенсибилизацией к *Der. p.* высокий уровень сенсибилизации был у 210 пациентов ($42,8 \pm 2,2\%$; 95% ДИ 38,4–47,1%; $p < 0,05$). В группе 386 человек, сенсибилизированных к *Der. f.*, доля пациентов, имеющих высокий уровень IgE, составила $53,4 \pm 2,5\%$ ($n = 206$; 95% ДИ 48,4–58,3%; $p < 0,05$). При сравнении полученных величин обнаружена статистически значимая разница между частотой встречаемости высоких уровней специфических IgE в группе пациентов с аллергочувствительностью к *Der. p.* и *Der. f.* ($p < 0,05$); пациенты с высоким классом сенсибилизации к клещам вида *Der. f.* встречались чаще, чем пациенты с высоким уровнем IgE к *Der. p.*

Динамика изменения сенсибилизации пациентов к домашним пылевым клещам в 2010–2019 гг.

Динамику клещевой аллергочувствительности изучали у пациентов Москвы и Московской области за 10 лет (**табл. 1**). Статистический анализ частоты встречаемости клещевой сенсибилизации у пациентов с IgEA проводили ежегодно (**рисунок**). Доминирования частоты сенсибилизации к *Der. p.* не отмечено в 2017 и 2019 гг.

Доля пациентов с IgE к КДП имеет ежегодные колебания, но достаточно стабильна. До 2016 г. наиболее частой причиной сенсибилизации к КДП были клещи вида *Der. p.* Однако доминирование частоты аллергочувствительности к *Der. p.* не отмечается с 2017 по 2019 г. За последние 3 года число случаев сенсибилизации к *Der. p.* среди пациентов с IgEA существенно уменьшилось. За весь 10-летний период частота встречаемости аллергочувствительности к

¹ RIDA® AllergyScreen. Панели 1, 2, 3, 4. Available at: http://www.allergen.ru/docs/rida_allergyscreen_panel_1_2_3_4_rus.pdf

Der. p. никогда не была столь низкой, как в последние 2 года. Если в 2017 г. показатели обнаружения специфических реагинов к *Der. p.* были примерно равны данным показателям по *Der. f.*, то в 2019 г. сенсibilизация к *Der. f.* заняла лидирующие позиции.

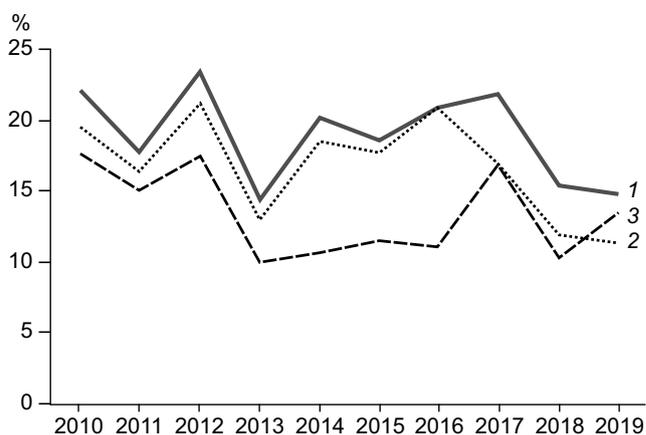
С целью выявления статистической значимости изменений частоты клещевой сенсibilизации в период наблюдения пациенты были разделены на 5 групп с временным интервалом 2 года (табл. 2).

Обнаружено статистически значимое уменьшение частоты встречаемости сенсibilизации к *Der. p.* за 2018–2019 гг. по сравнению с другими периодами наблюдения ($p < 0,05$). Снижение частоты встречаемости сенсibilизации к *Der. f.* зафиксировано только в 2014–2015 гг. по сравнению с 2010–2011 гг. Других значимых отличий в изменении аллергочувствительности к *Der. f.* не отмечено.

Обсуждение

По данным нашего исследования за последние 10 лет выявлено, что около 18–21% пациентов с IgEA в Москве и Московской области имеют сенсibilизацию к *Der. p.* и/или *Der. f.* В 2010–2016 гг. чаще обнаруживалась аллергочувствительность к *Der. p.*, чем к *Der. f.* С 2017 по 2019 г. встречаемость IgE к *Der. p.* снизилась. Наблюдаемые нами изменения, скорее всего, связаны с уменьшением данного вида клещей в акарофауне жилых помещений москвичей и жителей Подмосковья.

Тенденция к уменьшению частоты выявления *Der. p.* в московских квартирах отмечена нашими коллегами ещё в 2010–2014 гг. [14, 15]. По данным за 2010–2014 гг. выявлено сокращение средней численности видов дерматофагоидов в грамме пыли помещений примерно в 5 раз. Это объясняется снижением встречаемости *Der. p.* почти в 2 раза [14, 15]. В наших исследованиях мы отмечаем изменения профиля сенсibilизации с 2017 г. [12]. Возможно,



Изменения сенсibilизации к КДП у пациентов с IgEA за 10 лет ($n = 2763$).

По оси ординат — доля пациентов, имеющих сенсibilизацию к КДП, от общего числа пациентов с IgEA. 1 — сенсibilизация к КДП *Der. p.* и/или *Der. f.*; 2 — сенсibilизация к *Der. p.*; 3 — сенсibilизация к *Der. f.*

Changes in sensitization to house dust mites among IgEA patients over 10 years ($n = 2763$).

Y-axis: the percentage of patients who are sensitized to house dust mites from the total number of patients with IgE-mediated allergic diseases. 1 — sensitization to house dust mites (*Der. p.* and/or *Der. f.*); 2 — sensitization to *Der. p.*; 3 — sensitization to *Der. f.*

отражением присутствия аллергенного триггера в окружающей среде являются изменения клещевой сенсibilизации, реализация которой в популяции несколько запаздывает [12, 14].

Высокая гомология белков *Der. p.* и *Der. f.* приводит к значительной их перекрёстной реактивности, что соответствует данным литературы [2, 16]. В то же время достаточно высокая чувствительность к одному из клещевых видов убедительно доказывает, что существуют и серьёзные отличия в организации белковых молекул у *Der. p.* и *Der. f.* Известно, что белки *Der. p.* по структуре в более высоком проценте гомологичны белкам клещей

Таблица 1. Частота выявления клещевой сенсibilизации у пациентов с IgEA

Table 1. Frequency of detection to mites sensitization among patients with IgEA

Год Year	Пациенты с IgEA Patients with IgEA	Пациенты с клещевой сенсibilизацией Patients with sensitization to mites		Пациенты с сенсibilизацией к <i>Der. p.</i> Patients with sensitization to <i>Der. p.</i>		Пациенты с сенсibilизацией к <i>Der. f.</i> Patients with sensitization to <i>Der. f.</i>	
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
2010	312	69	22,1	61	19,5	55	17,6
2011	274	49	17,9	45	16,4	41	15,0
2012	428	100	23,4	91	21,3	75	17,5
2013	280	41	14,6	36	12,9	28	10,0
2014	354	71	20,1	66	18,6	38	10,7
2015	426	79	18,5	75	17,6	49	11,5
2016	173	36	20,8	36	20,8	19	11,0
2017	197	43	21,8	34	17,3	33	16,8
2018	202	31	15,4	24	11,9	21	10,4
2019	203	30	14,8	23	11,3	27	13,3

Таблица 2. Анализ изменения сенсибилизации к КДП методом укрупнения временных интервалов
Table 2. Analysis of changes in sensitization to house dust mites by time interval unification

Годы Years	Пациенты с IgEA Patients with IgEA (n)	Пациенты с клещевой сенсибилизацией Patients with sensitization to mites		Sp, %	95% ДИ 95% confidence interval
		n	%		
Сенсибилизация к <i>Der. p.</i> / Sensitization to <i>Der. p.</i>					
2010–2011	586	106	18,1	1,6	15,0–21,2
2012–2013	708	127	17,9	1,4	15,1–20,7
2014–2015	780	141	18,1	1,4	15,4–20,8
2016–2017	370	70	18,9	2,0	14,9–23,0
2018–2019	405	47	11,6	1,6	8,5–14,7
Сенсибилизация к <i>Der. f.</i> / Sensitization to <i>Der. f.</i>					
2010–2011	586	96	16,4	1,5	13,5–19,3
2012–2013	708	103	14,6	1,3	12,1–17,1
2014–2015	780	87	11,2	1,1	9,0–13,4
2016–2017	370	52	14,1	1,8	10,6–17,6
2018–2019	405	48	11,9	1,6	8,8–15,0

Euroglyphus maynei, чем *Der. f.* [16]. Индивидуальные особенности белковых молекул данных видов КДП, возможно, способствуют их различной степени воздействия на иммунологическую реактивность в исследованной нами популяции пациентов Москвы и Московской области, что подтверждается встречаемостью более высоких уровней сенсибилизации к *Der. f.*

В нашем исследовании мы не стали делать статистических прогнозов дальнейшего развития ситуации с клещевой сенсибилизацией, поскольку совершенно ясно, что это зависит в основном от наличия данных видов в жилище человека. Наиболее точный прогноз развития сенсибилизации у населения Москвы на ближайшие годы может дать только масштабное обследование акарофауны жилых помещений.

Выводы

В Москве и Московской области можно наблюдать снижение распространённости *Der. p.*, что подтверждается уменьшением гиперчувствительности к ним жителей [14, 15]. Известно, что основные факторы, определяющие жизнедеятельность КДП, — это температура и относительная влажность воздуха. В помещениях с влажностью ниже 45% КДП высыхают и погибают [17, 18]. Наиболее устойчивым к низкой влажности является вид *Der. f.*, именно поэтому он чаще встречается в квартирах с центральным отоплением [19]. Хотя центральное отопление в московских квартирах работает уже давно, но процесс вытеснения одного вида другим из-за изменений окружающей среды — процесс длительный. Темпы урбанизации Московской области и строительства новых благоустроенных квартир в Москве увеличиваются, и данное обстоятельство, вероятнее всего, является основной при-

чиной наметившегося доминирования *Der. f.* в квартирах Москвы и Подмосковья.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Custovic A., Simpson A. The role of inhalant allergens in allergic airways disease. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2012; 22(6): 393–401.
- Коровкина Е.С., Мокроносова М.А. Аллергия к клещам домашней пыли с позиций молекулярной аллергологии. *Медицинская иммунология.* 2012; 14(4-5): 280–2. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2012-4-5-279-288>
- Петрова С.Ю., Хлгатын С.В., Бержец В.М., Радикова О.В. Современная концепция патогенеза atopических заболеваний. *Имунопатология, аллергология, инфектология.* 2019; (1): 72–9. <https://doi.org/10.14427/jipai.2019.1.72>
- Chaudhry S.R., Hafez A., Jahromi B.R., Kinfe T.M., Lamprecht A., Niemelä M., et al. Role of damage associated molecular pattern molecules (DAMPs) in aneurysmal subarachnoid hemorrhage (aSAH). *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(7): 2035. <https://doi.org/10.3390/ijms19072035>
- Киселева Е.П. Акцептивный иммунитет – основа симбиотических взаимоотношений. *Инфекция и иммунитет.* 2015; 5(2): 113–30. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2015-2-113-130>
- Land W.G. The Role of damage-associated molecular patterns (DAMPs) in human diseases. Part II: DAMPs as diagnostics, prognostics and therapeutics in clinical medicine. *Sultan Qaboos Univ. Med. J.* 2015; 15(2): 157–70.
- Matsumura Y. Role of allergen source-derived proteases in sensitization via airway epithelial cells. *J. Allergy. (Cairo).* 2012; 2012: 903659. <https://doi.org/10.1155/2012/903659>
- Omori-Miyake M., Ziegler S.F. Mouse models of allergic diseases: TSLP and its functional roles. *Allergol. Int.* 2012; 61(1): 27–34. <https://doi.org/10.2332/allergolint.11-RA1-0374>
- Грищенко Е.А. Дендритные клетки дыхательных путей и аллергические заболевания. *Аллергология и иммунология в педиатрии.* 2015; (3): 19–28.
- Дробик О.С., Насунова А.Ю. Клещи домашней пыли – невидимые факторы видимых проблем. Современные подходы к терапии клещевой аллергии. *Медицинский совет.* 2013; (7): 59–65.
- Петрова С.Ю., Бержец В.М., Петрова Н.С., Хрулёва В.А., Емельянов О.Ю., Хлгатын С.В. и др. Перспективы разви-

тия лечебных форм аллергенов. От абстрактных проблем к конкретным решениям. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2018; (1): 40–7.
<https://doi.org/10.14427/jipai.2018.1.40>

12. Петрова С.Ю., Хлгатян С.В., Бержец В.М. Значение клещей домашней пыли в развитии атопии. *Российский аллергологический журнал*. 2018; 15(3): 30–4.
13. Гланц С.А. *Медико-биологическая статистика*. Пер. с англ. М.: Практика; 1999.
14. Ахапкина И.Г., Жёлтикова Т.М. Сравнительный анализ содержания клещей домашней пыли и их аллергенов в жилых помещениях г. Москвы. *Иммунология*. 2013; 34(2): 108–11.
15. Жёлтикова Т.М., Антропова А.Б., Мокроносова М.А. Многолетняя динамика акарокомплекса домашней пыли и структуры сенсибилизации к бытовым аллергенам у атопических больных. *Иммунология*. 2016; 37(1): 25–8.
<https://doi.org/10.18821/0206-4952-2016-37-1-25-28>
16. Waldron R., McGowan J., Gordon N., McCarthy C., Mitchell E.B., Fitzpatrick D.A. Proteome and allergenome of the European house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*. *PLoS One*. 2019; 14(5): e0216171.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216171>
17. Colloff M. *Dust Mites*. Collingwood: CSIRO; 2009.
18. Wharton G.W. House dust mites. *J. Med. Entomol.* 1976; 12(6): 577–621. <https://doi.org/10.1093/jmedent/12.6.577>
19. Henszel L., Kalisińska E., Kosik-Bogacka D.I., Kuźna-Grygiel W. Mites in dust samples collected from sleeping places in apartments. *Polish J. of Environ. Stud.* 2010; 19(4): 723–30.

REFERENCES

1. Custovic A., Simpson A. The role of inhalant allergens in allergic airways disease. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2012; 22(6): 393–401.
2. Korovkina E.S., Mokronosova M.A. House dust mite allergy in view of molecular allergology. *Meditsinskaya immunologiya*. 2012; 14(4-5): 280–2. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2012-4-5-279-288> (in Russian)
3. Petrova S.Yu., Khlgatyan S.V., Berzhets V.M., Radikova O.V. Modern concept of pathogenesis of atopic diseases. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya*. 2019; (1): 72–9.
<https://doi.org/10.14427/jipai.2019.1.72> (in Russian)
4. Chaudhry S.R., Hafez A., Jahromi B.R., Kinfе T.M., Lamprecht A., Niemelä M., et al. Role of damage associated molecular pattern molecules (DAMPs) in aneurysmal subarachnoid hemorrhage (aSAH). *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(7): 2035.
<https://doi.org/10.3390/ijms19072035>
5. Kiseleva E.P. Acceptive immunity – a basis for symbiotic relationships. *Infektsiya i immunitet*. 2015; 5(2): 113–30.

Информация об авторах

Петрова Станислава Юрьевна[✉] — к.м.н., с.н.с. лаб. по разработке аллергенов НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, laball@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3034-0148>

Хлгатян Светлана Вагинаковна — д.б.н., в.н.с. лаб. по разработке аллергенов НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8354-7682>

Бержец Валентина Михайловна — д.б.н., проф. зав. лаб. по разработке аллергенов НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5055-7593>

Емельянова Ольга Юрьевна — к.б.н., с.н.с. лаб. по разработке аллергенов НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7703-2698>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 20.05.2020;
принята к публикации 01.08.2020;
опубликована 10.03.2021.

<https://doi.org/10.15789/2220-7619-2015-2-113-130>
(in Russian)

6. Land W.G. The Role of damage-associated molecular patterns (DAMPs) in human diseases. Part II: DAMPs as diagnostics, prognostics and therapeutics in clinical medicine. *Sultan Qaboos Univ. Med. J.* 2015; 15(2): 157–70.
7. Matsumura Y. Role of allergen source-derived proteases in sensitization via airway epithelial cells. *J. Allergy. (Cairo)*. 2012; 2012: 903659.
<https://doi.org/10.1155/2012/903659>
8. Omori-Miyake M., Ziegler S.F. Mouse models of allergic diseases: TSLP and its functional roles. *Allergol. Int.* 2012; 61(1): 27–34. <https://doi.org/10.2332/allergolint.11-RAI-0374>
9. Grishchenko E.A. Airway dendritic cells and allergic diseases. *Allergologiya i immunologiya v pediatrii*. 2015; (3): 19–28. (in Russian)
10. Drobik O.S., Nasunova A.Yu. House dust mites: invisible signs of visible problems. Modern approaches to the treatment of dust mite allergies. *Meditsinskiy sovet*. 2013; (7): 59–65. (in Russian)
11. Petrova S.Yu., Berzhets V.M., Petrova N.S., Khruleva V.A., Emel'yanov O.Yu., Khlgatyan S.V., et al. Future prospect of allergens' medical forms. From abstract problems to concrete solutions. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya*. 2018; (1): 40–7. <https://doi.org/10.14427/jipai.2018.1.40> (in Russian)
12. Petrova S.Yu., Khlgatyan S.V., Berzhets V.M. The house dust mites significance in the development of atopy. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal*. 2018; 15(3): 30–4. (in Russian)
13. Glantz S.A. *Primer of Biostatistics*. New-York: McGraw-Hill; 1994.
14. Akhapkina I.G., Zheltikova T.M. Comparative research of quantity of dust mites and their allergens in dwelling of Moscow. *Immunologiya*. 2013; 34(2): 108–11. (in Russian)
15. Zheltikova T.M., Antropova A.B., Mokronosova M.A. Long-term dynamics of house dust acarocomplex and sensitization to indoor allergens in atopic patients. *Immunologiya*. 2016; 37(1): 25–8. <https://doi.org/10.18821/0206-4952-2016-37-1-25-28> (in Russian)
16. Waldron R., McGowan J., Gordon N., McCarthy C., Mitchell E.B., Fitzpatrick D.A. Proteome and allergenome of the European house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*. *PLoS One*. 2019; 14(5): e0216171.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216171>
17. Colloff M. *Dust Mites*. Collingwood: CSIRO; 2009.
18. Wharton G.W. House dust mites. *J. Med. Entomol.* 1976; 12(6): 577–621. <https://doi.org/10.1093/jmedent/12.6.577>
19. Henszel L., Kalisińska E., Kosik-Bogacka D.I., Kuźna-Grygiel W. Mites in dust samples collected from sleeping places in apartments. *Polish J. of Environ. Stud.* 2010; 19(4): 723–30.

Information about the authors

Stanislava Yu. Petrova[✉] — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Laboratory of allergens, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, laball@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3034-0148>

Svetlana V. Khlgatian — D. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of allergens, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8354-7682>

Valentina M. Berzhets — D. Sci. (Biol.), Prof., Head, Laboratory of allergens, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5055-7593>

Olga Yu. Emel'yanova — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of allergens, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7703-2698>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 20.05.2020;
accepted for publication 01.08.2020;
published 10.03.2021.

ДИСКУССИИ

Научный обзор

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-103>



Современная стратегия контроля вирусного гепатита А в Российской Федерации

Михайлов М.И.^{1,2✉}, Кюрегян К.К.^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;

²Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Россия

Аннотация

Проблема выбора стратегии контроля гепатита А в Российской Федерации остаётся актуальной для здравоохранения нашей страны. Под стратегией понимается научно обоснованная программа действий, определяющая приоритеты и необходимые ресурсы для эффективного контроля этой инфекции.

Цель работы — представить стратегию контроля гепатита А в Российской Федерации, учитывающую реалии сегодняшнего дня.

На основе анализа отечественных и зарубежных исследований представлены ответы на вопросы, необходимые для выбора стратегии контроля гепатита А. Низкий уровень заболеваемости гепатитом А создаёт ложное представление об эпидемиологическом благополучии по этой инфекции. Даётся обоснование включения вакцинации против гепатита А в национальный календарь профилактических прививок в раздел обязательных прививок. Плановая вакцинация детей в возрасте 24 и 36 мес заложит основу будущей защиты от этой инфекции. Представляется важным рассмотреть вопрос о создании Национальной программы по вакцинации против гепатита А. Реализация такой программы позволит полностью контролировать данное заболевание в Российской Федерации.

Ключевые слова: вирус гепатита А, вакцина против гепатита А, стратегия контроля гепатита А

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

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

Для цитирования: Михайлов М.И., Кюрегян К.К. Современная стратегия контроля вирусного гепатита А в Российской Федерации. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98(2): 190–197.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-103>

Review article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-103>

Contemporary strategy to control viral hepatitis A in the Russian Federation

Mikhail I. Mikhailov^{1,2✉}, Karen K. Kyuregyan^{1,2}

¹I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia

²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

Abstract

The problem of choosing a strategy to control hepatitis A in the Russian Federation remains relevant for the health care of our country. By strategy we mean a scientifically based program of action that defines the priorities and resources needed to effectively control hepatitis A.

The **aim** of the work is to present a strategy to control hepatitis A in the Russian Federation, taking into account the realities of today.

Based on the analysis of Russian and international studies, we present answers to the questions that should be addressed before the choosing a strategy to control hepatitis A in the Russian Federation. The low incidence of hepatitis A creates a false image of the favorable situation with this infection. The rationale is given to include vaccination against hepatitis A in the National Vaccination Schedule in the section of mandatory vaccinations. Routine vaccination of children aged 24 and 36 months will lay the foundation for future protection against this infection. We consider the creating a National Hepatitis A Vaccination Program as an important aim. The implementation of such a program will allow full control of hepatitis A in the Russian Federation.

Keywords: *hepatitis A virus, hepatitis A vaccine, hepatitis A control strategy*

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Mikhailov M.I., Kyuregyan K.K. Contemporary strategy to control viral hepatitis A in the Russian Federation. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2021; 98(2): 190–197.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-103>

Введение

Проблема выбора стратегии контроля гепатита А (ГА) в России остаётся актуальной. Под стратегией понимается научно обоснованная программа действий, определяющая приоритеты и необходимые ресурсы для эффективного контроля заболеваемости. Создание и промышленный выпуск вакцины против ГА, в том числе в России, поставили задачу разработки такой стратегии. Она должна учитывать современную эпидемиологическую и экономическую ситуацию в стране, накопленный научный и практический мировой опыт по данной проблеме. На протяжении многих лет вопрос о выборе стратегии контроля ГА в России неоднократно ставился в научных публикациях [1–4] и обсуждался на научных форумах, однако она до сих пор отсутствует.

С учётом изложенного **цель** данной работы — представить стратегию контроля ГА в России, учитывая реальную ситуацию сегодняшнего дня. Для достижения поставленной цели необходимо ответить на 6 вопросов, сформулированных нами более 10 лет назад на Всероссийской конференции «Россия без гепатита А» [1]. Сегодня без ответа на них по-прежнему невозможно избрать актуальную стратегию контроля ГА в России.

Какова степень опасности инфекции, вызванной вирусом гепатита А, с точки зрения новых научных данных?

На протяжении многих лет считали, что инфекция, вызванная вирусом гепатита А (ВГА), практически всегда заканчивается выздоровлением. Однако сейчас, когда ГА стали болеть люди старших возрастных групп, случаи острой печёночной недостаточности (фульминантный ГА) являются не столь редкими [5]. Широкое распространение таких заболеваний, как хронические вирусные гепатиты и

ВИЧ-инфекция, привело к более частому развитию ГА со средним и тяжёлым течением в случае суперинфекции. Доказана этиологическая роль ВГА в развитии аутоиммунного гепатита.

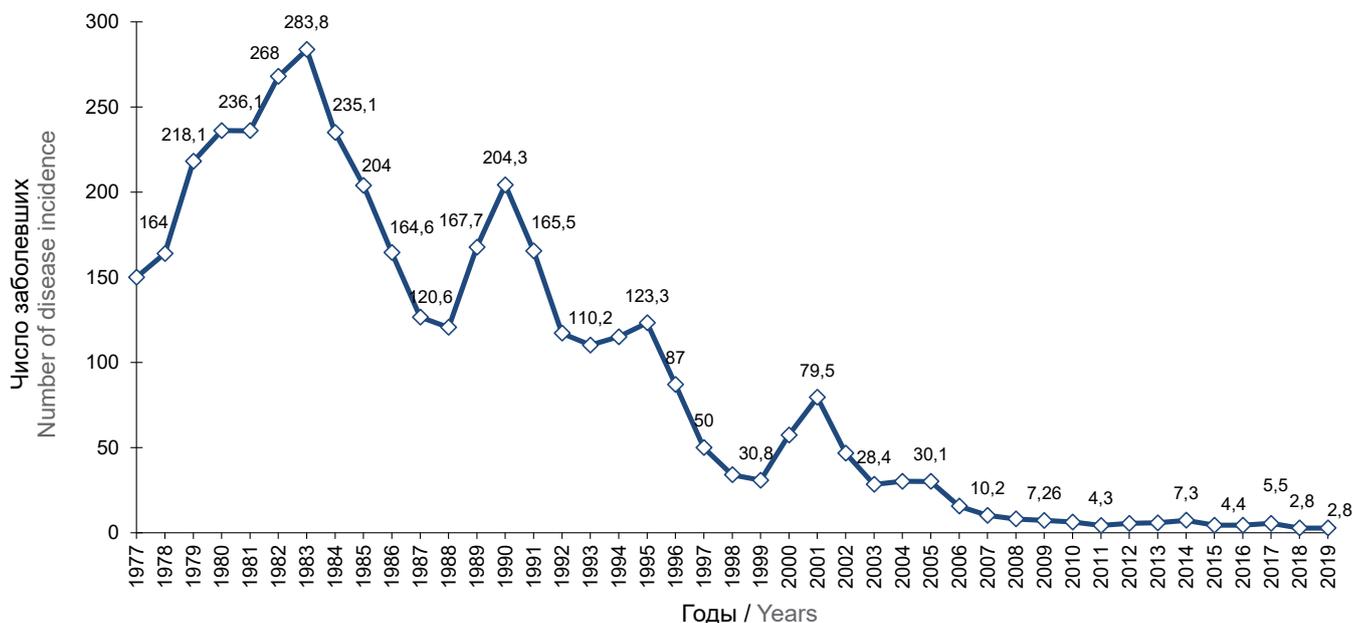
Открытие новой формы ВГА — частицы с псевдооболочкой, обеспечивающей возможность циркуляции вируса в сыворотке крови, а также клеточных рецепторов определяет прогресс в понимании патогенеза ГА.

Какова ситуация с ГА в мире и России сегодня и что нас ждёт в ближайшем будущем?

ГА распространён во всем мире и возникает в виде как спорадических заболеваний, так и вспышек. Ежегодно регистрируется около 1,4 млн случаев острого ГА [6]. Необходимо учитывать, что в подавляющем большинстве это желтушные формы. Известно, что на 1 случай такой инфекции приходится от 4 до 10 случаев, которые протекают без желтухи и чаще всего не диагностируются. Общее число заболевших и смертей от острого ГА в мире снизилось с 33,6 тыс. в 1990 г. до 18,6 тыс. в 2017 г. [7].

Распространение ВГА реализуется в рамках фекально-орального механизма передачи. Он обусловлен вирусным загрязнением продуктов питания или питьевой воды; кроме того, вирус может передаваться напрямую от человека к человеку. ГА сохраняет прежние особенности: территориальную неравномерность, цикличность, сезонность.

Изменения эпидемиологии ГА, происходящие во многих странах, могут быть сформулированы в самом общем виде следующим образом. Улучшение гигиенического и санитарного состояния территорий обуславливает снижение циркуляции ВГА среди детей, что приводит к возрастанию доли восприимчивых подростков и молодых людей. Всё это вызывает увеличение количества неиммунных взрослых и, как следствие, — числа клинически значимых случаев ГА [8].



Заболееваемость ГА в России в 1977–2019 гг. (на 100 тыс. населения).
The incidence of hepatitis A in the Russian Federation in 1977–2019 (per 100 thousand population).

В большинстве случаев вспышки ГА в Европе и Северной Америке регистрировали среди мужчин, практикующих однополый секс. Знаковое событие для понимания современной эпидемиологии ГА произошло в США в конце прошлого десятилетия. С 2016 по 2020 г. зафиксирован бурный рост заболеваемости ГА. За это время в эпидемический процесс в 33 штатах США оказались вовлечены более 32 тыс. человек, из которых 61% были госпитализированы. При этом у 324 человек ГА имел летальный исход. Во вспышку, которая началась в Сан-Диего (штат Калифорния), главным образом были вовлечены лица без постоянного места жительства (бездомные) и принимающие наркотики. Столь интенсивное распространение ГА в этой группе населения было во многом неожиданным. При этом здравоохранение США до сих пор не может справиться с этой ситуацией [9].

Территорию России традиционно относят к регионам со средней эндемичностью в отношении ГА. На протяжении последних 30 лет (при сохранении цикличности эпидемического процесса) происходит снижение заболеваемости ГА, что, вероятно, связано с социально-экономическими изменениями в стране (рисунок). В 2019 г. зарегистрирован самый низкий показатель заболеваемости — 2,8 на 100 тыс. населения, что свидетельствует о снижении активности циркуляции ВГА в стране.

Несмотря на снижение заболеваемости, эпидемиология ГА сохраняет свои основные характеристики:

- автономность эпидемического процесса в различных регионах;

- существование административных территорий, где уровень заболеваемости на протяжении многих лет периодически превышает среднероссийские показатели;
- наличие периодических подъёмов и спадов заболеваемости;
- сезонность.

Нами были выявлены неблагоприятные по ГА регионы РФ на основании анализа регистрируемой в 2011–2019 гг. заболеваемости среди детей в возрасте до 15 лет (таблица). С учётом волнового характера, присущего многолетней динамике заболеваемости ГА, были установлены следующие критерии неблагоприятия:

1. Величина превышения в регионе среднероссийских показателей заболеваемости ГА среди детей до 14 лет за 9 лет наблюдения.

2. Число лет, когда уровень заболеваемости ГА среди детей до 15 лет превышал среднегодовой по России.

Снижение активности циркуляции ВГА нашло своё отражение в возрастной структуре популяционного иммунитета к ВГА (наличия антител класса IgG к ВГА).

Подтверждением этого могут служить данные уровня антител к ВГА среди жителей в различных возрастных группах населения Санкт-Петербурга в 1999 и 2009–2010 гг. [10]: за 10 лет доля иммунных к ВГА лиц в городе сократилась с 60,2 до 45,0%. Подобные результаты получены и в других регионах России [2]. Это свидетельствует об увеличении количества восприимчивых к ВГА-инфекции.

Заболееваемость ГА может быть как спорадической, так и вспышечной, могут реализовываться во-

ДИСКУССИИ

Показатели заболеваемости ГА среди детей до 15 лет по России и наиболее неблагоприятным по данной инфекции регионам в 2011–2019 гг. (по данным Роспотребнадзора)

Indicators of the of hepatitis A incidence in children under 15 years old in the Russian Federation and in the regions most affected by this infection in 2011–2019 (according to Rospotrebnadzor incidence reports)

Регион Region	Заболеваемость ГА среди детей до 15 лет, на 100 тыс. человек Hepatitis A incidence in children under 15 years old, per 100 thousand people										Число лет, когда заболеваемость ГА среди детей до 15 лет в регионе превышала среднюю по России The number of years when the of hepatitis A incidence in children under 15 years old in the region exceeded the average for the Russian Federation
	средняя за 9 лет average over 9 years	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	
Россия Russian Federation	9,48	10,59	14,19	12,71	12,12	9,73	9,18	7,13	4,79	4,93	
Ненецкий автономный округ (Северо-Западный федеральный округ) Nenets Autonomous District (Northwestern Federal District)	27,5	Нет данных No data	0,0	0,0	64,3	135,98	71,75	0,0	4,12	0,0	3 из 8 3 out of 8
Республика Дагестан (Северо-Кавказский федеральный округ) Republic of Dagestan (North Caucasus Federal District)	47,22	49,45	149,4	104,5	35,55	52,81	25,94	2,96	1,7	3,20	6 из 9 6 out of 9
Удмуртская Республика (Приволжский федеральный округ) Udmurtian Republic (Volga Federal District)	15,8	5,51	3,54	6,17	4,87	25,21	61,44	30,05	2,50	3,62	3 из 9 3 out of 9
Пермский край (Приволжский федеральный округ) Perm Territory (Volga Federal District)	16,56	5,81	11,85	13,92	26,47	8,01	37,76	24,05	12,67	8,54	6 из 9 6 out of 9
Республика Хакасия (Сибирский федеральный округ) Republic of Khakassia (Siberian Federal District)	23,5	8,06	0,0	15,75	94,70	68,96	9,55	2,79	9,09	2,68	4 из 9 4 out of 9
Новосибирская область (Сибирский федеральный округ) Novosibirsk Region (Siberian Federal District)	14,8	12,77	12,25	19,87	20,13	10,36	18,99	15,87	9,44	13,37	8 из 9 8 out of 9

Примечание. Жирным шрифтом выделены показатели, превышающие среднероссийские.

Note. Indicators exceeding the national average are highlighted in bold.

дный и пищевой пути передачи патогена. Крупные вспышки ГА зарегистрированы в Ржеве в 2005 г. (свыше 600 заболевших), Нижнем Новгороде в 2005 г. (более 3000 заболевших), Москве в 2010 г. (более 800 заболевших).

Отсутствие значимого улучшения санитарно-гигиенического уровня жизни населения России (аварии в системе водоснабжения и канализации), природные катаклизмы (наводнения, землетрясения) при росте числа лиц без наличия антител класса IgG к ВГА увеличивают риск возникновения крупных вспышек.

Что является ключевым звеном в системе профилактики ГА?

Как и при любом инфекционном заболевании, система борьбы с ГА включает комплекс мероприятий, направленных на все звенья эпидпроцесса:

- выявление и изоляцию источников вируса;
- разрыв путей передачи;
- повышение невосприимчивости населения к ВГА [2].

Очевидно, что наиболее эффективным мероприятием по борьбе с ГА является вакцинопрофилактика. Она обеспечивает надёжную защиту вак-

цинированного пациента минимум на 20–25 лет. Наличие высокоэффективных и безопасных вакцин, в том числе выпускаемых в России, определяет возможность реального контроля за ГА.

Проблема ГА остаётся актуальной для России по следующим основным причинам [3]:

- наличие большой когорты лиц без антител класса IgG к ВГА;
- отчётливое смещение заболеваемости на более старшие возрастные группы и, как следствие, увеличение среднетяжёлых и тяжёлых случаев ГА;
- недостатки в системе коммунального хозяйства;
- возрастающая миграция населения;
- увеличение числа случаев ГА на фоне хронических гепатитов В и С, а также ВИЧ-инфекции;
- экономический ущерб от ГА.

Какие вакцины против ГА зарегистрированы в России?

В России зарегистрированы несколько инактивированных вакцин против ГА как отечественных, так и иностранных производителей. Все они производятся по одному принципу: ВГА размножают в культуре клеток (клеточные линии 4647 или MRC-5), инактивируют формальдегидом и сорбируют на гидроокиси алюминия, выступающей в качестве адьюванта. Сравнительный анализ отечественных и зарубежных вакцинных препаратов продемонстрировал их сопоставимость [2]. Кроме того, согласно позиции ВОЗ, все инактивированные вакцины против ГА являются взаимозаменяемыми [11].

Общая тенденция современной вакцинологии — создание комбинированных вакцин. Вакцина против ГА входит в состав таких вакцин. Наибольший опыт накоплен относительно вакцины против гепатитов А и В. Её компонентами служат инактивированный ВГА и высокоочищенный рекомбинантный HBsAg. Поливалентная вакцина выпускается в 2 вариантах: детском (содержание антигена ВГА — 360 ед.; HBsAg — 10 мг) и взрослом (содержание антигена ВГА — 720 ед.; HBsAg — 20 мг). Схема вакцинации включает 3 инъекции (0–1–6 мес). Результаты изучения безопасности, иммуногенности и профилактической эффективности двухвалентной вакцины установили её эквивалентность с монопрепаратами против гепатитов А и В [12].

Какие существуют стратегии контроля ГА и имеется ли мировой опыт проведения программ по контролю ГА?

Стратегии вакцинации против ГА прошли определённую эволюцию. Она определялась появлением новых вакцин, накоплением данных по их

применению и изменяющейся эпидемиологии ГА. Стратегическим вопросам вакцинопрофилактики этой инфекции посвящены работы, опубликованные как в отечественных [2, 4], так и в зарубежных изданиях [13]. В обобщённом виде современная стратегия может быть разделена на пред- и постконтактную профилактику ГА.

1. *Стратегии предконтактной профилактики:*

а) *Целенаправленная вакцинация групп риска.*

Эта стратегия была избрана как основная в самом начале применения вакцины против ГА. Логика её использования заключалась в защите групп риска¹.

В эти группы входят:

- лица, проживающие в регионах, неблагополучных по заболеваемости ГА;
- лица, подверженные профессиональному риску заражения (медицинские работники, работники сферы обслуживания населения, занятые на предприятиях пищевой промышленности, а также обслуживающие водопроводные и канализационные сооружения, оборудование и сети);
- лица, выезжающие в неблагополучные страны (регионы), где регистрируется вспышечная заболеваемость ГА;
- контактные лица в очагах ГА.

По мнению ВОЗ, такая стратегия актуальна для регионов с низким или очень высоким уровнем эндемичности ГА, а также на территориях с переходной эндемичностью. Очевидно, выбор и реализация только этой стратегии не может обеспечить создание коллективного иммунитета среди населения. Однако включение этой стратегии в общую систему профилактики ГА является обязательным.

б) *Региональная массовая вакцинация отдельных возрастных групп детского населения.* Учитывая, что в регионах со средней эндемичностью ГА в большей степени болеют дети, была предложена стратегия вакцинации этой группы населения в отдельных регионах с наиболее высокой заболеваемостью. Возраст начала вакцинации определяется инструкцией к используемой вакцине (например, для вакцины Havrix — 12 мес). Исследования, проведённые в США, Италии, Испании, Австралии, продемонстрировали значимое снижение заболеваемости ГА в результате внедрения такой стратегии. Подобные результаты получены в Республике Беларусь [14].

¹ Приказ Министерства здравоохранения РФ от 14.09.2020 № 967н «О внесении изменения в приложение № 1 к приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 21.03.2014 № 125н "Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям"». М.: 2020.

в) *Всеобщая массовая вакцинация с использованием 2 доз вакцины.*

Изучение длительности сохранения поствакцинального иммунитета к ВГА показало, что двукратное введение вакцины с интервалом между прививками в 6 мес обеспечивает защиту на протяжении 16–20 лет. Исходя из этого в нескольких странах (Израиле, США, Китае, Греции, Израиле, Панаме и др.) была избрана стратегия всеобщей массовой вакцинации [13]. Вакцинируя израильских детей начиная с 18-месячного возраста (охват иммунизацией составил 90 и 85% для 1-й и 2-й доз соответственно), удалось снизить заболеваемость с 33–70 случаев на 100 тыс. населения в 1992–1998 гг. до 2,5 на 100 тыс. населения в 2002 г. ВОЗ рекомендовала включить универсальную массовую вакцинацию против ГА в национальные планы иммунизации детей старше 1 года в регионах со средней и переходной эндемичностью. Исследования, проведённые в России, также подтвердили эффективность данной стратегии [3, 15].

г) *Массовая вакцинация с использованием 1 дозы вакцины.* Одно из свойств вакцины против ВГА — быстрая выработка антител класса IgG к ВГА и их сохранение в течение длительного срока после однократного введения. Предполагается, что однократная иммунизация обеспечивает организм клетками иммунной памяти к ВГА и при следующем контакте с вирусом человек оказывается защищённым.

В 2005 г. органы здравоохранения Аргентины ввели однократную вакцинацию против ГА для 12-месячных детей, получив выраженное снижение заболеваемости. При исходной заболеваемости 173,8 случая на 100 тыс. населения (1995 г.) после однократной вакцинации произошло её снижение к 2004 г. более чем на 80% — 10,0 случаев на 100 тыс. населения для всех возрастных групп [16, 17]. Данная стратегия получила название «Аргентинская». Подобные успешные работы были проведены и в других странах: Никарагуа, Корея, Индия, Китай и Япония [18].

В 2012 г. мы совместно с организаторами здравоохранения Республики Тыва провели туровую однократную вакцинацию против ГА детского населения (3–8 лет, около 43 тыс. человек) [19]. Для иммунизации использовали детский вариант инактивированной вакцины, содержащий 720 ед. антигена ВГА. На момент начала проведения массовой вакцинации (2012 г.) показатель заболеваемости среди детей до 15 лет в этом регионе составлял 242,6 на 100 тыс. населения. Через 2 года он сократился до 3,2 на 100 тыс. населения. Начиная с 2016 г. в Республике Тыва не зарегистрировано ни одного случая ГА.

2. *Постконтактная профилактика.* Изучение инфекционного процесса ГА позволило установить,

что инкубационный период до начала клинических проявлений заболевания может продолжаться 10–28 дней. Высказано предположение, что введение вакцины в первые 15 дней от момента инфицирования может в некоторых случаях предотвратить развитие клинически выраженной инфекции. Это положение подтверждено как экспериментальными работами на восприимчивых к ГА животных, так и полевыми исследованиями, проведёнными в Казахстане [20].

Какую стратегию вакцинации необходимо осуществить для успешного контроля ГА в России?

Сегодня вакцинация против ГА регламентирована национальным календарём профилактических прививок по эпидемическим показаниям. Применение вакцины во время вспышек ГА, несомненно, ограничивает распространение инфекции, однако имеет «пожарный», а не предупредительный характер, следуя за ситуацией, а не предотвращая её. Вакцинация только групп риска по ГА обязательна, однако не может обеспечить полный контроль инфекции в стране [1].

Низкий уровень заболеваемости ГА создаёт ложное представление об эпидемиологическом благополучии по данному заболеванию. Чрезвычайно важно помнить об увеличивающемся риске возникновения крупных вспышек ГА. Надёжным методом их профилактики, наряду с неукоснительным соблюдением противоэпидемического режима, служит поддержание популяционного иммунитета против этой инфекции за счёт массовой вакцинации.

Необходимо включить вакцинацию против ГА в национальный календарь профилактических прививок в раздел обязательных прививок. Плановая двукратная иммунизация детей в возрасте 24 и 36 мес заложит основу будущей защиты от этой инфекции.

Применение однократной схемы вакцинации в неблагополучных по ГА регионах страны позволит оперативно и с меньшими финансовыми затратами решать задачу по контролю ГА на региональном уровне.

С учётом опыта решения проблемы гепатита В в рамках Национального проекта «Здоровье» и необходимости контроля ГА считаем важным рассмотреть вопрос о создании Национальной программы по вакцинации против ГА. Реализация такой программы позволит полностью контролировать ГА в России.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Михайлов М.И., Шахильдян И.В., Онищенко Г.Г. Стратегия контроля гепатита А в России. В кн.: *Актуальные вопросы эпидемиологии и профилактики гепатита А. Сбор-*

- ник тезисов докладов Всероссийской конференции «Россия без гепатита А». М.; 2010: 42–5.
- Михайлов М.И., Шахгильдян И.В., Онищенко Г.Г. Энтеральные вирусные гепатиты (этиология, эпидемиология, диагностика, профилактика). М.; 2007.
 - Шахгильдян И.В., Михайлов М.И., Ершова О.Н., Хухлович П.А., Хасанова В.А., Лыткина И.Н. и др. Современная стратегия контроля за гепатитом А: опыт проведения плановой вакцинации в рамках регионального календаря профилактических прививок. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2011; (2): 51–4.
 - Мукомолов С.Л., Михайлов М.И., Семенов Т.А., Селькова Е.П., Герасимова И.Е. Бремя гепатита А в Российской Федерации: научный обзор. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2014; (6): 24–33.
 - Taylor R.M., Davern T., Munoz S., Han S.H., McGuire B., Larson A.M., et al. Fulminant hepatitis a virus infection in the United States: incidence, prognosis, and outcomes. *Hepatology*. 2006; 44(6): 1589–97. <https://doi.org/10.1002/hep.21439>
 - Abutaleb A., Kottlil S. Hepatitis A: Epidemiology, natural history, unusual clinical, manifestations, and prevention. *Gastroenterol. Clin. N Am*. 2020; 49(2): 191–9. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2020.01.002>
 - Liu Z., Shi O., Zhang T., Jin L., Chen X. Disease burden of viral hepatitis A, B, C and E: A systematic Analysis. *J. Viral. Hepat*. 2020; 27(12): 1284–96. <https://doi.org/10.1111/jvh.13371>
 - Van Herck K., Van Damme P. Prevention of hepatitis A by Havrix: a review. *Expert. Rev. Vaccines*. 2005; 4(4): 459–71. <https://doi.org/10.1586/14760584.4.4.459>
 - Hofmeister M.G., Xing J., Foster M.A., Augustine R.J., Burkholder C., Collins J., et al. Hepatitis A person-to-person outbreaks: Epidemiology, morbidity burden, and factors associated with hospitalization – Multiple States, 2016–2019. *J. Infect. Dis*. 2020; 223(3): 426–34. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa636>
 - Мукомолов С.Л., Сталевская А.В., Железнова Н.В., Левакова И.А., Васильева В.А. Сероэпидемиология вирусного гепатита А в Санкт-Петербурге в 2009 г. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2010; 87(5): 15–20.
 - WHO. WHO position paper on hepatitis A vaccines WHO position paper on hepatitis A vaccines – June 2012. *Wkly Epidemiol. Rec*. 2012; 87(28/29): 261–76.
 - Van Damme P., Van Herck K. A review of the efficacy, immunogenicity and tolerability of a combined hepatitis A and B vaccine. *Expert. Rev. Vaccines*. 2004; 3(3): 249–67. <https://doi.org/10.1586/14760584.3.3.249>
 - Lemon S.M., Ott J.J., Van Damme P., Shouval D. Type A viral hepatitis: A summary and update on the molecular virology, epidemiology, pathogenesis and prevention. *J. Hepatol*. 2017; S0168-8278(17)32278-X. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.08.034>
 - Fisenka E.G., Germanovich F.A., Glinskaya I.N., Lyabis O.I., Rasuli A.M. Effectiveness of universal hepatitis A immunization of children in Minsk City, Belarus: four-year follow-up. *J. Viral. Hepat*. 2008; 15(Suppl. 2): 57–61. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2008.01031.x>
 - Романенко В.В., Юровских А.И., Анкудинова А.В., Осипова С.Н. Эпидемиологические особенности гепатита А в условиях плановой иммунизации в Свердловской области. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2011; (5): 69–76.
 - Shouval D., Ashur Y., Adler R., Lewis J.A., Armstrong M.E., Davide J.P., et al. Single and booster dose responses to an inactivated hepatitis A virus vaccine: comparison with immune serum globulin prophylaxis. *Vaccine*. 1993; 11 (Suppl. 1): S9–S14. [https://doi.org/10.1016/0264-410x\(93\)90151-m](https://doi.org/10.1016/0264-410x(93)90151-m)
 - Werzberger A., Mensch B., Kuter B., Brown L., Lewis J., Sitrin R., et al. A controlled trial of a formalin-inactivated hepatitis A vaccine in healthy children. *N. Engl. J. Med*. 1992; 327(7): 453–7. <https://doi.org/10.1056/NEJM199208133270702>
 - Zhang Z., Zhu X., Hu Y., Liang M., Sun J., Song Y., et al. Five-year antibody persistence in children after one dose of inactivated or live attenuated hepatitis A vaccine. *Hum. Vaccin. Immunother*. 2017; 13(6): 1–6. <https://doi.org/10.1080/21645515.2016.1278329>
 - Mikhailov M.I., Lopatukhina M.A., Asadi Mobarhan F.A., Ilchenko L.Y., Kozhanova T.V., Isaeva O.V., et al. Universal single-dose vaccination against hepatitis A in children in a region of high endemicity. *Vaccines (Basel)*. 2020; 8(4): 780. <https://doi.org/10.3390/vaccines8040780>
 - Victor J.C., Monto A.S., Surdina T.Y., Suleimenova S.Z., Vaughan G., Nainan O.V., et al. Hepatitis A vaccine vs. immune globulin for postexposure prophylaxis. *N. Engl. J. Med*. 2007; 357: 1685–94. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa070546>

REFERENCES

- Mikhailov M.I., Shakhgil'dyan I.V., Onishchenko G.G. Hepatitis A control strategy in Russia. In: *Topical Issues of Epidemiology and Prevention of Hepatitis A. Collection of Abstracts of the All-Russian Conference «Russia Without Hepatitis A» [Aktual'nye voprosy epidemiologii i profilaktiki gepatita A. Sbornik tezisev dokladov Vserossijskoj konferencii «Rossiya bez gepatita A»]*. Moscow; 2010: 42–5. (in Russian)
- Mikhailov M.I., Shakhgil'dyan I.V., Onishchenko G.G. *Enterale Viral Hepatitis (Etiology, Epidemiology, Diagnosis, Prevention) [Enteral'nye virusnye gepatity (etiologiya, epidemiologiya, diagnostika, profilaktika)]*. Moscow; 2007. (in Russian)
- Shakhgil'dyan I.V., Mikhailov M.I., Ershova O.N., Khukhlovich P.A., Khasanova V.A., Lytkina I.N., et al. Modern strategy for the control of Hepatitis A: experience of routine immunization in regional immunization schedule. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika*. 2011; (2): 51–4. (in Russian)
- Mukomolov S.L., Mikhailov M.I., Semenenko T.A., Sel'kova E.P., Gerasimova I.E. Review: burden of hepatitis a in Russian Federation. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika*. 2014; (6): 24–33. (in Russian)
- Taylor R.M., Davern T., Munoz S., Han S.H., McGuire B., Larson A.M., et al. Fulminant hepatitis a virus infection in the United States: incidence, prognosis, and outcomes. *Hepatology*. 2006; 44(6): 1589–97. <https://doi.org/10.1002/hep.21439>
- Abutaleb A., Kottlil S. Hepatitis A: Epidemiology, natural history, unusual clinical, manifestations, and prevention. *Gastroenterol. Clin. N Am*. 2020; 49(2): 191–9. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2020.01.002>
- Liu Z., Shi O., Zhang T., Jin L., Chen X. Disease burden of viral hepatitis A, B, C and E: A systematic Analysis. *J. Viral. Hepat*. 2020; 27(12): 1284–96. <https://doi.org/10.1111/jvh.13371>
- Van Herck K., Van Damme P. Prevention of hepatitis A by Havrix: a review. *Expert. Rev. Vaccines*. 2005; 4(4): 459–71. <https://doi.org/10.1586/14760584.4.4.459>
- Hofmeister M.G., Xing J., Foster M.A., Augustine R.J., Burkholder C., Collins J., et al. Hepatitis A person-to-person outbreaks: Epidemiology, morbidity burden, and factors associated with hospitalization – Multiple States, 2016–2019. *J. Infect. Dis*. 2020; 223(3): 426–34. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa636>
- Mukomolov S.L., Stalevskaia A.V., Zheleznova N.V., Levakova I.A., Vasil'eva V.A. Seroepidemiology of viral hepatitis A in St. Petersburg in 2009. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2010; 87(5): 15–20. (in Russian)
- WHO. WHO position paper on hepatitis A vaccines WHO position paper on hepatitis A vaccines – June 2012. *Wkly Epidemiol. Rec*. 2012; 87(28/29): 261–76.
- Van Damme P., Van Herck K. A review of the efficacy, immunogenicity and tolerability of a combined hepatitis A and B vac-

ДИСКУССИИ

12. cine. *Expert. Rev. Vaccines*. 2004; 3(3): 249–67. <https://doi.org/10.1586/14760584.3.3.249>
13. Lemon S.M., Ott J.J., Van Damme P., Shouval D. Type A viral hepatitis: A summary and update on the molecular virology, epidemiology, pathogenesis and prevention. *J. Hepatol*. 2017; S0168-8278(17)32278-X. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.08.034>
14. Fisenka E.G., Germanovich F.A., Glinskaya I.N., Lyabis O.I., Rasuli A.M. Effectiveness of universal hepatitis A immunization of children in Minsk City, Belarus: four-year follow-up. *J. Viral. Hepat*. 2008; 15(Suppl. 2): 57–61. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2008.01031.x>
15. Romanenko V.V., Yurovskikh A.I., Ankudinova A.V., Osipova S.N. Epidemiological features of hepatitis A in terms of routine immunization in the Sverdlovsk region. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika*. 2011; (5): 69–76. (in Russian)
16. Shouval D., Ashur Y., Adler R., Lewis J.A., Armstrong M.E., Davide J.P., et al. Single and booster dose responses to an inactivated hepatitis A virus vaccine: comparison with immune serum globulin prophylaxis. *Vaccine*. 1993; 11 (Suppl. 1): S9–S14. [https://doi.org/10.1016/0264-410x\(93\)90151-m](https://doi.org/10.1016/0264-410x(93)90151-m)
17. Werzberger A., Mensch B., Kuter B., Brown L., Lewis J., Sitrin R., et al. A controlled trial of a formalin-inactivated hepatitis A vaccine in healthy children. *N. Engl. J. Med*. 1992; 327(7): 453–7. <https://doi.org/10.1056/NEJM199208133270702>
18. Zhang Z., Zhu X., Hu Y., Liang M., Sun J., Song Y., et al. Five-year antibody persistence in children after one dose of inactivated or live attenuated hepatitis A vaccine. *Hum. Vaccin. Immunother*. 2017; 13(6): 1–6. <https://doi.org/10.1080/21645515.2016.1278329>
19. Mikhailov M.I., Lopatukhina M.A., Asadi Mobarhan F.A., Ilchenko L.Y., Kozhanova T.V., Isaeva O.V., et al. Universal single-dose vaccination against hepatitis A in children in a region of high endemicity. *Vaccines (Basel)*. 2020; 8(4): 780. <https://doi.org/10.3390/vaccines8040780>
20. Victor J.C., Monto A.S., Surdina T.Y., Suleimenova S.Z., Vaughan G., Nainan O.V., et al. Hepatitis A vaccine vs. immune globulin for postexposure prophylaxis. *N. Engl. J. Med*. 2007; 357: 1685–94. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa070546>

Информация об авторах:

Михайлов Михаил Иванович[✉] — д.м.н., проф., член-корр. РАН, зав. лаб. вирусных гепатитов НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; научный руководитель НИИ молекулярной и персонализированной медицины РМАНПО, Москва, Россия, michmich2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6636-6801>

Кюрегян Карен Каренович — д.б.н., проф. РАН, в.н.с. лаб. вирусных гепатитов НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; г.н.с., зав. отделом изучения вирусных гепатитов НИИ молекулярной и персонализированной медицины РМАНПО, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-3599-117X>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 25.11.2020;
принята к публикации 25.03.2021;
опубликована 20.04.2021

Information about the authors

Mikhail I. Mikhailov[✉] — D. Sci. (Med.), Prof. Corr. Member of the RAS, Head, Laboratory of viral hepatitis, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia; Scientific director, Institute of Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia, michmich2@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6636-6801>

Karen K. Kyuregyan — D. Sci. (Biol.), Prof. of the RAS, leading researcher, Laboratory of viral hepatitis, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia; chief researcher, Head, Department for the study of viral hepatitis, Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-3599-117X>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 25.11.2020;
accepted for publication 25.03.2021;
published 20.04.2021

ОБЗОРЫ

Научный обзор

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-121>

Однонуклеотидные полиморфизмы членов суперсемейства интерлейкина-1: ассоциация с вирусными гепатитами В и С

Власенко Н.В.¹, Чурилова Н.С.¹, Панасюк Я.В.¹, Клушкина В.В.¹, Дубоделов Д.В.¹, Кудрявцева Е.Н.¹, Семенов Т.А.², Кузин С.Н.¹, Акимкин В.Г.¹

¹Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии, Москва, Россия;

²Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия

Аннотация

В обзоре представлена информация об однонуклеотидных полиморфизмах (single nucleotide polymorphism, SNP) в генах некоторых интерлейкинов (IL), входящих в суперсемейство IL-1, и их связи с различными заболеваниями человека как инфекционной, так и неинфекционной природы. Кратко изложена история обнаружения SNP и развитие научного поиска по данной проблеме до сегодняшнего времени. Описаны некоторые механизмы взаимодействия инфекционных агентов и иммунной системы человека с учётом SNP отдельных цитокинов суперсемейства IL-1. Приведены данные о связи ряда SNP в генах, кодирующих другие факторы иммунной системы, ассоциированные с особенностями течения вирусных гепатитов В и С. Обсуждается значение определения SNP-пропорции провоспалительных цитокинов и их антагонистов суперсемейства IL-1 среди здорового населения и соотношения отдельных SNP у определённых групп пациентов как параметра мониторинга систем эпидемиологического надзора за инфекционными заболеваниями.

Ключевые слова: однонуклеотидный полиморфизм, суперсемейство интерлейкина-1, вирусные гепатиты В и С, обзор

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

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

Для цитирования: Власенко Н.В., Чурилова Н.С., Панасюк Я.В., Клушкина В.В., Дубоделов Д.В., Кудрявцева Е.Н., Семенов Т.А., Кузин С.Н., Акимкин В.Г. Однонуклеотидные полиморфизмы членов суперсемейства интерлейкина-1: ассоциация с вирусными гепатитами В и С. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98(2): 198–212.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-121>

Review article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-121>

Single nucleotide polymorphisms of the interleukin-1 superfamily members: association with viral hepatitis B and C

Natalia V. Vlasenko¹, Nadezhda S. Churilova¹, Yarina V. Panasyuk¹, Vitalina V. Klushkina¹, Dmitry V. Dubodelov¹, Elena N. Kudryavtseva¹, Tatiana A. Semenenko², Stanislav N. Kuzin¹, Vasily G. Akimkin¹

¹Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia;

²N.F. Gamaleya Federal Research Centre of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

The review provides information on single nucleotide polymorphisms (SNPs) in genes encoding some interleukins belonging to the interleukin-1 (IL-1) superfamily and on their association with different infectious and non-infectious human diseases. It also briefs on the history of SNP discovery and the progress in the related scientific studies till the present time. It gives an insight into some mechanisms of interaction between infectious agents and the human immune system, involving SNPs in some cytokines of the IL-1 superfamily. The review provides data on relationships of SNPs in genes encoding other factors of the immune system, which are associated with the specific characteristics of natural history of chronic hepatitis B and C. It explores the significance of assessment of the SNP-proportion in proinflammatory cytokines and their antagonists of the IL-1 superfamily among the healthy population as well as the ratio of individual SNPs in specific groups of patients as a monitoring parameter for epidemiological surveillance of infectious diseases.

Keywords: *single nucleotide polymorphism, interleukin-1 superfamily, viral hepatitis B and C, review*

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Vlasenko N.V., Churilova N.S., Panasyuk Y.V., Klushkina V.V., Dubodelov D.V., Kudryavceva E.N., Semenenko T.A., Kuzin S.N., Akimkin V.G. Single nucleotide polymorphisms of the interleukin-1 superfamily members: association with viral hepatitis B and C. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2021; 98(2): 198–212.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-114>

Цель работы — представить актуальную информацию об ассоциации полиморфизмов в генах суперсемейства интерлейкина-1, а также некоторых цитокинов с патологическими состояниями человека, включая вирусные гепатиты В и С.

Согласно современным представлениям о патологии большинство заболеваний человека являются мультифакторными. Завершённый в 2000 г. международный проект «Геном человека» актуализировал новое и весьма важное направление для изучения молекулярно-генетических механизмов большого спектра как аутоиммунных, так и инфекционных болезней. Одним из следствий этого проекта явилось установление связей между восприимчивостью организма человека к различным заболеваниям, тяжестью их течения, исходами и эффективностью терапии, с одной стороны, и однонуклеотидными полиморфизмами (single nucleotide polymorphism, SNP) — с другой. Это вызвало большой интерес и мотивировало специалистов к проведению всесторонних исследований по новой проблеме.

SNP представляют собой минимально возможные варианты генетического кода — замену одного нуклеотидного основания на другое. В настоящее время достаточно широкое распространение получает близкая аббревиатура — SNV (single nucleotide variation, однонуклеотидные варианты), однако данное понятие несёт более общий смысл, включающий однонуклеотидные делеции и вставки, которые в кодирующих последовательностях приводят к сдвигу рамки считывания и терминации трансляции, что делает невозможным синтез белка. В настоящем обзоре будут рассмотрены исключительно нуклеотидные замены. Несинонимичная замена может привести, с одной стороны, к миссенс-мутации (появлению иной аминокислоты в кодируемом белке с возможным последующим изменением его свойств) или, с другой стороны, к

нонсенс-мутации (образованию стоп-кодона, приводящего к остановке транскрипции). Синонимичные замены не затрагивают аминокислотную последовательность и, соответственно, не приводят к изменениям в кодируемом белке и нарушению его функций. SNP присутствуют как в кодирующих, так и в некодирующих участках гена. Так М.А. Mosrati и соавт. описали 2 полиморфных локуса в промоторной области регуляторного гена *TERT* (теломерная обратная транскриптаза, являющаяся каталитической субъединицей фермента теломеразы), а именно *rs2736100* (A→C) с достоверно более частым преобладанием гомозиготного С-варианта и *rs10069690* (C→T) гомозиготы T у больных с первичной глиобластомой [1].

С наступлением эры молекулярной диагностики появились новые возможности по изучению связей SNP и различных патологических состояний человека. Значительная часть научных работ, опубликованных в начале 2000-х гг., была посвящена главным образом обнаружению новых SNP в составе геноме человека, без выявления корреляционных связей с различными заболеваниями [2, 3]. Итогом повышенного интереса исследователей разных стран мира явилось описание большого количества SNP в геноме человека. В обзоре R. Sachidanandam и соавт., обобщающем результаты многих работ, приведены данные о 1,42 млн полиморфизмов [4]. К настоящему времени окончательно количество полиморфизмов многократно превышает это значение: по данным проекта «1000 геномов» описано более 40 млн SNP генома человека. В это же время начались активные исследования, посвящённые выявлению связей SNP с различными заболеваниями. Так, М. Hijikata и соавт. сообщили об установлении корреляции между полиморфизмом промоторной области гена *MxA*, кодирующего белок устойчивости к миксовирусам (MX1, Gene ID: 4599), и виру-

сологическим ответом на лечение пациентов с хроническим гепатитом С (ХГС) [5]. Несколько позже S. Grösch и соавт. обнаружили связь между полиморфизмом гена *MOR* (μ -опиодный рецептор, Gene ID: 4988) и риском возникновения идиопатической эпилепсии [6].

Возросший интерес и быстрое накопление новой информации по проблеме определения роли SNP в возникновении патологических состояний послужили основанием для запуска в 2002 г. международного проекта «НарМар», который функционирует по сегодняшний день [7]. Главная его задача — полное картирование SNP в гапloidном наборе генома человека. Важно отметить, что уже в конце 1990-х гг. были выполнены близкие исследования, в которых изучали возможности совместного влияния полиморфизмов сцепленных генов на некоторые патологические процессы. S. Chamberlain и соавт., R. Fujita и соавт. выявили ассоциацию полиморфизма локуса *D9S5*, расположенного в 9-й хромосоме, с мутацией в локусе *FA*, имеющей непосредственное отношение к развитию атаксии Фридрейха [8, 9].

Взаимодействие инфекционного агента и иммунной системы организма человека — весьма сложный и многофакторный процесс, в который активно вовлечены цитокины. Значительную часть цитокиновой системы составляет группа интерлейкинов (IL), в которую входит суперсемейство IL-1, включающее 11 белков. Они участвуют в начальной фазе инфекционного заболевания в процессах активации фагоцитоза и синтеза арахидоновой кислоты, являющейся предшественником (прекурсором) простагландинов и тромбоксанов [10]. Ранее в эту группу входили исключительно 4 белка: IL-1 α , IL-1 β , IL-1RA, IL-18. Позже выявлены иные

цитокины со схожим набором функций, вследствие чего их также включили в данное суперсемейство. С появлением новых номенклатурных единиц была изменена современная система наименования интерлейкинов, входящих в вышеуказанное суперсемейство (табл. 1).

В упрощенной схеме реализация воспалительного пути семейства IL-1 может быть представлена как конкурентное взаимодействие IL-1 α , -1 β и -1RA (антагонист интерлейкинового рецептора) с 3 рецепторами для данных интерлейкинов: IL-1R1, -1R2, -1R3 (IL-1RAcP, аксессуарный белок). В результате этого взаимодействия может быть активирован провоспалительный или, наоборот, противовоспалительный путь.

Функции IL-1 α изучены не в полной мере, но, по мнению A. Werman и соавт., данный интерлейкин представляет собой сигнальную молекулу, которая является фактором транскрипции провоспалительных цитокинов [12]. Реализация воспалительного пути становится возможной при условии связывания IL-1 α и IL-1 β с рецептором IL-1R1 при обязательном участии IL-1RAcP. В случае связывания IL-1 β с IL-1R2 (рецептором-приманкой) передача сигнала, инициирующего воспалительный путь, не осуществляется и развития воспалительного процесса не происходит [13]. Экспрессия генов IL-1 α и IL-1 β различна. α -Белок постоянно персистирует в эпителиальных и мезенхимальных клетках здорового организма, доказано его присутствие в значительных количествах при апоптозе клеток [14]. Активная транскрипция IL-1 β возникает исключительно в ответ на развитие патологического процесса. Транскрипция генов группы цитокинов, в том числе IL-1, активируется через опосредованное взаимодействие

Таблица 1. Наименования интерлейкинов, входящих в суперсемейство IL-1, принятые в новой и старой номенклатурах [11]

Table 1. Names of IL-1 superfamily interleukins in the new and previous nomenclatures [11]

Наименование, принятое в старой номенклатуре The name approved in the previous nomenclature	Наименование, принятое в новой номенклатуре The name approved in the new nomenclature	Идентификационный номер (Gene ID по данным NCBI) Identification number (NCBI Gene ID)
IL-1 α	1F1	ID: 3552
IL-1 β	1F2	ID: 3553
IL-1RA	1F3	ID: 3557
IL-18	1F4	ID: 3606
IL-36Ra	1F5	ID: 26525
IL-36 α	1F6	ID: 27179
IL-37	1F7	ID: 27178
IL-36 β	1F8	ID: 27177
IL-36 γ	1F9	ID: 56300
IL-38	1F10	ID: 84639
IL-33	1F11	ID: 90865

Toll-подобных рецепторов (Toll-like receptors, TLR) с первичными системами распознавания патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (pathogen associated molecular patterns, PAMP), представляющих собой компоненты клеточной стенки бактерий и грибов, их нуклеиновые кислоты и белки, а также дистресс-ассоциированных молекулярных паттернов (distress associated molecular patterns, DAMP)). Последние являются эндогенными молекулами, возникающими при дисбалансе клеток организма человека в результате воздействия инфекционного агента либо при иных патологических состояниях.

Уровень экспрессии IL-1 β и IL-1RA зависит от эпигенетических модификаций участков гена, отвечающих за кодирование данных белков, что подтвердили M.P. Madej и соавт. в эксперименте *in vitro* путём сравнения уровней экспрессии провоспалительных цитокинов и их антагонистов при двойном воздействии на изолированные моноциты и макрофаги инфекционным агентом бактериальной природы [14]. По нашему мнению, описанный выше механизм универсален и реализуется при многих патологических процессах, но для доказательства этой точки зрения необходимо проведение соответствующих исследований.

В настоящее время одним из наиболее изучаемых SNP IL-1 α является локус *rs1800587* (-889C→T). Предпринимаются многочисленные попытки установления взаимосвязи данного полиморфизма с различными патологическими состояниями, причём во многих исследованиях получены дискордантные результаты. Так, G. Pšemeneckienė и соавт. [15] выявили ассоциацию с повышенным риском возникновения болезни Альцгеймера. С другой стороны, A. Serretti и соавт. и S.H. Yildiz и соавт. не нашли доказательств вышеуказанной связи [16, 17]. Возможно, причина таких противоречий заключается в группах пациентов, принадлежащих к различным этническим сообществам: связь между SNP и болезнью Альцгеймера обнаружена у исследуемых из Литвы, но отсутствует у итальянцев, греков и турок. Подобные различия выявлены и при установлении ассоциации SNP *rs1800587* (C→T) и риска развития посттравматического остеомиелита и многих других заболеваний. V. Asensi и соавт., A. Tsezou и соавт. указали на наличие положительной корреляции [18, 19], тогда как N. Jiang и соавт. — на её отсутствии [20]. Важно отметить, что спектр заболеваний, связанных с полиморфизмом *rs1800587* (C→T), достаточно широк и ещё до конца не определён. Так, E. Korobeinikova и соавт. [21] сообщили о достоверном преобладании гомозиготного генотипа CC у пациентов с большим размером первичной опухоли молочной железы и худшим прогнозом исхода заболевания по сравнению с иными генотипами этого SNP.

В силу того что члены суперсемейства IL-1 являются провоспалительными агентами иммунной системы, предпринимаются многочисленные попытки найти взаимосвязь между вариациями последовательностей, кодирующих участников группы IL-1, и широким спектром заболеваний человека. Результаты большого количества исследований указывают на отсутствие взаимосвязей, однако это представляет значительный интерес с позиции создания всеобщего банка данных. Так, A. Picos и соавт. [22] не выявили ассоциации полиморфизмов локусов *rs16944* (-511C→T), *rs1143634* (3953C→T), *rs1800587* (-889C→T) с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью. Ассоциация между нуклеотидными полиморфизмами IL-1 α по локусам *rs1800587* (C→T) и *rs17561* (G→T) и открытоугольной глаукомой, а также группой аутоиммунных заболеваний (системный склероз, ювенильный идиопатический артрит, ревматоидный артрит, рассеянный склероз и системная красная волчанка) также не обнаружена [23, 24]. Выявление отрицательных корреляционных связей весьма полезно для поиска новых генетических мишеней изучаемых заболеваний. В то же время такие результаты могут служить мотивом для повторного изучения исследуемых групп с изменёнными параметрами, материалами и методами.

IL-1 β в настоящее время является более активно изучаемым членом семейства IL-1 по сравнению с IL-1 α , что, по нашему мнению, может быть связано с высокой значимостью SNP в гене для функциональной активности продуцируемого белка. I. Gogaşu и соавт. [25] показали, что наличие аллеля C в локусе *rs1143627* (-31T→C), расположенном в промоторной области кодирующего IL-1 β гена, ассоциировано с более высокой вероятностью развития инсульта. S. Okada и соавт. [26] определили генотип TT в качестве фактора риска возникновения резервуарного илеита (паучита) при неспецифическом язвенном колите и вероятности его прогрессирования. T. Rech и соавт. [3] при изучении влияния полиморфизма локуса *rs1143627* (-31T→C) пришли к выводу, что данный генотип ассоциирован с хроническим гастритом, обусловленным воздействием *H. pylori*, а также высказали предположение, что у лиц с генотипом TT экспрессия провоспалительно IL-1 β существенно выше.

Полиморфные варианты локуса *rs16944* (-511C→T) находятся в неравновесии по сцеплению с аллельными вариантами локуса *rs1143627* (-31T→C). Наиболее неблагоприятным сочетанием является гаплотип C/T (-31/-511). К такому выводу пришли M. Oliveira и соавт. [23] при изучении ассоциации полиморфизмов с открытоугольной глаукомой. N. Landvik и соавт. [27] удалось установить группу сцепления 4 полиморфизмов IL-1 β : -3893G, -1464G, -511C и -31T, которая является фактором

риска развития немелкоклеточного рака лёгкого, обусловленного свойством данного сочетания нуклеотидов активировать усиленную трансляцию молекул провоспалительного IL-1 β .

IL-1RA, кодируемый геном *IL-1RN*, является мономерным гликозилированным белком и обладает равной аффинностью по отношению к рецепторам IL-1R1 и IL-1 β , не вызывая последующего проведения сигнала, что приводит к антиинфламаторному эффекту [28]. Данный белок экспрессируется во многих тканях организма: кишечнике, лёгких, лимфатических узлах, печени, коже и др. Значительное повышение продукции IL-1RA может свидетельствовать о благоприятном прогнозе при острых состояниях, и, наоборот, при сниженном уровне превалирует провоспалительный профиль, что, в свою очередь, является предиктором развития хронического процесса.

Противовоспалительное действие IL-1RA успешно используется в медицинской практике. При лечении таких тяжёлых заболеваний, как ревматоидный артрит, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет, метаболический синдром и др., успешно применяют препарат анакинра, созданный на основе модифицированной структуры белка IL-1Ra [29, 30]. В случае появления мутации в нуклеотидной последовательности, кодирующей IL-1RA, например делеции или инсерции нуклеотидов, высока вероятность синтеза нефункционального белка, что может привести к развитию синдрома дефицита антагониста рецептора интерлейкина (deficiency of IL-1 receptor antagonist, DIRA), характеризующегося тяжёлыми поражениями кожи и костной системы [31].

Ген *IL-1RN* имеет 5 аллельных вариантов в зависимости от числа включенных в него tandemных повторов (*VNTR*). Эти аллели состоят из 86 пар нуклеотидов и находятся в интроне 2. Аллель 2 (*IL1RN*2*), имеет, соответственно, 2 tandemных повтора, ассоциирована с повышенным риском возникновения атеросклероза сонных артерий [32] и ишемической болезни сердца [33]. Гаплотип *IL1RN*2* также связан с мужским бесплодием [34], а генотип *IL1RN*1/*1 A*. Tripathy и соавт. ассоциировали с повышенным риском заражения вирусом Чикунгунья [35].

E. Ismail и соавт. показали, что SNP *IL-1RN rs419598* (-2018T \rightarrow C), генотип *CT* возможно использовать в качестве предиктора более агрессивного течения ревматоидного артрита [36]. J. Lin и соавт. не выявили связи локусов *IL-1RN rs6743376* и *rs1542176* с риском развития инфаркта миокарда [37]. L. Ibáñez и соавт. обнаружили протективные свойства аллеля *T rs380092* (C \rightarrow T), минимизирующие вероятность деструкции слоёв интима и медиа сосудов, предшествующей развитию атеросклероза [38]. M. Attur и соавт. показали, что *CTA*-гаплотип локусов *rs419598/rs315952/rs9005* ассоциирован со

сниженным риском возникновения остеоартрита коленного сустава [39].

Восприимчивость к возбудителям и степень выраженности инфекционного процесса являются индивидуальными характеристиками каждого человека. По данным ВОЗ, у 30% лиц, инфицированных вирусом гепатита С (ВГС), регистрируют спонтанный клиренс в течение первых 6 мес после заражения, без терапевтического вмешательства, а среди оставшихся 70% пациентов в 15–30% случаев развивается фиброз с переходом в цирроз печени (ЦП) [40]. Одним из ведущих факторов, определяющих индивидуальные особенности течения инфекционных процессов, в том числе вирусных гепатитов, является вариабельность генома человека. Определение генетических маркёров имеет значение для прогнозирования течения заболевания, индивидуальной восприимчивости пациента к той или иной схеме лечения, а также компьютерного моделирования эпидемического процесса с разработкой краткосрочных и среднесрочных сценариев его развития. Важным направлением поиска SNP, определяющих интенсивность инфекционного процесса при вирусных гепатитах, являются сигнальные пути передачи, обуславливающие реализацию иммунного ответа. В настоящее время внимание специалистов сосредоточено на роли SNP в генах *HLA-DPB1*, *HLA-DPA1*, *DQB1*, *DQB2* и *DQA2*, входящих в состав главного комплекса гистосовместимости II класса, который, в свою очередь, отвечает за презентацию антигенов клеткам CD4⁺.

Согласно данным ВОЗ вирусные гепатиты В и С являются заболеваниями, наносящими тяжёлый ущерб здоровью населения многих стран мира. Ежегодно в мире от этих болезней, а также связанных с ними осложнений умирает более 900 тыс. человек, а 325 млн инфицированы вирусом гепатита В и/или С. С учётом особой актуальности этой проблемы в мировом масштабе в 2016 г. ВОЗ была принята Глобальная стратегия здравоохранения по вирусному гепатиту на 2016–2021 гг. «На пути к ликвидации вирусного гепатита». Напряжённая ситуация по вирусным гепатитам в мире обуславливает проведение научных исследований по всему спектру проблемы, включая поиск связей между SNP и гепатитами В и С. Наибольший интерес специалистов заключён в поиске закономерностей и факторов риска формирования ЦП и первичного рака печени (ПРП), которые являются наиболее тяжёлыми осложнениями при хроническом гепатите В (ХГВ) и ХГС (табл. 2).

Исследователями разных стран обнаружены несколько полиморфизмов, ассоциированных с ЦП и ПРП. Наибольшее число работ выполнены в Китае, что обусловлено высокой эндемичностью этого региона в отношении гепатита В. В исследованиях D.K. Jiang и соавт. доказана ассоциация полиморфизма гена *HLA-DQB1* (Gene ID: 3119)

Таблица 2. Ассоциации SNP с развитием ЦП и ПРП у пациентов с ХГВ и ХГС

Table 2. SNP associations with the development of liver cirrhosis (LC) and hepatocellular carcinoma (HCC) in patients with chronic hepatitis B (CHB) and C (CHC)

Ген Gene ID NSBI	Полиморфизм Polymorphism	Регион исследования, источник Region of study, source	Исследуемые группы Study groups	<i>n</i>	Выявленные связи SNP и вирусных гепатитов Identification of association between SNPs and viral hepatitis	Эффект Effect
<i>HLA-DQB1</i> ID: 3119	<i>rs9275319 (A→G)</i>	Китай China [63]	Пациенты с ХГВ и ЦП CHB and cirrhosis-patients	702	$P = 1,30 \times 10^{-2}$; OR = 1,32; 95% CI 1,06–1,64	А-аллель — риск развития ЦП A-allele – risk of LC
			Здоровое население Healthy population	2601		
			Пациенты с ХГВ и ПРП with CHB and HCC	1161		
Здоровое население Healthy population	1353					
<i>IL-6</i> ID: 3569	<i>rs1474347 (C→A,G)</i>	Египет Egypt [42]	Пациенты с ХГС и ЦП Patients with CHC and LC	22	OR = 5,7; 95% CI 1,05–31,07; $p < 0,05$	АС-аллель ассоциирован с повышенным риском развития ЦП и ПРП AC allele is associated with high risk of LC and HCC
			Пациенты с ХГС и ПРП Patients with HCV and HCC	54		
			Группа сравнения Comparison group	48		
<i>IL-10</i> ID: 3586	<i>rs1800896 (G→A)</i>	Китай China [43]	Пациенты с ЦП при ХГС Patients with LC in CHC	241	OR = 2,01; 95% CI 1,10–3,65; $p < 0,05$	Генотип AA — риск-фактор развития ЦП и ПРП AA genotype is a risk factor for LC and HCC
			Группа сравнения Comparison group	254		
			<i>rs1800896 (-1082G→A)/ rs1800871 (-819T→C)/ rs1800872 (-592C/A)/ rs1800893 (-1353C/T) 1082G/819C/ 592C/1353T</i>	Польша Poland [44]		
Группа сравнения Comparison group	100					
<i>STAT4</i> ID: 6775	<i>rs7574865 (T→A,G)</i>	Китай China [45]	Пациенты с ХГВ Patients with CHB	5902	OR = 1,18; 95% CI 1,07–1,31; $p = 0,001$	G-аллель — фактор риска возникновения ПРП G-allele — risk factor for HCC
			Группа сравнения Comparison group	7867		

Окончание табл. 2.

End of Table 2.

Ген Gene ID NSBI	Полиморфизм Polymorphism	Регион исследования, источник Region of study, source	Исследуемые группы Study groups	<i>n</i>	Выявленные связи SNP и вирусных гепатитов Identified SNP and viral hepatitis associations	Эффект Effect
<i>MERTK</i> ID: 10461	<i>rs4374383</i> (A→G)	Испания Spain [46, 47]	Пациенты с ХГС Patients with CHC	208	OR = 2,18; <i>p</i> = 0,070	G-аллель ассоциирован с более высоким риском фиброза печени при ХГС по сравнению с А-аллелем G allele is associated with higher risk of liver fibrosis in CHC patients as compared to A allele
<i>TLR4</i> ¹ ID: 7099	<i>rs2148356</i> (A→T)	Испания Spain [48]	Пациенты ХГС и ПРП Patients with CHC and HCC	155	OR = 0,942; 95% CI 0,366–2,426	T-аллель ассоциирован с пониженным риском раз- вития ПРП и замедленным прогрессированием ХГС T allele is associated with low risk of HCC and slow progression of CHC
			Пациенты с ХГС Patients with CHC	153		
			Группа сравнения Comparison group	390		

Примечание. 95% CI — 95% доверительный интервал; OR — отношение шансов.

¹В ряде исследований для SNP *TLR4* в локусах *rs4986790* и *rs4986791* не выявлено ассоциации с каким-либо из параметров при ХГВ и ХГС или получены результаты, отличные от указанного в табл. 2. Так, S. Katrinli и соавт. [59] не установили взаимосвязи полиморфизма *rs4986790* и ХГВ, S. Pires-Neto Ode и соавт. [60] указали на отсутствие корреляции между *rs4986790/rs4986791* и ХГВ/ХГС. I. Sghaier и соавт. [56] определили G-аллель локуса *rs4986790* как риск-фактор хронизации при инфицировании вирусами гепатита В и С.

Note. 95% CI — 95% confidence interval; OR — odds ratio.

¹A number of studies addressing *TLR4* *rs4986790* and *rs4986791* SNPs did not find any association with any parameter for CHB and CHC or obtained results different from those shown in Table 2. Katrinli *et al.* [59] found no association between the *rs4986790* polymorphism and CHB; Pires-Neto Ode *et al.* [60] claimed the absence of any correlation of *rs4986790* and *rs4986791* with CHB and CHC. Sghaier *et al.* [56] identified the G allele at locus *rs4986790* as a risk factor for chronic infection with hepatitis B and C viruses.

rs9275319 (A→G) с ЦП и ПРП [41, 63]. L.N. Cao и соавт. определили, что у пациентов с ХГВ генотип *AA rs1800896* (G→A) *IL-10* (Gene ID: 3586) может рассматриваться как риск-фактор формирования ЦП и ПРП по сравнению с аллелем *GG* [43]. В исследованиях, выполненных на когортах пациентов с ХГВ и ХГС в европейских странах, также выявлены ассоциации некоторых SNP и более высокого показателя риска развития ЦП и ПРП. Так, польские исследователи обнаружили повышенный риск возникновения ЦП у пациентов с ХГВ при гаплотипе *GCCT 1082G/819C/592C/1353T* гена *IL10* (Gene ID 3586) [44]. M.Á. Jiménez-Sousa и соавт. и M. Cavalli и соавт. выявили связь *rs4374383* (A→G) *MERTK* (Gene ID 10461) с повышенным риском формирования ЦП у пациентов с ХГС в Испании [46, 47].

Помимо ассоциаций с ЦП и ПРП в последние годы выявлены связи SNP с другими характеристиками, присущими инфекциям, вызванным вирусами гепатитов В и С (табл. 3).

Метаанализ эпидемиологических исследований по выявлению связей SNP *IL-28B* (*IFNL3*; Gene ID: 282617) с гепатитами В и С, выполненный

M.A. Jiménez-Sousa и соавт. [52], показал наличие ассоциации генотипа *CC* с более высокой частотой спонтанного выздоровления при заражении ВГС для лиц как монголоидной, так и европеоидной рас. Большой интерес представляют данные о связи сочетания генотипов *TT/TT* (*IFNL4*; Gene ID: 101180976) и *CC* (*IFNL3*; Gene ID: 282617) [53] со спонтанным клиренсом. Китайские исследователи выявили связь *rs4986790* (A→G,T) гена *HLA-DPB1* (Gene ID: 3115) с элиминацией HBsAg у пациентов с ХГВ [57]. Связь T-аллеля *rs4986790* (A→G,T) гена *HLA-DPB1* (Gene ID: 3115) с повышенным риском хронизации при заражении ВГС выявили при обследовании когорты пациентов в Тунисе [56]. H. Shi и соавт. установили более высокий риск хронизации при остром вирусном гепатите В для носителей C-аллеля *rs1053004* *STAT3* (Gene ID: 6774) [45]. В Индии G. Маурга и соавт. показали, что генотип *TC rs1800871* (-819 T→C) гена *IL10* (Gene ID: 3586) связан с более высокой вероятностью развития фульминантного вирусного гепатита Е на фоне ХГС [51]. Египетские исследователи продемонстрировали ассоциацию генотипа *GG rs1800896* гена *IL10*

Таблица 3. SNP, связанные с достижением устойчивого вирусологического ответа, спонтанного клиренса и высоким риском хронизации у пациентов с ХГВ и ХГС

Table 3. Simple nucleotide polymorphisms associated with achieving a sustained virological response, spontaneous clearance, and high risk of chronicity in patients with HBV and HCV infections

Ген Gene ID NSBI	Полиморфизм Polymorphism	Регион исследования, источник Region of study, source	Исследуемые группы Study groups	<i>n</i>	Выявленные связи SNP и ви- русных гепатитов Identified SNP and viral hepatitis associations	Эффект Effect	
<i>HLA-DQB2 C→T</i> ID: 3120	<i>rs7756516</i> (C→T)	Китай China [49]	Пациенты с ХГВ Patients with CHB	321	OR = 0,46; 95% CI 0,23–0,91; <i>p</i> = 0,0262	Гаплотип <i>TT</i> ассоциирован с неустойчивым терапевтиче- ским эффектом лечения ХГВ <i>TT</i> haplotype is associated with non-sustained therapeutic response in patients with CHB	
<i>HLA-DQA2 G/T</i> ID: 3118	<i>rs9276370</i> (G→A,T)		Группа сравнения Comparison group	304			
<i>IL-10</i> ID: 3586	<i>rs1800896</i> (T→C)	Египет Egypt [50]	Пациенты с ЦП при ХГС Patients with LC in CHC	50	OR = 4,0; 95% CI 1,86–8,8; <i>p</i> < 0,05	Генотип <i>GG</i> ассоциирован с большей восприимчивостью к ВГС <i>GG</i> genotype is associated with higher susceptibility to HCV	
			Группа сравнения Comparison group	50			
	<i>rs1800871</i> (-819T→C)	Индия India [51]	Пациенты с острой печёночной энце- фалопатией при остром вирусном гепатите E в сочета- нии с ХГВ Patients with acute hepatic encephalopathy in acute viral hepatitis E combined with CHB	40	OR = 2,4; 95% CI 0,9–6,2; <i>p</i> < 0,05	Генотип <i>TC</i> — риск-фактор возникновения острой печеночной недостаточности <i>TC</i> genotype is a risk factor for acute liver failure	
<i>IL-28B</i> (<i>IFNL3</i>) ID: 282617	<i>rs12979860</i> (C→T)	Метаанализ Metaanalysis [52]	Пациенты монголоидной расы Mongoloid patients	1880	OR = 1,31; 95% CI 0,79–2,15	Генотип <i>CC</i> указывает на более высокую вероятность спонтанного клиренса <i>CC</i> genotype implies higher probability of spontaneous clearance	
			Пациенты европеодной расы Caucasian patients	8828			OR = 3,78; 95% CI 2,60–5,50
			Пациенты с ХГС (генотип <i>CC</i>) CHC patients (genotype <i>CC</i>)	48			OR = 2,38; 95% CI 1,1–5,11; <i>p</i> = 0,025
			Пациенты с ХГС (иной генотип) Patients with CHC (other genotype)	76			
	<i>rs4803217</i> (C/A)	Польша Poland [54]	Пациенты с ХГС Patients with CHC	96	OR = 4,979; 95% CI 1,344–18,444; <i>p</i> = 0,016	<i>A</i> -аллель — ассоциация с устой- чивым вирусологическим отве- том на терапию ХГС (1 генотип) пегилированным интерфероном и рибавирином <i>A</i> allele is associated with sustained virological response to CHC (HCV genotype 1) treatment with pegylated interferon and ribavirin	
<i>STAT3</i> ID: 6774	<i>rs1053004</i> (C→T)	Китай China [45]	Пациенты с ХГВ Patients with CHB	5242	OR = 1,17; 95% CI 1,07–1,29; <i>p</i> = 0,0007	<i>C</i> -аллель указывает на более высокий риск хронизации при остром гепатите В <i>C</i> allele suggests higher risk of chronicity following acute hepatitis B	
			Группа сравнения Comparison group	2717			

Окончание табл. 3.

End of Table 3.

Ген Gene ID NSBI	Полиморфизм Polymorphysm	Регион исследования, источник Region of study, source	Исследуемые группы Study groups	<i>n</i>	Выявленные связи SNP и ви- русных гепатитов Identified SNP and viral hepatitis associations	Эффект Effect	
<i>HLA-DPB1</i> ID: 3115	<i>rs9277378</i> (A→C,G,T)	Таиланд Thailand [55]	Пациенты с ХГВ Patients with CHB	219	OR = 0,47; 95% CI 0,31–0,72; <i>p</i> = 0,001	А-аллель указывает на меньший риск хронизации при остром вирусном гепатите В A allele suggests lower risk of chronicity following acute hepatitis B	
			Группа сравнения Comparison group	123			
	<i>rs4986790</i> ¹ (A→G,T)	Тунис Tunisia [56]	Пациенты с ХГС Patients with CHC	174	<i>p</i> = 0,031		Т-аллель — риск-фактор хронизации при остром гепатите С T allele is a risk factor for chronic infection in patients with acute hepatitis C
			Группа сравнения Comparison group	360			
<i>rs4986791</i> ¹ (C→T)	Саудовская Аравия Saudi Arabia [58]	Китай China [57]	Пациенты с ХГВ Patients with CHB	278	OR = 3,29; 95% CI 0,85–5,73; <i>p</i> = 0,008	G-аллель ассоциирован со спонтанным HBsAg-сероклиренсом G allele is associated with spontaneous HBsAg seroclearance	
			Пациенты с ХГС Patients with HCV	450			<i>rs4986791</i> : OR = 0,298; 95% CI 0,201–0,443; <i>p</i> < 0,0001 <i>rs4986790</i> : OR = 0,404; 95% CI 0,281–0,581; <i>p</i> < 0,0001
	Группа сравнения Comparison group	600		Т-аллель <i>rs4986791</i> в сочетании с G-аллелем <i>rs4986790</i> имеют протективный эффект в отношении HCV T allele of <i>rs4986791</i> combined with the G-allele of <i>rs4986790</i> have a protective effect against HCV			
<i>IFNL4</i> ID: 101180976	<i>rs368234815</i> (G→TT,T,C)	Россия Russia [53]	Пациенты с ХГС (генотип TT) Patients with HCV (genotype TT)	48	OR = 2,38; 95% CI 1,1–5,11; <i>p</i> = 0,025	TT/TT в сочетании с CC-генотипом <i>rs12979860</i> ассоциирован с более высокой вероятностью спонтанного клиренса при ВГС TT/TT in combination with the CC genotype of <i>rs12979860</i> is associated with high probability of spontaneous HCV clearance	
			Пациенты с ХГС (иной генотип) Patients with HCV (other genotype)	76			

(Gene ID: 3586) с повышенной восприимчивостью к заражению ВГС [50].

Белки STAT3 и STAT4, кодируемые соответствующими генами, являются медиаторами экспрессии ряда генов, отвечающих за иммунный ответ, а также участвуют в активации процессов клеточного роста и апоптоза. *IFNL3*, как и *IFNL4*, обладает противовирусной и противоопухолевой активностью и действует в качестве лиганда для гетеродимерного цитокинового рецептора класса II. Последний состоит из *IL-10RB* и *IFNLR1* и является активатором JAK/STAT-пути передачи сигнала для осуществления противовирусного эффекта. Ген *MERTK* кодирует белок MER (MER proto-oncogene tyrosine kinase), который является частью TAM RTK (Tyro3, Axl, Mer receptor tyrosine kinase) — семейства рецепторных киназ — и представляет собой

трансмембранный белок с 2 доменами фибронектина III типа, 1 доменом тирозинкиназы и 2 иммуноглобулин-подобными доменами. MER ингибирует сигнальные пути, запускаемые цитокинами и лигандами TLR, через супрессор сигнального белка цитокинов, а также участвует в обеспечении клиренса клеток, подвергнутых апоптозу [61]. TLR4 является сигнальным белком, направляющим сигнал в случае развития гепатитов В и С в клетки Купфера, в результате чего происходит активация синтеза цитокинов воспаления, таких как TNF-α, IL-1β, -6, -12, -18, а также противовоспалительных IL-10, -4, TGFβ и др. IL-6 является индуктором выработки белков острой фазы воспаления; при гепатитах В и С участвует в усилении митоза клеток печени. Активация синтеза IL-6 происходит посредством как TLR4, так и IL-1 и TNF-α [62]. IL-10 является ин-

дуктором синтеза Th2, моноцитов, макрофагов, цитотоксических Т-лимфоцитов, тучных клеток, ингибирует активацию Th1, NK-клеток и способствует продукции коллагена клетками Купфера печени и тем самым является одним из факторов, определяющих развитие фиброза и ЦП. Функция TNF- α — индукция синтеза IFN- γ и CD8⁺.

IL-28В относится к интерферонам 3 типа (λ) с высоким противовирусным действием за счёт опосредованной через JAK/STAT-сигнальный каскад активации протеинкиназы, блокирующей репликацию ВГС.

IFN- γ обладает большим спектром иммунорегуляторных свойств: активирует макрофаги и моноциты, нейтрофилы, NK-клетки, стимулирует дифференцировку Т- и В-лимфоцитов.

Среди менее изученных полиморфизмов представляется перспективным направлением установление взаимосвязей между SNP суперсемейства IL-1 и вирусными гепатитами ввиду значимой биологической роли вышеуказанных провоспалительных цитокинов и их антагонистов. В настоящее время опубликованы результаты исследований по этой тематике. Так, S.Z.K. Estfanous и соавт. установили, что для SNP IL-1 β rs1143629 гомозиготный вариант AA достоверно чаще встречается у пациентов с ХГС, однако для IL-1 β rs1143634 корреляция отсутствовала [64]. В свою очередь для SNP IL-18, генотип GG rs1946518 выявлена связь с низкой восприимчивостью к инфицированию ВГС, а наличие аллеля T сочеталось с высоким риском заражения. A. Biswas и соавт. выявили преобладание генотипа CC IL-1 β (-511) (C/T) у пациентов с бессимптомным течением ХГС [65]. В отличие от пациентов с ЦП и контрольной группой здоровых людей, генотип 2/2 для IL-1RN чаще обнаруживали у лиц с ЦП. Сочетание же генотипов IL-1 β (-511) и IL-1RN в виде CC-1/2 характерно для бессимптомного течения ХГС, тогда как TT-2/2 — для больных ЦП.

Связь полиморфизмов и различных патологий в настоящее время изучается во многих странах. Для эпидемиологических исследований знание взаимосвязей SNP и восприимчивости человека к различным заболеваниям, тяжести их течения и исхода, эффективности медикаментозной терапии имеет огромное значение. Важной составляющей современных систем эпидемиологического надзора за инфекционными болезнями является разработка компьютерных моделей развития эпидемического процесса с максимально возможной точностью. Без определения SNP-пропорции среди здорового населения и соотношения отдельных SNP у определённых групп пациентов разработка достоверных прогнозных сценариев эволюции эпидемического процесса невозможна. Необходимость повышения эффективности противоэпидемической работы актуализирует проведение соответствующих исследований и включение

методик для определения SNP-пропорций в систему эпидемиологического надзора в качестве параметра мониторинга. С учётом значимой биологической роли провоспалительных цитокинов и их антагонистов, составляющих суперсемейство IL-1, изучение взаимосвязей SNP и вирусных гепатитов В и С представляется одной из первоочередных задач.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Mosrati M.A., Malmström A., Lysiak M., Krysztofiak A., Hallbeck M., Milos P., et al. TERT promoter mutations and polymorphisms as prognostic factors in primary glioblastoma. *Oncotarget*. 2015; 6(18): 16663–73. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4389>
2. Risch N.J. Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature*. 2000; 405(6788): 847–56. <https://doi.org/10.1038/35015718>
3. Rech T.F., Mazzoleni L.E., Mazzoleni F., Francesconi C.F.M., Sander G.B., Michita R.T., et al. Analysis of the influence of interleukin-1 β gene polymorphism on gastric inflammatory response and precancerous lesions development in patients with functional dyspepsia. *Immunol. Invest*. 2020; 49(5): 585–96. <https://doi.org/10.1080/08820139.2019.1710532>
4. Sachidanandam R., Weissman D., Schmidt S.C., Kakol J.M., Stein L.D., Marth G., et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature*. 2001; 409(6822): 928–33. <https://doi.org/10.1038/35057149>
5. Hijikata M., Ohta Y., Mishihiro S. Identification of a single nucleotide polymorphism in the MxA gene promoter (G/T at nt-88) correlated with the response of hepatitis C patients to interferon. *Intervirology*. 2000; 43(2): 124–7. <https://doi.org/10.1159/000025035>
6. Grösch S., Niederberger E., Lötsch J., Skarke C., Geisslinger G. A rapid screening method for a single nucleotide polymorphism (SNP) in the human MOR gene. *Br. J. Clin. Pharmacol*. 2001; 52(6): 711–4. <https://doi.org/10.1046/j.0306-5251.2001.01504.x>
7. International HapMap Consortium. The International HapMap Project. *Nature*. 2003; 426(6968): 789–96. <https://doi.org/10.1038/nature02168>
8. Chamberlian S, Shaw J., Rowland A., Wallis J., South S., Nakamura Y., et al. Mapping of mutation causing Friedreich's ataxia to human chromosome 9. *Nature (London)*. 1988; 334(6179): 248–50. <https://doi.org/10.1038/334248a0>
9. Fujita R., Agid Y., Trouillas P., Seck A., Tommasi-Davenas C., Driesel A.J., et al. Confirmation of linkage of Friedreich ataxia to chromosome 9 and identification of a new closely linked marker. *Genomics*. 1989; 4(1): 110–1. [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(89\)90323-6](https://doi.org/10.1016/0888-7543(89)90323-6)
10. Сташкевич Д.С., Филиппова Ю.Ю., Бурмистрова А.Л. *Актуальные вопросы иммунологии: система цитокинов, биологическое значение, генетический полиморфизм, методы определения*. Челябинск: Цитеро; 2016.
11. Dinarello C.A. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*. 2011; 117(14): 3720–32. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-07-273417>
12. Werman A., Werman-Venkert R., White R., Lee J. K., Werman B., Krelin Y., et al. The precursor form of IL-1 α is an intracrine proinflammatory activator of transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004; 101(8): 2434–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308705101>
13. Boraschi D., Italiani P., Weil S., Martin M.U. The family of the interleukin-1 receptors. *Immunol. Rev*. 2017; 281(1): 197–232. <https://doi.org/10.1111/imr.12606>

14. Madej M.P., Töpfer E., Boraschi D., Italiani P. Different regulation of interleukin-1 production and activity in monocytes and macrophages: innate memory as an endogenous mechanism of IL-1 inhibition. *Front. Pharmacol.* 2017; 8: 335. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00335>
15. Pšemeneckienė G., Petrikonis K., Rastenytė A.D. Polymorphisms of proinflammatory cytokines in relation to APOE Epsilon 4 and risk of Alzheimer's disease in the Lithuanian population. *Medicina (Kaunas)*. 2019; 55(10): 689. <https://doi.org/10.3390/medicina55100689>
16. Serretti A., Olgiati P., Politis A., Malitas P., Albani D., Dusi S., et al. Lack of association between interleukin-1 alpha rs1800587 polymorphism and Alzheimer's disease in two independent European samples. *J. Alzheimers Dis.* 2009; 16(1): 181–7. <https://doi.org/10.3233/JAD-2009-0946>
17. Yildiz S.H., Erdogan M.O., Artan S., Solak M., Yaman M., Ozbabalik B.D., et al. Association of Alzheimer's disease with APOE and IL-1 α gene polymorphisms. *Am. J. Alzheimers Dis. Other Demen.* 2015; 30(8): 756–61. <https://doi.org/10.1177/1533317512461557>
18. Asensi V., Alvarez V., Valle E., Meana A., Fierer J., Coto E., et al. IL-1 alpha (-889) promoter polymorphism is a risk factor for osteomyelitis. *Am. J. Med. Genet. A.* 2003; 119A(2): 132–6. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.20137>
19. Tsezou A., Poultsides L., Kostopoulou F., Zintzaras E., Satra M., Kitsiou-Tzeli S., et al. Influence of interleukin lalpha (IL-1alpha): IL-4, and IL-6 polymorphisms on genetic susceptibility to chronic osteomyelitis. *Clin. Vaccine Immunol.* 2008; 15(12): 1888–90. <https://doi.org/10.1128/CVI.00209-08>
20. Jiang N., Li S.Y., Ma Y.F., Hu Y.J., Lin Q.R., Yu B. Associations between interleukin gene polymorphisms and risks of developing extremity posttraumatic osteomyelitis in Chinese Han population. *Mediators Inflamm.* 2020; 2020: 3278081. <https://doi.org/10.1155/2020/3278081>
21. Korobeinikova E., Ugenskiene R., Insodaite R., Rudzianskas V., Jaselske E., Poskiene L., et al. Association of angiogenesis and inflammation-related gene functional polymorphisms with early-stage breast cancer prognosis. *Oncol. Lett.* 2020; 19(6): 3687–700. <https://doi.org/10.3892/ol.2020.11521>
22. Picos A., Vulturar R., Picos A., Chis A., Chiorean I., Picu A., et al. Interleukin-1A and interleukin-1B gene polymorphisms in gastroesophageal reflux disease. *Exp. Ther. Med.* 2020; 20(4): 3394–8. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.9030>
23. Oliveira M.B., de Vasconcellos J.P.C., Ananina G., Costa V.P., de Melo M.B. Association between *IL1A* and *IL1B* polymorphisms and primary open angle glaucoma in a Brazilian population. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 2018; 243(13): 1083–91. <https://doi.org/10.1177/1535370218809709>
24. Su H., Rei N., Zhang L., Cheng J. Meta-analyses of *IL1A* polymorphisms and the risk of several autoimmune diseases published in databases. *PLoS One.* 2018; 13(6): e0198693. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198693>
25. Gorący I., Kaczmarczyk M., Ciechanowicz A., Lewandowska K., Jakubiszyn P., Bodnar O., et al. Polymorphism of interleukin 1B may modulate the risk of ischemic stroke in polish patients. *Medicina (Kaunas)*. 2019; 55(9): 558. <https://doi.org/10.3390/medicina55090558>
26. Okada S., Hata K., Shinagawa T., Noguchi T., Tanaka T., Kawai K., et al. A polymorphism in interleukin-1 β gene is associated with the development of pouchitis in Japanese patients with ulcerative colitis. *Digestion.* 2019; 1–10. <https://doi.org/10.1159/000503283>
27. Landvik N.E., Hart K., Skaug V., Stangeland L.B., Haugen A., Zienolddiny S. A specific interleukin-1B haplotype correlates with high levels of IL1B mRNA in the lung and increased risk of non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis.* 2009; 30(7): 1186–92. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp122>
28. Srinivasan L., Harris M.C., Kilpatrick L.E. Cytokines and inflammatory response in the fetus and neonate. In: *Fetal and Neonatal Physiology*. Elsevier; 2017: 1241–54.e4. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-35214-7.00128-1>
29. Cavalli G., Dinarello C.A. Anakinra therapy for non-cancer inflammatory diseases. *Front. Pharmacol.* 2018; 9: 1157. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01157>
30. Bachove I., Chang C. Anakinra and related drugs targeting interleukin-1 in the treatment of cryopyrin-associated periodic syndromes. *Open Access Rheumatol.* 2014; (6): 15–25. <https://doi.org/10.2147/OARRR.S46017>
31. Aksentijevich I., Masters S.L., Ferguson P.J., Dancey P., Frenkel J., van Royen-Kerkhoff A., et al. An autoinflammatory disease with deficiency of the interleukin-1-receptor antagonist. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360(23): 2426–37. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0807865>
32. Worrall B.B., Azhar S., Nyquist P.A., Ackerman R.H., Hamm T.L., DeGraba T.J. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms in carotid atherosclerosis. *Stroke.* 2003; 34(3): 790–3. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000057815.79289.EC>
33. Worrall B.B., Brott T.G., Brown R.D. Jr., Brown W.M., Rich S.S., Arepalli S., et al. *IL1RN* VNTR polymorphism in ischemic stroke: analysis in 3 populations. *Stroke.* 2007; 38(4): 1189–96. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000260099.42744.b0>
34. Jaiswal D., Trivedi S., Singh R., Dada R., Singh K. Association of the *IL1RN* gene VNTR polymorphism with human male infertility. *PLoS One.* 2012; 7(12): e51899. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051899>
35. Tripathy A., Ganu M., Sonam L., Alagarasu K., Walimbe A., Thanapati S., et al. Association of *IL1RN* VNTR polymorphism with chikungunya infection: a study from Western India. *J. Med. Virol.* 2019; 91(11): 1901–8. <https://doi.org/10.1002/jmv.25546>
36. Ismail E., Nofal O.K.J., Sakthiswary R., Shaharir S.S., Sridharan R. The clinical significance of interleukin-1 receptor antagonist +2018 polymorphism in rheumatoid arthritis. *PLoS One.* 2016; 11(4): e0153752. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153752>
37. Lin J., Wang Y., Wang Y., Pan Y. Inflammatory biomarkers and risk of ischemic stroke and subtypes: A 2-sample Mendelian randomization study. *Neurol. Res.* 2020; 42(2): 118–25. <https://doi.org/10.1080/01616412.2019.1710404>
38. Ibáñez L., Velli P.S., Font R., Jaén A., Royo J., Irigoyen D., et al. HIV-infection, atherosclerosis and the inflammatory pathway: candidate gene study in a Spanish HIV-infected population. *PLoS One.* 2014; 9(11): e112279. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112279>
39. Attur M., Wang H.Y., Kraus V.B., Bukowski J.F., Aziz N., Krasnokutsky S., et al. Radiographic severity of knee osteoarthritis is conditional on interleukin 1 receptor antagonist gene variations. *Ann. Rheum. Dis.* 2010; 69(5): 856–61. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.113043>
40. ВОЗ. Гепатит С. Available at: <https://www.who.int/ru/newsroom/fact-sheets/detail/hepatitis-c>
41. Jiang D.K., Sun J., Cao G., Liu Y., Lin D., Gao Y.Z., et al. Genetic variants in *STAT4* and *HLA-DQ* genes confer risk of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Nat. Genet.* 2013; 45(1): 72–5. <https://doi.org/10.1038/ng.2483>
42. Abd El-Baky R.M., Hetta H.F., Koneru G., Ammar M., Shafik E.A., Mohareb D.A., et al. Impact of interleukin IL-6 *rs-1474347* and IL-10 *rs-1800896* genetic polymorphisms on the susceptibility of HCV-infected Egyptian patients to hepatocellular carcinoma. *Immunol. Res.* 2020; 68(3): 118–25. <https://doi.org/10.1007/s12026-020-09126-8>
43. Cao L.N., Cheng S.L., Liu W. IL10 rs1800896 polymorphism is associated with liver cirrhosis and chronic hepatitis B. *Genet. Mol. Res.* 2016; 15(1). <https://doi.org/10.4238/gmr.15017256>
44. Rybicka M., Woziwodzka A., Sznarkowska A., Romanowski T., Stalke P., Dręzewski M., et al. Genetic variation in IL-10 in-

ОБЗОРЫ

- fluences the progression of hepatitis B infection. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 96: 260–5. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.04.079>
45. Shi H., He H., Ojha S.C., Sun C., Fu J., Yan M., et al. Association of STAT3 and STAT4 polymorphisms with susceptibility to chronic hepatitis B virus infection and risk of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Biosci. Rep.* 2019; 39(6): BSR20190783. <https://doi.org/10.1042/BSR20190783>
46. Jiménez-Sousa M.Á., Gómez-Moreno A.Z., Pineda-Tenor D., Brochado-Kith O., Sánchez-Ruano J.J., Artaza-Varasa T., et al. The myeloid-epithelial-reproductive tyrosine kinase (MERTK) rs4374383 polymorphism predicts progression of liver fibrosis in hepatitis C virus-infected patients: a longitudinal study. *J. Clin. Med.* 2018; 7(12): 473. <https://doi.org/10.3390/jcm7120473>
47. Cavalli M., Pan G., Nord H., Wallén Arzt E., Wallerman O., Wadelius C. Genetic prevention of hepatitis C virus-induced liver fibrosis by allele-specific downregulation of MERTK. *Hepatol. Res.* 2017; 47(8): 826–30. <https://doi.org/10.1111/hepr.12810>
48. Agúndez J.A., García-Martín E., Devesa M.J., Carballo M., Martínez C., Lee-Brunner A., et al. Polymorphism of the *TLR4* gene reduces the risk of hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma. *Oncology.* 2012; 82(1): 35–40. <https://doi.org/10.1159/000335606>
49. Chang S.W., Fann C.S., Su W.H., Wang Y.C., Weng C.C., Yu C.J., et al. A genome-wide association study on chronic HBV infection and its clinical progression in male Han-Taiwanese. *PLoS One.* 2014; 9(6): e99724. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099724>
50. Sheneef A., Esmat M.M., Mohammad A.N., Mahmoud A.A., Moghazy H.M., Noureldin A.K. Interleukin-10 and interferon gamma gene polymorphisms and hepatitis C virus-related liver cirrhosis risk. *J. Interferon Cytokine Res.* 2017; 37(4): 175–80. <https://doi.org/10.1089/jir.2016.0106>
51. Maurya G., Hazam R.K., Ruttala R., Karna R., Das B.C., Kar P. A study of association between regulatory polymorphism in the IL-10 gene promoter region and acute viral hepatitis, and acute liver failure. *Indian J. Gastroenterol.* 2018; 37(4): 293–8. <https://doi.org/10.1007/s12664-018-0858-5>
52. Jiménez-Sousa M.A., Fernández-Rodríguez A., Guzmán-Fulgencio M., García-Álvarez M., Resino S. Meta-analysis: implications of interleukin-28B polymorphisms in spontaneous and treatment-related clearance for patients with hepatitis C. *BMC Med.* 2013; 11: 6. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-11-6>
53. Малов С.И. Сравнительная клинико-эпидемиологическая характеристика вирусного гепатита С на сопредельных территориях России и Монголии: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М.; 2017.
54. Świątek-Kościelna B., Kałużna E., Strauss E., Nowak J., Bereszyńska I., Gowin E., et al. Prevalence of *IFNL3* rs4803217 single nucleotide polymorphism and clinical course of chronic hepatitis C. *World J. Gastroenterol.* 2017; 23(21): 3815–24. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i21.3815>
55. Posuwan N., Payungporn S., Tangkijvanich P., Ogawa S., Murakami S., Iijima S., et al. Genetic association of human leukocyte antigens with chronicity or resolution of hepatitis B infection in Thai population. *PLoS One.* 2014; 9(1): e86007. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086007>
56. Sghaier I., Zidi S., Mouelhi L., Ghazoueni E., Brochot E., Almawi W.Y., et al. *TLR3* and *TLR4* SNP variants in the liver disease resulting from hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. *Br. J. Biomed. Sci.* 2019; 76(1): 35–41. <https://doi.org/10.1080/09674845.2018.1547179>
57. Wu J.F., Chen C.H., Ni Y.H., Lin Y.T., Chen H.L., Hsu H.Y., et al. Toll-like receptor and hepatitis B virus clearance in chronic infected patients: a long-term prospective cohort study in Taiwan. *J. Infect. Dis.* 2012; 206(5): 662–68. <https://doi.org/10.1093/infdis/jis420>
58. Al-Qahtani A.A., Al-Anazi M.R., Al-Zoghaibi F., Abdo A.A., Sanai F.M., Khan M.Q., et al. The association of toll-like receptor 4 polymorphism with hepatitis C virus infection in Saudi Arabian patients. *BioMed Res. Int.* 2014; 2014: 357062. <https://doi.org/10.1155/2014/357062>
59. Katrinli S., Nigdelioglu A., Ozdil K., Dinler-Doganay G., Doganay L. The association of variations in TLR genes and spontaneous immune control of hepatitis B virus. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* 2018; 42(2): 139–44. <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2017.10.002>
60. Pires-Neto Ode S., de Sá K.S., Santana B.B., Gomes S.T., Amoras Eda S., Conde S.R., et al. Lack of association between polymorphisms of the *TLR4* gene and infection with the hepatitis B and C viruses. *Mediators Inflamm.* 2015; 2015: 150673. <https://doi.org/10.1155/2015/150673>
61. Zagórska A., Través P.G., Jiménez-García L., Strickland J.D., Oh J., Tapia F.J., et al. Differential regulation of hepatic physiology and injury by the TAM receptors Axl and Mer. *Life Sci. Alliance.* 2020; 3(8): e202000694. <https://doi.org/10.26508/lsa.202000694>
62. Schmidt-Arras D., Rose-John S. IL-6 pathway in the liver: from physiopathology to therapy. *J. Hepatol.* 2016; 64(6): 14031415. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.02.004>
63. Jiang D.K., Ma X.P., Wu X., Peng L., Yin J., Dan Y., et al. Genetic variations in *STAT4*, *C2*, *HLA-DRB1* and *HLA-DQ* associated with risk of hepatitis B virus-related liver cirrhosis. *Sci. Rep.* 2015; 5: 16278. <https://doi.org/10.1038/srep16278>
64. Estfanous S.Z.K., Ali S.A., Scif S.M., Soror S.H.A., Abdelaziz D.H.A. Inflammasome genes' polymorphisms in Egyptian chronic hepatitis C patients: influence on vulnerability to infection and response to treatment. *Mediators Inflamm.* 2019; 2019: 3273645. <https://doi.org/10.1155/2019/3273645>
65. Biswas A., Panigrahi R., Pal M., De B.K., Chakrabarti S., Ghosh M.K., et al. Association of interleukin-1 β and gene polymorphisms with liver pathogenesis in hepatitis B virus infection among Eastern Indian population. *J. Clin. Exp. Hepatol.* 2013; 3(4): 281–7. <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2013.11.006>

REFERENCES

- Mosrati M.A., Malmström A., Lysiak M., Krysztofiak A., Hallbeck M., Milos P., et al. TERT promoter mutations and polymorphisms as prognostic factors in primary glioblastoma. *Oncotarget.* 2015; 6(18): 16663–73. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4389>
- Risch N.J. Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature.* 2000; 405(6788): 847–56. <https://doi.org/10.1038/35015718>
- Rech T.F., Mazzoleni L.E., Mazzoleni F., Francesconi C.F.M., Sander G.B., Michita R.T., et al. Analysis of the influence of interleukin-1 β gene polymorphism on gastric inflammatory response and precancerous lesions development in patients with functional dyspepsia. *Immunol. Invest.* 2020; 49(5): 585–96. <https://doi.org/10.1080/08820139.2019.1710532>
- Sachidanandam R., Weissman D., Schmidt S.C., Kakol J.M., Stein L.D., Marth G., et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature.* 2001; 409(6822): 928–33. <https://doi.org/10.1038/35057149>
- Hijikata M., Ohta Y., Mishiro S. Identification of a single nucleotide polymorphism in the MxA gene promoter (G/T at nt-88) correlated with the response of hepatitis C patients to interferon. *Intervirology.* 2000; 43(2): 124–7. <https://doi.org/10.1159/000025035>
- Grösch S., Niederberger E., Lötsch J., Skarke C., Geisslinger G. A rapid screening method for a single nucleotide polymorphism

- (SNP) in the human MOR gene. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2001; 52(6): 711–4. <https://doi.org/10.1046/j.0306-5251.2001.01504.x>
7. International HapMap Consortium. The International HapMap Project. *Nature.* 2003; 426(6968): 789–96. <https://doi.org/10.1038/nature02168>
 8. Chamberlian S, Shaw J., Rowland A., Wallis J., South S., Nakamura Y., et al. Mapping of mutation causing Friedreich's ataxia to human chromosome 9. *Nature (London).* 1988; 334(6179): 248–50. <https://doi.org/10.1038/334248a0>
 9. Fujita R., Agid Y., Trouillas P., Seck A., Tommasi-Davenas C., Driesel A.J., et al. Confirmation of linkage of Friedreich ataxia to chromosome 9 and identification of a new closely linked marker. *Genomics.* 1989; 4(1): 110–1. [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(89\)90323-6](https://doi.org/10.1016/0888-7543(89)90323-6)
 10. Stashkevich D.S., Filippova Yu.Yu., Burmistrova A.L. *Topical Issues of Immunology: The Cytokine System, Biological Significance, Genetic Polymorphism, Methods of Determination [Aktual'nye voprosy immunologii: sistema tsitokinov, biologicheskoe znachenie, geneticheskiy polimorfizm, metody opredeleeniya].* Chelyabinsk: Tsitsero; 2016. (in Russian)
 11. Dinarello C.A. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood.* 2011; 117(14): 3720–32. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-07-273417>
 12. Werman A., Werman-Venkert R., White R., Lee J. K., Werman B., Krelin Y., et al. The precursor form of IL-1 α is an intracrine proinflammatory activator of transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004; 101(8): 2434–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308705101>
 13. Boraschi D., Italiani P., Weil S., Martin M.U. The family of the interleukin-1 receptors. *Immunol. Rev.* 2017; 281(1): 197–232. <https://doi.org/10.1111/imr.12606>
 14. Madej M.P., Töpfer E., Boraschi D., Italiani P. Different regulation of interleukin-1 production and activity in monocytes and macrophages: innate memory as an endogenous mechanism of IL-1 inhibition. *Front. Pharmacol.* 2017; 8: 335. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00335>
 15. Pšemeneckienė G., Petrikonis K., Rastenytė A.D. Polymorphisms of proinflammatory cytokines in relation to APOE Epsilon 4 and risk of Alzheimer's disease in the Lithuanian population. *Medicina (Kaunas).* 2019; 55(10): 689. <https://doi.org/10.3390/medicina55100689>
 16. Serretti A., Olgiati P., Politis A., Malitas P., Albani D., Dusi S., et al. Lack of association between interleukin-1 alpha rs1800587 polymorphism and Alzheimer's disease in two independent European samples. *J. Alzheimers Dis.* 2009; 16(1): 181–7. <https://doi.org/10.3233/JAD-2009-0946>
 17. Yildiz S.H., Erdogan M.O., Artan S., Solak M., Yaman M., Ozbabalik B.D., et al. Association of Alzheimer's disease with APOE and IL-1 α gene polymorphisms. *Am. J. Alzheimers Dis. Other Demen.* 2015; 30(8): 756–61. <https://doi.org/10.1177/1533317512461557>
 18. Asensi V., Alvarez V., Valle E., Meana A., Fierer J., Coto E., et al. IL-1 alpha (-889) promoter polymorphism is a risk factor for osteomyelitis. *Am. J. Med. Genet. A.* 2003; 119A(2): 132–6. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.20137>
 19. Tsezou A., Poultsides L., Kostopoulou F., Zintzaras E., Satra M., Kitsiou-Tzeli S., et al. Influence of interleukin 1 α (IL-1 α): IL-4, and IL-6 polymorphisms on genetic susceptibility to chronic osteomyelitis. *Clin. Vaccine Immunol.* 2008; 15(12): 1888–90. <https://doi.org/10.1128/CVI.00209-08>
 20. Jiang N., Li S.Y., Ma Y.F., Hu Y.J., Lin Q.R., Yu B. Associations between interleukin gene polymorphisms and risks of developing extremity posttraumatic osteomyelitis in Chinese Han population. *Mediators Inflamm.* 2020; 2020: 3278081. <https://doi.org/10.1155/2020/3278081>
 21. Korobeinikova E., Ugenskiene R., Insodaitė R., Rudzianskas V., Jaselske E., Poskiene L., et al. Association of angiogenesis and inflammation-related gene functional polymorphisms with early-stage breast cancer prognosis. *Oncol. Lett.* 2020; 19(6): 3687–700. <https://doi.org/10.3892/ol.2020.11521>
 22. Picos A., Vulturar R., Picos A., Chis A., Chiorean I., Piciu A., et al. Interleukin-1A and interleukin-1B gene polymorphisms in gastroesophageal reflux disease. *Exp. Ther. Med.* 2020; 20(4): 3394–8. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.9030>
 23. Oliveira M.B., de Vasconcellos J.P.C., Ananina G., Costa V.P., de Melo M.B. Association between IL1A and IL1B polymorphisms and primary open angle glaucoma in a Brazilian population. *Exp. Biol. Med. (Maywood).* 2018; 243(13): 1083–91. <https://doi.org/10.1177/1535370218809709>
 24. Su H., Rei N., Zhang L., Cheng J. Meta-analyses of IL1A polymorphisms and the risk of several autoimmune diseases published in databases. *PLoS One.* 2018; 13(6): e0198693. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198693>
 25. Gorący I., Kaczmarczyk M., Ciechanowicz A., Lewandowska K., Jakubiszyn P., Bodnar O., et al. Polymorphism of interleukin 1B may modulate the risk of ischemic stroke in polish patients. *Medicina (Kaunas).* 2019; 55(9): 558. <https://doi.org/10.3390/medicina55090558>
 26. Okada S., Hata K., Shinagawa T., Noguchi T., Tanaka T., Kawai K., et al. A polymorphism in interleukin-1 β gene is associated with the development of pouchitis in Japanese patients with ulcerative colitis. *Digestion.* 2019; 1–10. <https://doi.org/10.1159/000503283>
 27. Landvik N.E., Hart K., Skaug V., Stangeland L.B., Haugen A., Zienolddiny S. A specific interleukin-1B haplotype correlates with high levels of IL1B mRNA in the lung and increased risk of non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis.* 2009; 30(7): 1186–92. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp122>
 28. Srinivasan L., Harris M.C., Kilpatrick L.E. Cytokines and inflammatory response in the fetus and neonate. In: *Fetal and Neonatal Physiology.* Elsevier; 2017: 1241–54.e4. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-35214-7.00128-1>
 29. Cavalli G., Dinarello C.A. Anakinra therapy for non-cancer inflammatory diseases. *Front. Pharmacol.* 2018; 9: 1157. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01157>
 30. Bachove I., Chang C. Anakinra and related drugs targeting interleukin-1 in the treatment of cryopyrin-associated periodic syndromes. *Open Access Rheumatol.* 2014; (6): 15–25. <https://doi.org/10.2147/OARRR.S46017>
 31. Aksentijevich I., Masters S.L., Ferguson P.J., Dancey P., Frenkel J., van Royen-Kerkhoff A., et al. An autoinflammatory disease with deficiency of the interleukin-1-receptor antagonist. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360(23): 2426–37. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0807865>
 32. Worrall B.B., Azhar S., Nyquist P.A., Ackerman R.H., Hamm T.L., DeGraba T.J. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms in carotid atherosclerosis. *Stroke.* 2003; 34(3): 790–3. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000057815.79289.EC>
 33. Worrall B.B., Brott T.G., Brown R.D. Jr., Brown W.M., Rich S.S., Arepalli S., et al. IL1RN VNTR polymorphism in ischemic stroke: analysis in 3 populations. *Stroke.* 2007; 38(4): 1189–96. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000260099.42744.b0>
 34. Jaiswal D., Trivedi S., Singh R., Dada R., Singh K. Association of the IL1RN gene VNTR polymorphism with human male infertility. *PLoS One.* 2012; 7(12): e51899. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051899>
 35. Tripathy A., Ganu M., Sonam L., Alagarasu K., Walimbe A., Thanapati S., et al. Association of IL1RN VNTR polymorphism with chikungunya infection: a study from Western India. *J. Med. Virol.* 2019; 91(11): 1901–8. <https://doi.org/10.1002/jmv.25546>
 36. Ismail E., Nofal O.K.J., Sakthiswary R., Shaharir S.S., Sridharan R. The clinical significance of interleukin-1 receptor anta-

ОБЗОРЫ

- gonist +2018 polymorphism in rheumatoid arthritis. *PLoS One*. 2016; 11(4): e0153752. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153752>
37. Lin J., Wang Y., Wang Y., Pan Y. Inflammatory biomarkers and risk of ischemic stroke and subtypes: A 2-sample Mendelian randomization study. *Neurol. Res.* 2020; 42(2): 118–25. <https://doi.org/10.1080/01616412.2019.1710404>
38. Ibáñez L., Velli P.S., Font R., Jaén A., Royo J., Irigoyen D., et al. HIV-infection, atherosclerosis and the inflammatory pathway: candidate gene study in a Spanish HIV-infected population. *PLoS One*. 2014; 9(11): e112279. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112279>
39. Attur M., Wang H.Y., Kraus V.B., Bukowski J.F., Aziz N., Krasnokutsky S., et al. Radiographic severity of knee osteoarthritis is conditional on interleukin 1 receptor antagonist gene variations. *Ann. Rheum. Dis.* 2010; 69(5): 856–61. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.113043>
40. WHO. Hepatitis C. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>
41. Jiang D.K., Sun J., Cao G., Liu Y., Lin D., Gao Y.Z., et al. Genetic variants in *STAT4* and *HLA-DQ* genes confer risk of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Nat. Genet.* 2013; 45(1): 72–5. <https://doi.org/10.1038/ng.2483>
42. Abd El-Baky R.M., Hetta H.F., Koneru G., Ammar M., Shafik E.A., Mohareb D.A., et al. Impact of interleukin IL-6 *rs-1474347* and IL-10 *rs-1800896* genetic polymorphisms on the susceptibility of HCV-infected Egyptian patients to hepatocellular carcinoma. *Immunol. Res.* 2020; 68(3): 118–25. <https://doi.org/10.1007/s12026-020-09126-8>
43. Cao L.N., Cheng S.L., Liu W. IL10 *rs1800896* polymorphism is associated with liver cirrhosis and chronic hepatitis B. *Genet. Mol. Res.* 2016; 15(1). <https://doi.org/10.4238/gmr.15017256>
44. Rybicka M., Woźniowska A., Sznarkowska A., Romanowski T., Stalke P., Dręzewski M., et al. Genetic variation in IL-10 influences the progression of hepatitis B infection. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 96: 260–5. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.04.079>
45. Shi H., He H., Ojha S.C., Sun C., Fu J., Yan M., et al. Association of *STAT3* and *STAT4* polymorphisms with susceptibility to chronic hepatitis B virus infection and risk of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Biosci. Rep.* 2019; 39(6): BSR20190783. <https://doi.org/10.1042/BSR20190783>
46. Jiménez-Sousa M.A., Gómez-Moreno A.Z., Pineda-Tenor D., Brochado-Kith O., Sánchez-Ruano J.J., Artaza-Varasa T., et al. The myeloid-epithelial-reproductive tyrosine kinase (MERTK) *rs4374383* polymorphism predicts progression of liver fibrosis in hepatitis C virus-infected patients: a longitudinal study. *J. Clin. Med.* 2018; 7(12): 473. <https://doi.org/10.3390/jcm7120473>
47. Cavalli M., Pan G., Nord H., Wallén Arzt E., Wallerman O., Wadelius C. Genetic prevention of hepatitis C virus-induced liver fibrosis by allele-specific downregulation of MERTK. *Hepatol. Res.* 2017; 47(8): 826–30. <https://doi.org/10.1111/hepr.12810>
48. Agúndez J.A., García-Martín E., Devesa M.J., Carballo M., Martínez C., Lee-Brunner A., et al. Polymorphism of the TLR4 gene reduces the risk of hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma. *Oncology*. 2012; 82(1): 35–40. <https://doi.org/10.1159/000335606>
49. Chang S.W., Fann C.S., Su W.H., Wang Y.C., Weng C.C., Yu C.J., et al. A genome-wide association study on chronic HBV infection and its clinical progression in male Han-Taiwanese. *PLoS One*. 2014; 9(6): e99724. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099724>
50. Sheneef A., Esmat M.M., Mohammad A.N., Mahmoud A.A., Moghazy H.M., Noureldin A.K. Interleukin-10 and interferon gamma gene polymorphisms and hepatitis C virus-related liver cirrhosis risk. *J. Interferon Cytokine Res.* 2017; 37(4): 175–80. <https://doi.org/10.1089/jir.2016.0106>
51. Maurya G., Hazam R.K., Ruttala R., Karna R., Das B.C., Kar P. A study of association between regulatory polymorphism in the IL-10 gene promoter region and acute viral hepatitis, and acute liver failure. *Indian J. Gastroenterol.* 2018; 37(4): 293–8. <https://doi.org/10.1007/s12664-018-0858-5>
52. Jiménez-Sousa M.A., Fernández-Rodríguez A., Guzmán-Fulgencio M., García-Álvarez M., Resino S. Meta-analysis: implications of interleukin-28B polymorphisms in spontaneous and treatment-related clearance for patients with hepatitis C. *BMC Med.* 2013; 11: 6. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-11-6>
53. Malov S.I. *Comparative clinical and epidemiological characteristics of viral hepatitis C in the adjacent territories of Russia and Mongolia*. Diss. Moscow; 2017. (in Russian)
54. Świątek-Kościelna B., Kałużna E., Strauss E., Nowak J., Bereszyńska I., Gowin E., et al. Prevalence of *IFNL3 rs4803217* single nucleotide polymorphism and clinical course of chronic hepatitis C. *World J. Gastroenterol.* 2017; 23(21): 3815–24. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i21.3815>
55. Posuwan N., Payungporn S., Tangkijvanich P., Ogawa S., Murakami S., Iijima S., et al. Genetic association of human leukocyte antigens with chronicity or resolution of hepatitis B infection in Thai population. *PLoS One*. 2014; 9(1): e86007. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086007>
56. Sghaier I., Zidi S., Mouelhi L., Ghazoueni E., Brochet E., Al-mawi W.Y., et al. *TLR3* and *TLR4* SNP variants in the liver disease resulting from hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. *Br. J. Biomed. Sci.* 2019; 76(1): 35–41. <https://doi.org/10.1080/09674845.2018.1547179>
57. Wu J.F., Chen C.H., Ni Y.H., Lin Y.T., Chen H.L., Hsu H.Y., et al. Toll-like receptor and hepatitis B virus clearance in chronic infected patients: a long-term prospective cohort study in Taiwan. *J. Infect. Dis.* 2012; 206(5): 662–68. <https://doi.org/10.1093/infdis/jis420>
58. Al-Qahtani A.A., Al-Anazi M.R., Al-Zoghaibi F., Abdo A.A., Sanai F.M., Khan M.Q., et al. The association of toll-like receptor 4 polymorphism with hepatitis C virus infection in Saudi Arabian patients. *BioMed Res. Int.* 2014; 2014: 357062. <https://doi.org/10.1155/2014/357062>
59. Katrinli S., Nigdelioglu A., Ozdil K., Dinler-Doganay G., Doganay L. The association of variations in *TLR* genes and spontaneous immune control of hepatitis B virus. *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* 2018; 42(2): 139–44. <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2017.10.002>
60. Pires-Neto Ode S., de Sá K.S., Santana B.B., Gomes S.T., Amoras Eda S., Conde S.R., et al. Lack of association between polymorphisms of the TLR4 gene and infection with the hepatitis B and C viruses. *Mediators Inflamm.* 2015; 2015: 150673. <https://doi.org/10.1155/2015/150673>
61. Zagórska A., Través P.G., Jiménez-García L., Strickland J.D., Oh J., Tapia F.J., et al. Differential regulation of hepatic physiology and injury by the TAM receptors Axl and Mer. *Life Sci. Alliance*. 2020; 3(8): e202000694. <https://doi.org/10.26508/lsa.202000694>
62. Schmidt-Arras D., Rose-John S. IL-6 pathway in the liver: From physiopathology to therapy. *J. Hepatol.* 2016; 64(6): 14031415. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.02.004>
63. Jiang D.K., Ma X.P., Wu X., Peng L., Yin J., Dan Y., et al. Genetic variations in *STAT4*, *C2*, *HLA-DRB1* and *HLA-DQ* associated with risk of hepatitis B virus-related liver cirrhosis. *Sci. Rep.* 2015; 5: 16278. <https://doi.org/10.1038/srep16278>
64. Estfanous S.Z.K., Ali S.A., Seif S.M., Soror S.H.A., Abdelaziz D.H.A. Inflammasome genes' polymorphisms in Egyptian chronic hepatitis C patients: influence on vulnerability to infection and response to treatment. *Mediators Inflamm.* 2019; 2019: 3273645. <https://doi.org/10.1155/2019/3273645>

65. Biswas A., Panigrahi R., Pal M., De B.K., Chakrabarti S., Ghosh M.K., et al. Association of interleukin-1 β and gene poly-

morphisms with liver pathogenesis in hepatitis B virus Infection among Eastern Indian population. *J. Clin. Exp. Hepatol.* 2013; 3(4): 281–7. <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2013.11.006>

Информация об авторах

Власенко Наталья Викторовна[✉] — лаборант-исследователь лаб. вирусных гепатитов отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ эпидемиологии, Москва, Россия, vlasenko@cmd.su, <https://orcid.org/0000-0002-2388-1483>

Чурилова Надежда Сергеевна — лаборант-исследователь лаб. вирусных гепатитов отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5344-5829>

Панасюк Ярина Васильевна — врач-эпидемиолог лаб. вирусных гепатитов отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-9335-4953>

Клушкина Виталина Владимировна — к.м.н., врач-эпидемиолог лаб. вирусных гепатитов отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8311-8204>

Дубоделов Дмитрий Васильевич — к.м.н., с.н.с. лаб. вирусных гепатитов отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ЦНИИ эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3093-5731>

Кудрявцева Елена Николаевна — д.б.н., консультант организационно-методического отдела ЦНИИ эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7325-8577>

Семененко Татьяна Анатольевна — д.м.н., проф., рук. отдела эпидемиологии НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6686-9011>

Кузин Станислав Николаевич — д.м.н., проф., зав. лаб. вирусных гепатитов ЦНИИ эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0616-9777>

Акимкин Василий Геннадиевич — д.м.н., академик РАН, директор ЦНИИ эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 28.01.2021;
принята к публикации 22.02.2021;
опубликована 20.04.2021

Information about the authors

Natalia V. Vlasenko[✉] — laboratory researcher, Laboratory of viral hepatitis, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, vlasenko@cmd.su, <https://orcid.org/0000-0002-2388-1483>

Nadezhda S. Churilova — laboratory researcher, Laboratory of viral hepatitis, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5344-5829>

Yarina V. Panasyuk — epidemiologist, Laboratory of viral hepatitis, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-9335-4953>

Vitalina V. Klushkina — epidemiologist, Laboratory of viral hepatitis, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8311-8204>

Dmitry V. Dubodelov — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Laboratory of viral hepatitis, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3093-5731>

Elena N. Kudryavtseva — D. Sci. (Biol.), consultant, Organizational and methodological department, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7325-8577>

Tatiana A. Semenenko — D. Sci. (Med.), Prof., Head, Department of epidemiology, N.F. Gamaleya National Research Centre for Epidemiology and Microbiology, <https://orcid.org/0000-0002-6686-9011>

Stanislav N. Kuzin — D. Sci. (Med.), Prof., Head, Laboratory of viral hepatitis, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0616-9777>

Vasily G. Akimkin — D. Sci. (Med.), Full Member of the Russian Academy of Sciences, Director, Central Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 28.01.2021;
accepted for publication 22.02.2021;
published 20.04.2021



Фавипиравир: скрытая опасность мутагенного действия

Жирнов О.П.^{1,2✉}, Чернышова А.И.^{2,3}

¹Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия;

²Русско-немецкая академия медико-социальных и биотехнологических наук, Москва, Россия;

³Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Аннотация

Антивирусный химиопрепарат фавипиравир (ФП) имеет свойства функционального конкурента гуанозина и аденозина, в инфицированных клетках претерпевает химическую трансформацию ферментами клетки в нуклеотидную форму — ФП-рибозилтрифосфат, который способен связываться с вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразой и встраиваться в цепочку вирусной РНК, вызывая заметное мутагенное действие посредством транзаций в геноме РНК-содержащих вирусов, преимущественно G→A и C→U. Усиление синтеза мутантных форм вирионов под действием ФП, помимо вирусингибирующего эффекта, несет угрозу появления новых опасных вирусных штаммов с повышенной патогенностью для человека и животных и приобретённой устойчивостью к химиопрепарату. Для минимизации мутагенного эффекта ФП возможны синтез новых модификаций ФП, лишенных способности встраиваться в молекулу синтезированной РНК; комбинированное применение ФП с противовирусными химиопрепаратами иного механизма действия и направленными на различные вирусные и/или клеточные мишени; курсовое применение при строгом врачебном контроле высоких терапевтических доз ФП для усиления летального мутагенного эффекта на инфекционный вирус в организме-реципиенте для предотвращения размножения его мутантных форм.

Ключевые слова: коронавирусы, фавипиравир, химиотерапевтические мишени, химиопрепараты, мутагенез

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 21-65-0006).

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

Для цитирования: Жирнов О.П., Чернышова А.И. Фавипиравир: скрытая опасность мутагенного действия. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98(2): 213–220.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-114>

Favipiravir: the hidden threat of mutagenic action

Oleg P. Zhirnov^{1,2✉}, Alyona I. Chernyshova^{2,3}

¹The Russian-German Academy of Medico-Social and Biotechnological Sciences, Moscow, Russian;

²The D.I. Ivanovsky Institute of Virology, The N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

³The I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Abstract

The antiviral drug favipiravir (FVP), which is a structural analogue of guanosine, undergoes chemical transformation in infected cells by cellular enzymes into a nucleotide form — favipiravir ribose triphosphate (FVP-RTP). FVP-RTP is able to bind to viral RNA-dependent RNA polymerase and integrate into the viral RNA chain, causing a significant mutagenic effect through G→A and C→U transitions in the viral RNA genome. Besides the virus inhibiting effect, the increased synthesis of mutant virions under the action of FPV possess a threat of

the emergence of novel threatening viral strains with high pathogenicity for humans and animals and acquired resistance to chemotherapeutic compound. There are three ways to minimize this mutagenic effect of FP. (1) Synthesis of new FPV modifications lacking the ability to integrate into the synthesized viral RNA molecule. (2) The combined use of FPV with antiviral chemotherapeutic drugs of a different mechanism of action directed at various viral and/or host cell targets. (3) Permanent application of high therapeutic doses of FPV under the strict medical control to enhance the lethal mutagenic effect on an infectious virus in the recipient organism to prevent the multiplication of its mutant forms.

Keywords: coronaviruses, favipiravir, chemotherapeutic targets, antivirals, mutagenesis

Funding source. This work was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (Grant No. 21-65-0006).

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Zhirnov O.P., Chernyshova A.I. Favipiravir: the hidden threat of mutagenic action. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, épidemiologii i immunobiologii*. 2021; 98(2): 213–220. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-114>

Введение

Хорошо известно, что вирусы являются облигатными паразитами, полностью зависимыми от организма-хозяина. Это свойство вирусов существенно затрудняет создание и поиск лекарственных средств, которые способны специфически ингибировать вирус, но при этом не оказывать вредного воздействия на биохимические процессы макроорганизма-хозяина. Данное обстоятельство является главной причиной ограниченности арсенала активных противовирусных препаратов. Пандемия COVID-19 еще раз обнажила данную медицинскую проблему, поскольку на сегодня в медицинской практике практически отсутствуют специфические лекарства против данного коронавируса.

На текущий момент можно выделить 6 главных направлений разработки лекарств в отношении коронавируса:

- 1) ингибиторы вирусной полимеразы;
- 2) ингибиторы вирусной протеазы Mpro, участвующей в формировании активной полимеразы вируса;
- 3) ингибиторы клеточных протеаз, участвующих в активации вирусного белка S, регулирующего вход вируса в клетку-мишень;
- 4) ингибиторы депротенизации вируса в клеточных эндосомах;
- 5) препараты, полученные на основе рекомбинантных интерферонов- $\alpha 2$ и - $\beta 1$;
- 6) препараты, созданные на основе противовирусных антител [1, 2].

В каждом из перечисленных направлений ведутся интенсивные исследования по поиску и созданию эффективных лекарств противовирусного действия.

В последний год в связи с поиском и созданием химиопрепаратов против COVID-19 пристальное внимание обращено на лекарства из первой группы — ингибиторы вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразы (RNA dependent RNA polymerase — RdRp). В частности, надежды возлагают на вещество, получившее название фавипира-

вир (ФП) — 6-фтор-3-гидрокси-пиразинкарбоксамид [3, 4]. Данное вещество было синтезировано и запатентовано японскими учеными Y. Furuta и H. Egawa в конце 1990-х гг. [5]. Последующие исследования показали, что данное соединение обладает высокой активностью в отношении большой группы вирусов, включая РНК-содержащие вирусы, такие как вирусы гриппа, бунья-, арена-, флави-, пикоранавирусы и др. Серьезным недостатком ФП является его выраженная побочная токсичность для реципиентного макроорганизма, которая обусловлена тератогенными и эмбриотоксическими свойствами препарата [6, 7]. По этой причине в мировой практике ФП разрешён к ограниченному применению при строгом врачебном контроле при угрожающем течении гриппа или COVID-19.

По структуре ФП имеет заметное сходство с нуклеозидами и функционально конкурирует с гуанозином и аденозином (**рис. 1**), обладая способностью связываться с вирусными РНК-полимеразами и ингибировать их функцию [8]. Поскольку РНК-полимеразы многих вирусов имеют консервативную структуру и сходный механизм катализа [9, 10], ФП, нарушая специфическую функцию RdRp, обладает активностью в отношении широкого круга РНК-содержащих вирусов [4, 8, 11]. Однако в последнее время появились сообщения о наличии вирус-специфичных различий связывания ФП в области нуклеотид акцепторного центра у РНК-полимераз различных вирусов [12].

ФП как аналог гуанозина эффективно распознается и модифицируется клеточными ферментами, в частности гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазой (HGPRT), посредством присоединения остатка рибозы (рибозилирования) [13–15]. Образовавшийся ФП-рибозилфосфат претерпевает дополнительное фосфорилирование рибозильного остатка, приобретая свойства нуклеозидтрифосфата (ФП-рибозилтрифосфата — ФП-РТФ) и способность встраивания в цепочку вновь синтезируемой молекулы вирусной РНК посредством вирусной RdRp [16, 17]. Встраивание нукле-

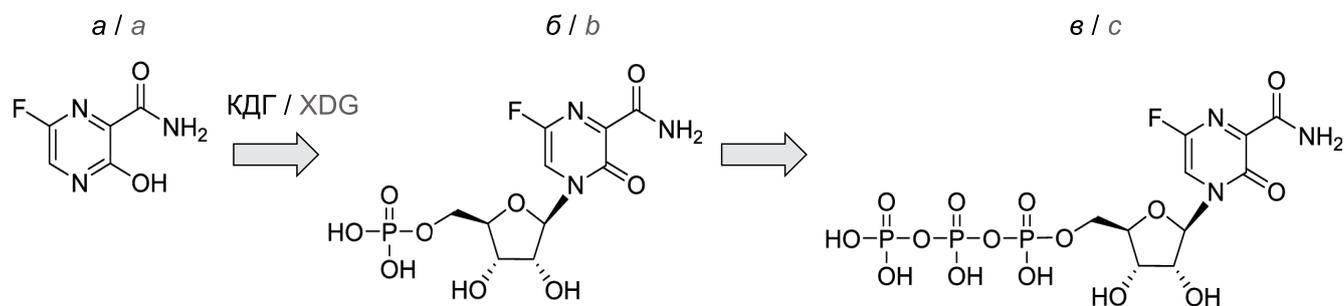


Рис. 1. Структура и внутриклеточная модификация ФП.

а — ФП; б — ФП-рибозилмонофосфат; в — ФП-рибозилтрифосфат. КДГ — клеточная ксантиндегидрогеназа.

Fig. 1. Structure and intracellular modification of favipiravir.

а — favipiravir; б — favipiravir ribofuranosyl monophosphate; в — favipiravir ribofuranosyl triphosphate.
XDG — cellular xanthine dehydrogenase.

озидных аналогов в вирионную РНК затрудняло и нарушало комплементарное спаривание оснований при матричном синтезе цепочек РНК вирусной полимеразой.

Во-первых, ФП-зависимое затруднение спаривания оснований вызывало преждевременную терминацию синтеза цепей РНК и образование коротких дефектных фрагментов вирусных РНК [18, 19].

Во-вторых, встраивание ФП в синтезируемую новую цепь РНК происходило с нарушением уотсон-криковского спаривания и приводило к мутациям (транзициям), преимущественно двух типов: G→A и C→U [8, 16, 20–22]. Частота таких ошибок в вирусных РНК в инфицированных клетках возрастала с увеличением концентрации ФП в питательной среде. При этом уровень мутаций, особенно транзиций G→A и C→U, в вирусных РНК возрастал в 3–12 раз в инфицированных клетках, инкубируемых с ФП, и достигал уровня 10⁻¹ мутаций/нуклеотид в вирусном геноме при концентрации ФП 500 мкМ [23]. Подавляющая часть мутированных молекул РНК была нефункциональной, что оказывало летальное мутагенное действие на размножение вируса, т.к. нарушало образование полноценного инфекционного вируса и приводило к формированию неинфекционной вирусной популяции и заметному снижению инфекционного процесса [24, 25]. В результате ФП-индуцированного мутагенного действия развивался так называемый абортный тип вирусной инфекции. При этом важно иметь в виду, что мутагенное действие ФП не приводило к полному подавлению размножения вируса. Так, при концентрации ФП в среде 500 мкМ, которая рассматривается как эффективная терапевтическая [3, 26–30], урожай инфекционных вирусных частиц снижался лишь в 100–1000 раз до уровня около 10³ инфекционных частиц в 1 мл питательной среды [23, 31].

На **рис. 2** схематически проиллюстрировано трехстороннее соотношение: (1) нарастание мутаций (транзиций) в геноме вируса по мере (2) сниже-

ния количеств вновь синтезируемого инфекционного вируса в популяции, формирующейся (3) при увеличении концентрации ФП в инкубационной среде заражённых клеточных культур. Наиболее опасной

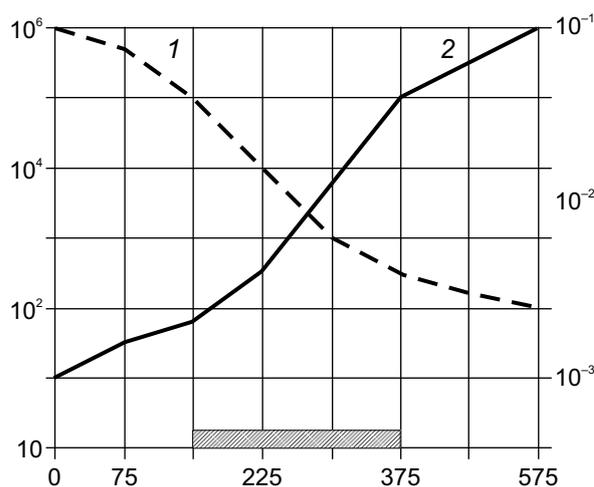


Рис. 2. Динамика соотношения уровня мутаций в геноме вируса и его инфекционности при изменении концентрации ФП в инкубационной среде.

Представлены обобщённые концептуальные параметры, полученные на культурах инфицированных вирусами клеток, которые оказались сходными для вирусов COVID-19, гриппа, Коксаки, Эбола и др. [8, 16, 21, 22]. По осям ординат: слева — количество инфекционных вирионов в 1 мл культуральной среды (кривая 1); справа — число мутаций на 1 нуклеотид в геноме вируса (кривая 2). По оси абсцисс — концентрация ФП (μМ) в культуральной среде инфицированных клеток.

Fig. 2. Dynamics of the correlation between the virus genome mutations and virus infectivity developing under increasing concentrations of FP in the incubation medium in cell culture experiments.

Consolidated conceptual parameters obtained on cultures of cells infected with viruses are presented, which appeared to be similar for the SARS-CoV-2, influenza, Coxsackie, Ebola viruses, etc. [8, 16, 21, 22].

The left Y-axis shows the number of infectious virions per 1 ml of the culture medium (curve 1); the right Y-axis shows the number of mutations per nucleotide in the virus genome (curve 2). The X-axis shows the concentration of FP (μM) in the culture medium of infected cells.

в плане появления вирусных мутантов служит зона средних концентраций ФП (отмечена штриховкой на рис. 2), когда при наличии относительно высокого уровня мутаций вирус еще сохранял инфекционность и способность к размножению. Вполне очевидно, что сохранившийся остаточный пул мутированных и инфекционных вирионов формировал основу для отбора мутантных вариантов вируса с непредсказуемыми и опасными свойствами, включая приобретение резистентности к химиопрепарату, расширение органного пантропизма и усиления его патогенности для людей.

Мишени противовирусного действия фавипиравира

Противовирусное действие ФП складывается из трех главных механизмов, которые обусловлены его структурными свойствами аналога пиримидинового нуклеозида. Благодаря такому сходству молекулы рибозилированного ФП функционально конкурируют с гуанозином и аденозином и их РТФ в биосинтетических путях (каскадах) в инфицированных клетках, происходящих с участием вирусной RdRp. В результате такой интерференции ФП нарушает процесс синтеза полноценных молекул вирусных РНК, что приводит к подавлению репродукции вируса [8, 16, 21, 22]. Известны три главные мишени противовирусного действия ФП.

1. Прямое ингибирование вирусных полимераз

Это действие ФП обусловлено прямым узнаванием и связыванием нуклеозидной формы ФП-РТФ вирусными РНК-полимеразами, включая полимеразу коронавируса, и блокированием её полимеразной функции. В результате замедляется и снижается синтез вирусных молекул в инфицированных клетках [4]. Эти исследования наиболее широко проведены на вирусах гриппа. Но поскольку механизмы каталитического действия вирусных РНК-полимераз имеют значительное структурное и функциональное сходство, есть все основания полагать, что они имеют общие параметры и характерны для полимераз большинства семейств РНК-содержащих вирусов, включая вирусы гриппа, коронавирусы, пикорна-, арена-, рабдо-, парамиксо-, флави-, гепадно-, норовирусы и др. [10, 23, 32]. Следует отметить, что среди РНК-содержащих вирусов РНК-полимераза COVID-19 по скорости присоединения нуклеотидов в 10 раз превосходит РНК-полимеразы вирусов гриппа, ящура и Эбола [23]. Такая быстрота коронавирусной полимеразы, необходимая коронавирусам для транскрипции гигантского генома около 30×10^3 нуклеотидов, делает РНК-полимеразу (белок nsр12) наименее точной и допускающей в несколько раз больше ошибок (мутаций), чем РНК-полимеразу других вирусов. Мутагенное действие ФП усугубляет эту особенность полиме-

разы коронавируса COVID-19 и дополнительно повышает уровень мутаций в 3–12 раз, что способствует эффективности его летального мутагенеза на коронавирусы.

Вместе с тем коронавирусы, в отличие от других РНК-вирусов, имеют белок nsр14, который обладает функцией уточнения матричного считывания для исправления части сделанных ошибок и компенсации действия ФП [33]. Важная особенность ФП состоит в том, что его эффектор ФП-РТФ обладает высокой избирательностью на вирусный синтез и практически не влияет на клеточный метаболизм, поскольку такого класса ферментов, как RdRp, нет в клетках млекопитающих. Так, сравнение RdRp вируса гриппа с ДНК-зависимой РНК-полимеразой клеток млекопитающих показало, что 50% ингибирующая концентрация активного вещества для ФП в отношении указанных РНК-полимераз составляла 0,3 мкМ и более 950 мкМ соответственно [3].

2. Преждевременная терминация синтеза вирусных РНК

ФП, имея лишь частичное сходство с пуриновым основанием гуанина и в некоторой степени аденина, не может обеспечить полноценную комплементарность его спаривания с цитозином и урацилом при синтезе дочерних молекул РНК [11]. Отсутствие полной комплементарности затрудняет работу полимеразы и вызывает ее остановку на матрице РНК, что приводит к преждевременному обрыву синтеза РНК и формированию коротких молекул РНК [18, 19]. Важно отметить, что доля гуанина в геноме SARS-CoV-2 невысока (около 17,5%), поэтому терминирующее действие ФП, направленное на это основание, может дополнительно усиливать летальный эффект на данный вирус [23]. Феномен образования преждевременно терминированных дефектных вирусных РНК, интерферирующих с полноценными вирусными молекулами РНК, приводит к ингибированию размножения вируса [8, 16, 21, 22].

3. Встраивание ФП-РТФ в молекулы РНК и образование мутантных форм вируса

ФП-РТФ способен встраиваться в синтезирующиеся молекулы вирусных РНК и вызывать мутации в геномной или субгеномной РНК, которая входит в состав синтезируемых вирионов. В результате этого механизма формируется вирусная популяция дефектных неинфекционных вирионов, которые составляют подавляющую часть вирусной популяции при высоких концентрациях ФП (250 мкМ и более) [8, 16, 20, 21, 22]. Такие мутантные вирионы не способны поддерживать полноценное многоциклое размножение вируса, но могут инициировать так называемую абортивную инфекцию клеток-мише-

ней без образования полноценного инфекционного вируса. Данный механизм получил название мутагенного действия химиопрепарата на вирусное потомство. Поскольку ФП-РТФ является аналогом (конкурентом) гуанозина и частично аденозина (A/G), его мутагенное действие в инфицированных вирусом клетках приводит к заменам (так называемым транзициям) в вирусном геноме главным образом двух типов: G→A и C→U [31]. Это структурно-функциональное свойство ФП лежит в основе его мутагенного действия.

Особенности и последствия мутагенного действия фавипиравира

В результате мутагенного действия ФП его применение приводит к значительному повышению частоты мутаций в геноме синтезируемых вирионов. Прирост таких мутаций имеет дозозависимый характер: при более высоких концентрациях препарата (> 100 мкМ) частота составляет 10^{-1} – 10^{-2} мутаций на 1 нуклеотид в геноме, тогда как при пониженных концентрациях эта величина находится на уровне 10^{-3} (рис. 2) [16, 26, 31]. Такой эффект мутагена порождает два важных последствия. При высоких концентрациях ФП количество мутаций чрезмерное, что несовместимо с жизнеспособностью образующегося вирусного потомства, — так называемое летальное действие. При низких концентрациях количество мутаций заметно снижается, но остается достаточным для обеспечения заметного повышения генетического разнообразия вирусного потомства на фоне сохранения его жизнеспособности [23, 31].

Стимулирование мутагенеза вирусного генома приводит к ускорению микроэволюции вируса. Во-первых, при усиленном мутагенезе возрастает частота возникновения мутантных форм вируса, устойчивых к самому мутагенному препарату, так называемых ускользающих вирусных мутантов [8, 11, 22]. Во-вторых, за счет возникающих мутантных форм вируса возрастает общее генетическое разнообразие вирусной популяции, что заметно увеличивает вероятность появления опасных вирусных вариантов, обладающих повышенной контагиозностью и патогенностью для человека и расширенным кругом хозяев, создающим предпосылки перехода таких мутантных вариантов на домашних и сельскохозяйственных животных и формирования новых связей в круге хозяев вируса между человеком и животными. В результате могут возникнуть новые миграционные потоки вируса между различными видами животных, а также человеком.

Усиление процесса появления мутантных форм вируса в результате широкого лечебного применения мутагенного препарата(ов) может спровоцировать опасную эпидемическую проблему. Эта проблема возникновения опасных вирусных

мутантов представляется особенно реальной в случае бессистемного применения химиопрепаратов мутагенного типа, особенно в случае свободного доступа к лекарству при отсутствии эффективного врачебного контроля его применения и мониторинга используемых терапевтических доз.

Пути снижения рисков появления опасных вирусных мутантов при применении химиопрепаратов мутагенного типа действия

При применении химиопрепаратов, обладающих мутагенным действием на вирус, для повышения мутагенного порога, затрудняющего возникновение генетического разнообразия инфекционного вируса и появление опасных вирусных мутантов, логично предложить три основных и практически реализуемых пути.

Первый путь для минимизации угрожающего мутагенного эффекта на вирус состоит в усовершенствовании структуры химиопрепарата. Модификация структуры мутагенного химиопрепарата, в частности ФП, должна заключаться в том, чтобы устранить его способность встраиваться в синтезируемую цепочку РНК и тем самым вызвать терминацию её элонгации и обрыв последующего синтеза полноценной молекулы. Достижение такой цели возможно, с одной стороны, путём заметного усиления аффинности нуклеозидной части препарата к полимеразе, чтобы сделать необратимым их комплексообразование. С другой стороны — путём изменения структуры рибозил-трифосфатной группы, чтобы заблокировать и сделать невозможным образование фосфодиэфирной связи между химиопрепаратом и последующим нуклеотидным основанием, что остановит элонгацию и вызовет обрыв синтезируемой молекулы РНК.

Второй путь, затрудняющий появление опасных мутантов вируса, состоит в использовании комбинаций химиопрепаратов с различным механизмом действия, направленных на различные вирусные и/или клеточные мишени. Имеются многочисленные данные для многих химиопрепаратов, действующих на различные вирусные белки (ферменты), включая вирусную полимеразу, о том, что пассирование вирусов в присутствии одного химиопрепарата (так называемая монотерапия) приводит к быстрому формированию вирусных мутантов, устойчивых к данному химиопрепарату [8, 11, 22]. Как правило, устойчивый штамм имел мутацию в вирусном гене белка, против которого был направлен химиопрепарат. Однако в случае совместного (параллельного) применения 2 и более химиопрепаратов, действующих на различные вирусные и/или клеточные мишени, не удастся наблюдать формирования мутантных штаммов даже после длительного пассирования вируса в присутствии комбинации

химиопрепаратов [34–37]. На основании этих данных представляется рациональным и оправданным применение противовирусных химиопрепаратов, включая ФП, в комбинациях, в которых химиопрепараты имеют различные мишени противовирусного действия. Более того, такое комбинированное применение противовирусных лекарств имеет, как правило, значительно более высокую терапевтическую эффективность и синергидный противовирусный эффект [38–42].

Третий путь, позволяющий предотвратить опасные последствия мутагенного эффекта ФП, заключается в соблюдении диапазона оптимальных высоких доз препарата в организме реципиента. Таким ориентиром диапазона можно считать уровень перманентной концентрации в организме не менее 75 мкМ (~30 мг/кг массы) [23, 26]. Оценка мутагенных концентраций ФП в культуре инфицированных вирусом гриппа клеток показывает, что концентрация 125 мкМ и выше обеспечивает эффективную терминацию синтеза вирусных РНК и их летальный мутагенез, что заметно тормозит образование жизнеспособных вирионов [8, 16, 21, 22, 26, 43]. Экстраполяция этой концентрации с учетом биодоступности в организме человека даёт поддерживающую терапевтическую дозу химиопрепарата 20–50 мг/кг массы пациента в сутки и выше [44]. При снижении лечебных концентраций ФП в организме инфицированного пациента будут синтезироваться значительные количества угрожающих мутантных форм вируса разной степени инфекционности и с непредсказуемыми свойствами.

Заключение

Усиление синтеза мутантных форм вирионов под действием ФП несет угрозу появления новых опасных вирусных штаммов с повышенной патогенностью для человека и животных и приобретенной устойчивостью к химиопрепарату. Для минимизации мутагенного эффекта ФП возможны синтез новых модификаций ФП, лишённых способности встраиваться в молекулу синтезированной РНК; комбинированное применение ФП с противовирусными химиопрепаратами иного механизма и направленными на различные вирусные и/или клеточные мишени; непрерывное применение при строгом врачебном контроле высоких терапевтических доз ФП для усиления летального мутагенного эффекта на инфекционный вирус в организме-реципиенте для предотвращения размножения его мутантных форм.

Благодарность

Авторы выражают благодарность академику РАН Д.К. Львову за поддержку и полезные дискуссии.

Acknowledgement

The authors are grateful to Dmitry K. Lvov, Full Member of RAS, for support and useful discussions.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

- Zhirnov O.P. Molecular targets in the chemotherapy of coronavirus infection. *Biochemistry (Mosc)*. 2020; 85(5): 523–30. <https://doi.org/10.1134/S0006297920050016>
- Tsai S.C., Lu C.C., Bau D.T., Chiu Y.J., Yen Y.T., Hsu Y.M., et al. Approaches towards fighting the COVID-19 pandemic (review). *Int. J. Mol. Med*. 2020; 47(1): 3–22. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2020.4794>
- Furuta Y., Gowen B.B., Takahashi K., Shiraki K., Smees D.F., Barnard D.L. Favipiravir (T-705), a novel viral RNA polymerase inhibitor. *Antiviral Res*. 2013; 100(2): 446–54. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.09.015>
- Furuta Y., Komeno T., Nakamura T. Favipiravir (T-705), a broad spectrum inhibitor of viral RNA polymerase. *Proc. Jpn Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci*. 2017; 93(7): 449–63. <https://doi.org/10.2183/pjab.93.027>
- Furuta Y., Egawa H. Nitrogenous heterocyclic carboxamide derivatives or salts thereof and antiviral agents containing both. European Patent Office WO, 00/10569 (JP25044198 application 20.08.1998). WO2000010569A1; 2000.
- Shiraki K., Daikoku T. Favipiravir, an anti-influenza drug against life-threatening RNA virus infections. *Pharmacol Ther*. 2020; 209: 107512. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107512>
- Pilkington V., Pepperrell T., Hill A. A review of the safety of favipiravir – a potential treatment in the COVID-19 pandemic? *J. Virus Erad*. 2020; 6(2): 45–51. [https://doi.org/10.1016/s2055-6640\(20\)30016-9](https://doi.org/10.1016/s2055-6640(20)30016-9)
- Abdelnabi R., Morais A.T.S., Leyssen P., Imbert I., Beaucourt S., Blanc H., et al. Understanding the Mechanism of the Broad-Spectrum Antiviral Activity of Favipiravir (T-705): Key Role of the F1 Motif of the Viral Polymerase. *J. Virol*. 2017; 91(12): e00487–17. <https://doi.org/10.1128/jvi.00487-17>
- Jordan P.C., Stevens S.K., Deval J. Nucleosides for the treatment of respiratory RNA virus infections. *Antivir. Chem. Chemother*. 2018; 26: 2040206618764483. <https://doi.org/10.1177/2040206618764483>
- Neogi U., Hill K.J., Ambikan A.T., Heng X., Quinn T.P., Byrareddy S.N., et al. Feasibility of known RNA polymerase inhibitors as anti-SARS-CoV-2 drugs. *Pathogens*. 2020; 9(5): 320. <https://doi.org/10.3390/pathogens9050320>
- Delang L., Abdelnabi R., Neyts J. Favipiravir as a potential countermeasure against neglected and emerging RNA viruses. *Antiviral Res*. 2018; 153: 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.03.003>
- Sada M., Saraya T., Ishii H., Okayama K., Hayashi Y., Tsugawa T., et al. Detailed molecular interactions of Favipiravir with SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV, and influenza virus polymerases in silico. *Microorganisms*. 2020; 8(10): 1610. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101610>
- Naesens L., Guddat L.W., Keough D.T., van Kuilenburg A.B., Meijer J., Vande Voorde J., et al. Role of human hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase in activation of the antiviral agent T-705 (favipiravir). *Mol. Pharmacol*. 2013; 84(4): 615–29. <https://doi.org/10.1124/mol.113.087247>
- Smees D.F., Hurst B.L., Egawa H., Takahashi K., Kadota T., Furuta Y. Intracellular metabolism of favipiravir (T-705) in uninfected and influenza A (H5N1) virus-infected cells. *J. Antimicrob. Chemother*. 2009; 64(4): 741–6. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp274>
- Bixler S.L., Bocan T.M., Wells J., Wetzel K.S., Van Tongeren S.A., Garza N.L., et al. Intracellular conversion and *in vivo* dose response of favipiravir (T-705) in rodents infected with Ebola virus. *Antiviral Res*. 2018; 151: 50–4. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2017.12.020>

ОБЗОРЫ

16. Baranovich T., Wong S.S., Armstrong J., Marjuki H., Webby R.J., Webster R.G., et al. T-705 (favipiravir) induces lethal mutagenesis in influenza A H1N1 viruses *in vitro*. *J. Virol.* 2013; 87(7): 3741–51.
<https://doi.org/10.1128/jvi.02346-12>
17. Arias A., Thorne L., Goodfellow I. Favipiravir elicit antiviral mutagenesis during virus replication *in vivo*. *eLife.* 2014; 3: e03679.
<https://doi.org/10.7554/elife.03679>
18. Sangawa H., Komeno T., Nishikawa H., Yoshida A., Takahashi K., Nomura N., et al. Mechanism of action of T-705 ribosyl triphosphate against influenza virus RNA polymerase. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013; 57(11): 5202–8.
<https://doi.org/10.1128/aac.00649-13>
19. Jin Z., Smith L.K., Rajwanshi V.K., Kim B., Deval J. The ambiguous base-pairing and high substrate efficiency of T-705 (Favipiravir) ribofuranosyl 5'-triphosphate towards influenza A virus polymerase. *PLoS One.* 2013; 8(7): e68347.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068347>
20. de Avila A.I., Gallego I., Soria M.E., Gregori J., Quer J., Esteban J.I., et al. Lethal mutagenesis of hepatitis C virus induced by Favipiravir. *PLoS One.* 2016; 11(10): e0164691.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164691>
21. Guedj J., Piorkowski G., Jacquot F., Madelain V., Nguyen T.H.T., Rodallec A., et al. Antiviral efficacy of Favipiravir against Ebola virus: A translational study in cynomolgus macaques. *PLoS Med.* 2018; 15(3): e1002535.
<https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002535>
22. Goldhill D.H., te Velthuis A.J.W., Fletcher R.A., Langat P., Zambon M., Lackenby A., et al. The mechanism of resistance to Favipiravir in influenza. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2018; 115(45): 11613–8.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1811345115>
23. Shannon A., Selisko B., Le N.T., Huchting J., Touret F., Piorkowski G., et al. Rapid incorporation of Favipiravir by the fast and permissive viral RNA polymerase complex results in SARS-CoV-2 lethal mutagenesis. *Nat. Commun.* 2020; 11(1): 4682.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-18463-z>
24. Grande-Pérez A., Lazaro E., Lowenstein P., Domingo E., Manrubia S.C. Suppression of viral infectivity through lethal defection. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2005; 102(12): 4448–52.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0408871102>
25. Perales C., Mateo R., Mateu M.G., Domingo E. Insights into RNA virus mutant spectrum and lethal mutagenesis events: replicative interference and complementation by multiple point mutants. *J. Mol. Biol.* 2007; 369(4): 985–1000.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.03.074>
26. Wang M., Cao R., Zhang L., Yang X., Liu J., Xu M., et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) *in vitro*. *Cell. Res.* 2020; 30: 269–71.
<https://doi.org/10.1038/s41422-020-0282-0>
27. Cai Q., Yang M., Liu D., Chen J., Shu D., Xia J., et al. Experimental treatment with Favipiravir for COVID-19: An open-label control study. *Engineering (Beijing).* 2020; 6(10): 1192–8.
<https://doi.org/10.1016/j.eng.2020.03.007>
28. Joshi S., Parkar J., Ansari A., Vora A., Talwar D., Tiwaskar M., et al. Role of Favipiravir in the treatment of COVID-19. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 102: 501–8.
<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.10.069>
29. Ivashchenko A.A., Dmitriev K.A., Vostokova N.V., Azarova V.N., Blinow A.A., Egorova A.N., et al. AVIFAVIR for treatment of patients with moderate COVID-19: Interim results of a phase II/III multicenter randomized clinical trial. *Clin. Infect. Dis.* 2020; ciaa1176.
<https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1176>
30. Eloy P., Solas C., Touret F., Mentré F., Malvy D., de Lamballerie X., et al. Dose rationale for Favipiravir use in patients infected with SARS-CoV-2. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2020; 108(2): 187.
<https://doi.org/10.1002/cpt.1877>
31. Perales C., Gallego I., de Avila A.I., Soria M.E., Gregori J., Quer J., et al. The increasing impact of lethal mutagenesis of viruses. *Future Med. Chem.* 2019; 11(13): 1645–57.
<https://doi.org/10.4155/fmc-2018-0457>
32. Li G., De Clercq E. Therapeutic options for the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV). *Nat. Rev. Drug Discov.* 2020; 19(3): 149–50.
<https://doi.org/10.1038/d41573-020-00016-0>
33. Ferron F. Structural and molecular basis of mismatch correction and ribavirin excision from coronavirus RNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018; 115(2): E162–71.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1718806115>
34. Ilyushina N.A., Bovin N.V., Webster R.G., Govorkova E.A. Combination chemotherapy, a potential strategy for reducing the emergence of drug-resistant influenza A variants. *Antiviral Res.* 2006; 70(3): 121–31.
<https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2006.01.012>
35. Lu Y., Hards K., Dahms S.O., Böttcher-Friebertshäuser E., Steinmetzer T., Than M.E., et al. Peptidomimetic furin inhibitor MI-701 in combination with oseltamivir and ribavirin efficiently blocks propagation of highly pathogenic avian influenza viruses and delays high level oseltamivir resistance in MDCK cells. *Antiviral Res.* 2015; 120: 89–100.
<https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2015.05.006>
36. Baz M., Carbonneau J., Rhéaume C., Cavanagh M.H., Boivin G. Combination therapy with Oseltamivir and Favipiravir delays mortality but does not prevent Oseltamivir resistance in immunodeficient mice infected with pandemic A(H1N1) influenza virus. *Viruses.* 2018; 10(11): 610.
<https://doi.org/10.3390/v10110610>
37. Beigel J.H., Bao Y., Beeler J., Manosuthi W., Slandzicki A., Dar S.M., et al. A randomized double-blind phase 2 study of combination antivirals for the treatment of influenza. *Lancet Infect. Dis.* 2017; 17: 1255–65.
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30476-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30476-0)
38. Hurt A.C., Ison M.G., Hayden F.G., Hay A.J. Second isirv antiviral group conference: overview. *Influenza Other Respir. Viruses.* 2013; 7(Suppl. 3): 1–7.
<https://doi.org/10.1111/irv.12207>
39. Dunning J., Baillie J.K., Cao B., Hayden F.G. Antiviral combinations for severe influenza. *Lancet Infect. Dis.* 2014; 14(12): 1259–70.
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70821-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70821-7)
40. Li X., Yang Y., Liu L., Yang X., Zhao X., Li Y., et al. Effect of combination antiviral therapy on hematological profiles in 151 adults hospitalized with severe coronavirus disease 2019. *Pharmacol. Res.* 2020; 160: 105036.
<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.105036>
41. Ortega J.T., Zambrano J.L., Jastrzebska B., Liprandi F., Rangel H.R., Pujol F.H. Understanding severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 replication to design efficient drug combination therapies. *Intervirology.* 2020; 63(1-6): 2–9.
<https://doi.org/10.1159/000512141>
42. Zhirnov O.P. High protection of animals lethally infected with influenza virus by aprotinin-rimantadine combination. *J. Med. Virol.* 1987; 21(2): 161–7.
<https://doi.org/10.1002/jmv.1890210208>
43. Furuta Y., Takahashi K., Kuno-Maekawa M., Sangawa H., Uehara S., Kozaki K., et al. Mechanism of action of T-705 against influenza virus. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005; 49(3): 981–6.
<https://doi.org/10.1128/AAC.49.3.981-986.2005>
44. Du Y.X., Chen X.P. Response to “Dose rationale for Favipiravir use in patients infected with SARS-CoV-2”. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2020; 108(2): 190.
<https://doi.org/10.1002/cpt.1878>

Информация об авторах

Жирнов Олег Петрович[✉] — д.б.н., проф., чл.-корр. РАН, рук. лаб. вирусного патогенеза Института вирусологии им. Д.И. Ивановского НЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия; рук. лаб. вирусного патогенеза Русско-немецкой академии медико-социальных и биотехнологических наук, Москва, Россия, zhirnov@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3192-8405>

Чернышова Алёна Игоревна — м.н.с. лаб. иммунологии Института вирусологии им. Д.И. Ивановского НЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия; н.с. Русско-немецкой академии медико-социальных и биотехнологических наук, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1290-4042>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 02.01.2021;
принята к публикации 16.02.2021;
опубликована 15.03.2021

Information about the authors

Oleg P. Zhirnov[✉] — D. Sci. (Biol.), Prof., Corr. Member of the RAS, Head, Laboratory of viral pathogenesis, D.I. Ivanovsky Institute of Virology, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia; Head, Laboratory of viral pathogenesis, Russian-German Academy of Medico-Social and Biotechnological Sciences, Moscow, Russia, zhirnov@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3192-8405>

Alyona I. Chernyshova — junior researcher, Laboratory of immunology, D.I. Ivanovsky Institute of Virology, N.F. Gamaleya National Research Center of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia; researcher, Russian-German Academy of Medico-Social and Biotechnological Sciences, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1290-4042>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 02.01.2021;
accepted for publication 16.02.2021;
published 15.03.2021



Нарушения кишечной микробиоты при расстройствах аутистического спектра: новые горизонты в поиске патогенетических подходов к терапии. Часть 2. Ось кишечник–мозг в патогенезе расстройств аутистического спектра

Благонравова А.С., Жилиева Т.В., Квашнина Д.В.

Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия

Аннотация

Вторая часть обзора литературы, посвящённой роли нарушений кишечной микробиоты в патогенезе расстройств аутистического спектра (РАС), содержит анализ опубликованной литературы о возможных механизмах влияния дисбиоза кишечника на функцию центральной нервной системы и симптомы РАС и, наоборот, влияния нервной системы на кишечную микробиоту. Рассмотрены гипотезы медленного воспаления, гиперсеротонинемии, продукции токсичных метаболитов кишечной микробиотой, нарушения проницаемости кишечной стенки, а также влияния дисбиоза кишечника на синтез аминокислот, витаминов и других биологически активных веществ, потенциально задействованных в этиологии и патогенезе РАС. Приведены экспериментальные и клинические данные в поддержку перечисленных гипотез. Сформулированы основные механизмы оси кишечник–мозг, которые могут иметь отношение к патогенезу РАС.

Ключевые слова: *расстройства аутистического спектра, микробиота, дисбиоз, ось кишечник–мозг, обзор*

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания № 056-00057-20-02 на тему «Трансплантация кишечной микробиоты при расстройствах аутистического спектра (РАС) у детей» (регистрационный номер: АААА-А20-120022590145-1, утверждено Министерством здравоохранения Российской Федерации 22.01.2020).

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

Для цитирования: Благонравова А.С., Жилиева Т.В., Квашнина Д.В. Нарушения кишечной микробиоты при расстройствах аутистического спектра: новые горизонты в поиске патогенетических подходов к терапии. Часть 2. Ось кишечник–мозг в патогенезе расстройств аутистического спектра. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2021; 98(2): 221–230. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-83>

Review article
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-83>

Dysbiosis of intestinal microbiota in autism spectrum disorders: new horizons in search for pathogenetic approaches to therapy. Part 2. Gut–brain axis in pathogenesis of autism spectrum disorders

Anna S. Blagonravova, Tatyana V. Zhilyaeva, Darya V. Kvashnina

Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia

Abstract

The second part of the literature review on the role of intestinal microbiota disturbances in the pathogenesis of autism spectrum disorders (ASD) is devoted to the analysis of published literature on the possible mechanisms

© Коллектив авторов, 2021

Первая часть обзора опубликована в предыдущем номере журнала: Благонравова А.С., Жилиева Т.В., Квашнина Д.В. Нарушения кишечной микробиоты при расстройствах аутистического спектра: новые горизонты в поиске патогенетических подходов к терапии. Часть 1. Особенности кишечной микробиоты при расстройствах аутистического спектра. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2021; 98(1): 65–72. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-62>

underlying the impact of intestinal dysbiosis on the function of the central nervous system and symptoms of ASD and vice versa, the effect of the nervous system on the intestinal microbiota. The hypotheses of slow inflammation, hyperserotoninemia, the production of toxic metabolites of the intestinal microbiota, impaired intestinal wall permeability, and the effect of intestinal dysbiosis on the synthesis of amino acids, vitamins and other biologically active substances that are potentially involved in the etiology and pathogenesis of ASD are considered. Available to date experimental and clinical data supporting these hypotheses are presented. The main mechanisms of the so-called gut-brain axis, which may be related to the pathogenesis of ASD, are formulated.

Keywords: *autism spectrum disorders, microbiota, dysbiosis, gut-brain axis*

Funding source. The work was carried out within the framework of the State assignment No. 056-00057-20-02, approved by the Ministry of Health of the Russian Federation on January 22, 2020, on the topic «Gut microbiota transplantation in children with autism spectrum disorders (ASD)» (registration number: AAAA-A20-120022590145-1).

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Blagonravova A.S., Zhilyaeva T.V., Kvashnina D.V. Dysbiosis of intestinal microbiota in autism spectrum disorders: new horizons in search for pathogenetic approaches to therapy. Part 2. Gut-brain axis in pathogenesis of autism spectrum disorders. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2021; 98(2): 221–230. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-83>

Введение

Имеющиеся к настоящему времени данные о том, что при расстройствах аутистического спектра (РАС) отмечаются количественные и качественные особенности состава кишечной микробиоты, которые потенциально могут быть вовлечены в развитие симптомов РАС, ставят вопрос о необходимости поиска механизмов, посредством которых микроорганизмы кишечника могут оказывать влияние на психическое состояние хозяина. Знания о таких механизмах не только откроют путь к лучшему пониманию и дальнейшим исследованиям этиопатогенеза РАС, но и позволят разрабатывать интервенционные подходы, так как кишечная микробиота может подвергаться коррекции относительно безопасными методами, как это уже было показано при воспалительных заболеваниях кишечника.

В данной части обзора литературы рассмотрены основные гипотетические механизмы, посредством которых может осуществляться влияние кишечного дисбиоза на психопатологическое состояние пациентов с РАС, приведены экспериментальные и клинические данные, опубликованные в литературе к настоящему времени, служащие обоснованием для соответствующих гипотез.

Дисбиоз кишечника как причина системного воспаления при РАС

Существует гипотеза, что гастроинтестинальные (ГИ) проблемы при РАС могут быть проявлением воспалительного процесса, который является общим патогенетическим звеном и ГИ-расстройств, и РАС [1], и в пользу этого появляется все больше свидетельств [2, 3]. Многие недавние обзоры указывают на корреляцию между воспалением, иммунной дисфункцией у детей с РАС и сопутствующими заболеваниями желудочно-кишечного тракта [1, 2]. Сравнивая профили транскриптома при биопсии кишечника у детей с РАС, язвенным колитом и болезнью Крона, группа исследователей показала, что

транскрипционный профиль тканей подвздошной и толстой кишки у детей с РАС был аналогичен таковому у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника [3].

Однако другие исследования не обнаружили увеличения маркеров кишечного воспаления — кальпротектина, лактоферрина, секреторного IgA или эластазы в фекалиях у пациентов с РАС по сравнению со здоровыми детьми [4, 5]. Тем не менее при биопсии кишечника у детей с аутизмом в тканях наблюдается инфильтрация лимфоцитами, моноцитами, натуральными киллерами и эозинофилами, как у людей с иммунодефицитом и пищевой аллергией [1].

Микробиота и ее метаболиты имеют решающее значение для поддержания целостности эпителиального барьера; поэтому при дисбиозе у пациентов с РАС может изменяться проницаемость кишечника [6]. Это состояние может способствовать проникновению бактерий, бактериальных метаболитов и токсинов (таких, как липополисахарид), других метаболитов (не обязательно бактериального происхождения) в кровоток, активируя иммунный ответ и вызывая воспалительные изменения. Хотя до сих пор нет единого мнения, некоторые исследования продемонстрировали наличие различных маркеров воспаления у детей с РАС [7, 8]. Активированная иммунная система высвобождает воспалительные цитокины [1] и хемокины, которые могут отражаться на работе центральной нервной системы (ЦНС) и вносить вклад в патогенез аутизма, в частности, за счет влияния на развитие мозга в раннем онтогенезе [9]. Есть данные о повышенных уровнях провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкины-1 β , -6, -8, -12p40, фактор некроза опухоли- α и трансформирующий фактор роста- β , в плазме, а также о гиперактивации клеточного иммунного ответа у детей с РАС, и эти иммунные/воспалительные профили ассоциированы с тяжестью нейрораспространенных симптомов при РАС [10, 11]. Недавнее исследование показало, что в астроцитах

у детей с РАС обнаруживаются более высокие уровни провоспалительных цитокинов, чем у субъектов контрольной группы [2], и это может вызывать нарушения развития нейронов и синапсов у детей с РАС [12].

Е.У. Hsiao и соавт. на модели РАС у мышей обнаружили значительные нарушения целостности кишечного барьера, что отражалось в увеличении проникновения специального маркера FITC-декстрана (Fluorescein isothiocyanate-dextran) через кишечный эпителий в кровотоки [6]. Также более высокая кишечная проницаемость у детей, страдающих аутизмом, была продемонстрирована с помощью теста на лактулозу/маннитол у пациентов и их ближайших родственников [4]. Кроме того, у детей с РАС в плазме выявляется более высокий уровень белка, регулирующего проницаемость кишечника, — зонулина (по сравнению со здоровыми детьми младшего возраста), а повышение уровня зонулина коррелировало с выраженностью симптомов аутизма [2].

Липополисахарид, проникновение которого в плазму повышается при воспалительных изменениях кишечника, играет важную роль в модуляции работы ЦНС, повышении активности некоторых областей, ответственных за контроль эмоций, таких как миндалевидное тело [13]. Вызванная липополисахаридом продукция воспалительных цитокинов изменяет физиологическую активность мозга, модулируя синтез нейропептидов [14]. Исследование Е. Emanuele и соавт. (2010) показало, что уровень липополисахарида в сыворотке был значительно выше у пациентов с аутизмом по сравнению со здоровыми людьми и имел обратную корреляцию с показателями социализации [15].

Эксперименты, проведённые на мышах в модели с аутистикоподобными нарушениями поведения, показали, что добавление к пище *Bacteroides fragilis* может изменять кишечную микробиоту и профиль метаболитов крови, корректировать повышенную проницаемость кишечника (восстанавливать разрывы в межклеточных соединениях) и улучшать поведение, ассоциированное с РАС [6]. Этот факт не только подтверждает роль микробиоты и значение изменений целостности кишечного барьера в генезе аутизма, но и внушает оптимизм в отношении возможностей коррекции симптомов аутизма с помощью нормализации микробиоты кишечника.

Роль серотонина и других нейромедиаторов

Гиперсеротонинемия у детей с РАС была продемонстрирована в 1970-х гг., а её корреляция с ГИ-симптомами была недавно обнаружена S. Marler и соавт. [16]. Поскольку 90% серотонина цельной крови синтезируется кишечными энтерохромаффинными клетками, было высказано предположе-

ние, что более высокие уровни серотонина у детей с РАС могут быть вызваны желудочно-кишечной гиперсекрецией серотонина [17]. Эта гипотеза проверялась в моделях РАС на мышах, однако требуются дальнейшие исследования в этом направлении, в том числе с участием людей. Причины повышенного уровня серотонина при РАС не только генетические. К этому могут также иметь отношение инфекции, ГИ-расстройства и нарушения в иммунной системе [18].

В недавних исследованиях на мышинных моделях были обнаружены особенности микробиома при РАС, ассоциированные с ГИ-расстройствами и повышенной продукцией серотонина в кишечнике [19], подтверждающие взаимосвязь между синтезом серотонина в кишечнике и дисбиозом. Кроме того, показано, что у детей с РАС и ГИ-расстройствами по сравнению с детьми с РАС без ГИ-симптомов наблюдается более высокая распространённость видов клостридий в слизистой оболочке кишечника, что также коррелировало с повышенными уровнями цитокинов, серотонина и триптофана в биоптатах слизистой оболочки. При этом в мозге у детей с РАС обнаруживались снижение уровня серотонина и гипосеротонинемия [20].

Согласно С.Г. De Theije и соавт., при медленном воспалении кишечника в тромбоцитах, энтерохромаффинных и тучных клетках индуцируется синтез серотонина, что приводит к нарушению моторики кишечника и избыточному потреблению его предшественника — триптофана [21]. Следовательно, уровень триптофана для синтеза серотонина в мозге снижается, что может объяснить изменения в аффективной и когнитивной сферах при РАС, поскольку снижение уровня триптофана в рационе, по-видимому, ухудшает аутистическое поведение у взрослых. Кроме того, дисбактериоз может напрямую влиять на доступность триптофана для хозяина за счёт снижения поступления аминокислот из пищи [22]. Однако клинические доказательства связи между гиперсеротонинемией и аутистическим поведением (стереотипии, нарушения социального взаимодействия) по-прежнему противоречивы [23]. Ни добавление триптофана в рацион, ни селективные ингибиторы обратного захвата серотонина, повышающие уровень серотонина в мозге, для детей с РАС не доказали свою эффективность.

Известна способность целого ряда микроорганизмов использовать триптофан (предшественник серотонина) в синтезе индола для собственных нужд, таким образом ряд бактерий могут быть конкурентными захватчиками экзогенного триптофана, эссенциально необходимого для синтеза серотонина в мозге [24].

При этом накоплены данные о том, что кишечная микробиота обладает способностью к синтезу не только серотонина, но и ряда других нейротранс-

миттеров, гипотетически вовлечённых в развитие симптомов РАС (дофамина, γ -аминомасляной кислоты); более того, показано, что влияние на микробиоту способствует изменению уровней нейротрансмиттеров [25]. Большинство исследований проведено в эксперименте на животных, поэтому очевидно, что требуются хорошо спланированные когортные исследования данного вопроса с участием людей. Имеются обширные сведения о сложных двусторонних взаимодействиях различных нейромедиаторных систем организма-хозяина и кишечной микробиоты, что представляет чрезвычайную актуальность для дальнейшего изучения при психических расстройствах, в том числе при РАС [26].

Другие метаболиты кишечной микрофлоры

Кишечные бактерии продуцируют токсины и различные метаболиты, которые могут проникать через кишечный и гематоэнцефалический барьеры и таким образом влиять на мозг и поведение [27]. Благодаря высокоэффективным техникам измерения, использующимся в метаболомике, стало возможным выявлять изменения различных метаболитов при РАС путём анализа образцов мочи, сыворотки и фекалий [28, 29], в том числе веществ бактериального происхождения, которые, вероятно всего, синтезируются кишечной микробиотой.

Дети с РАС имеют высокие уровни **p-крезола** и его ко-метаболита **p-крезилсульфата** в фекалиях и моче [28, 29]. Эти фенольные соединения вырабатываются бактериями (такими, как *C. difficile*, *Bifidobacterium*), экспрессирующими ферменты, способные синтезировать p-крезол [30]. Есть данные о том, что повышенный уровень p-крезола в раннем онтогенезе ассоциирован с выраженностью поведенческих симптомов и когнитивных нарушений при РАС, а также кишечными инфекциями и GI-расстройствами [29, 31].

Сообщалось также о высоком уровне **короткоцепочечных жирных кислот** (КЦЖК) в фекалиях детей с РАС [27]. Согласно отдельным исследованиям, дети с РАС имеют более высокие уровни пропионовой кислоты и уксусной кислоты, но меньшие уровни масляной кислоты [27]. Эти КЦЖК являются конечными продуктами ферментации непереваренных углеводов.

Пропионовая кислота, продуцируемая ассоциированными с РАС видами (*Clostridium* spp., *Bacteroides* spp. и *Desulfovibrio*), используется как консервант в пищевой промышленности [32] и имеет несколько функций, таких как модуляция синтеза и высвобождения нейротрансмиттеров [33], противовоспалительный и антибактериальный эффекты, может модулировать митохондриальный и липидный обмен, кроме того, были получены данные о способности этой кислоты к эпигенетической модуляции генов, ассоциированных с РАС [27].

В эксперименте показано, что пропионовая кислота может вызывать аутистиподобное поведение у грызунов: при введении этой кислоты или других КЦЖК в желудочки головного мозга крысы животные демонстрировали биологические, химические и патологические изменения, характерные для аутизма [34].

В недавнем эксперименте с нейрональными стволовыми клетками было показано, что пропионовая кислота является модулятором одного из важнейших внутриклеточных путей, вовлечённых в пролиферацию нейрональной ткани и нейрогенез на ранних этапах развития (PTEN/АКТ), вызывает глиоз и нейровоспаление [35]. В связи с этим авторы предполагают, что кишечный дисбиоз у беременной матери и избыток в связи с этим пропионовой кислоты может способствовать нарушениям развития ЦНС у ребенка и таким образом быть вовлечённым в патогенез РАС.

Масляная кислота модулирует кишечный трансэпителиальный транспорт и играет роль в функционировании митохондрий, стимулируя окислительное фосфорилирование и окисление жирных кислот [36]. В настоящее время изучается эффективность солей масляной кислоты при лечении некоторых психических расстройств, таких как деменция и депрессия [37, 38], а также РАС [39]. В моделях РАС на животных масляная кислота положительно модулирует экспрессию генов, влияющих на синтез нейротрансмиттеров, ингибируя деацетилазу гистонов, и, в противоположность действию пропионовой кислоты, может способствовать редукции поведенческих нарушений у мышей [40]. В эксперименте с нейрональными стволовыми клетками также показано, что масляная кислота влияет на пролиферацию нейрональной ткани (способствует увеличению числа нейронов), однако механизмы остаются неизученными, и авторы сделали заключение о необходимости дальнейшего изучения роли этой кислоты в этиопатогенезе аутизма (особенно в пренатальном периоде онтогенеза) [35].

S. Rose и соавт. воспроизвели модель митохондриальной дисфункции, наблюдаемой при РАС, на особых линиях лимфобластных клеток [39] и продемонстрировали, что масляная кислота оказывает положительный эффект на клетки как здоровых детей, так и детей с аутизмом, находящиеся в условиях физиологического стресса. Необходимы дальнейшие исследования *in vivo* для оценки потенциального терапевтического эффекта масляной кислоты при многих заболеваниях, связанных с дисфункцией митохондрий, таких как РАС.

У детей с РАС также нарушен метаболизм **свободных аминокислот**, образующихся в результате гидролиза белков и пептидов [41]. При изучении методами метаболомики у детей с РАС наблюдались различные отклонения экскреции ряда ами-

нокислот (глицина, серина, треонина, аланина, гистидина и глутамин, а также предшественника серотонина — триптофана и фрагментов его деградации) [41]. Это может говорить о том, что нарушения аминокислотного обмена могут участвовать в патогенезе аутизма.

При этом установлено, что концентрация всех аминокислот и отдельных свободных аминокислот в образцах фекалий выше у детей с аутизмом, чем у здоровых детей и детей с перивазивным расстройством развития без дополнительных уточнений, и эти данные коррелируют с распространённостью **протеолитических бактерий** у детей с аутизмом. Глутамат, наибольшие уровни которого обнаруживаются у людей с РАС, является аминокислотой, действующей как нейротрансмиттер в ЦНС; предположительно, он участвует в этиопатогенезе так называемых дизонтогенетических нарушений ЦНС (нарушений развития ЦНС) [42]. Таким образом, нарушения обмена аминокислот могут быть еще одним патогенетическим звеном, опосредующим влияние кишечной микробиоты на развитие симптомов РАС.

В противоположность негативному влиянию ряда метаболитов патогенных бактерий, комменсалы и симбионты могут активно продуцировать эссенциальные для организма-хозяина вещества, в частности **витамины**. Так, гены, участвующие в синтезе **фолатов**, обнаружены в геноме 6 типов, присутствующих в микробиоте человека: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* и *Verrucomicrobia*. При этом *Proteobacteria* и в меньшей степени *Firmicutes*, *Actinobacteria* и *Verrucomicrobia* обладают способностью синтезировать фолаты *de novo*. Остальные используют в качестве предшественника другой метаболит — пара-аминобензойную кислоту. *Lactobacillus reuteri* — один из фолатпродуцирующих видов кишечной микробиоты [43]. Согласно исследователям, фолаты, продуцируемые кишечной микробиотой, более биодоступны, чем синтетическая фолиевая кислота, т.к. не нуждаются в трансформации дигидрофолатредуктазой и другими ферментами, функция которых снижена у носителей определённых генетических вариантов. Существуют немногочисленные, но вполне убедительные данные о том, что нарушения обмена фолатов могут иметь отношение к этиопатогенезу РАС и фолаты могут применяться в качестве метода профилактики РАС и коррекции симптомов [44]. При этом исследований, касающихся роли микробиоты в синтезе фолатов при РАС, в литературе не встречается, поэтому данное направление исследований может претендовать на высокую научную новизну.

Другим эссенциальным биологически активным веществом, которое может быть синтезировано

кишечной микробиотой (недавно обнаружено в эксперименте с *Actinobacteria*, видами *Aldercreutzia equolifaciens* и *Microbacterium schleiferi*) [45] и роль которого в развитии аутизма активно изучается [46], является **тетрагидробиоптерин (ВН4)** — ключевой кофактор синтеза большого ряда нейротрансмиттеров, в том числе дофамина, серотонина и норадреналина. ВН4 всасывается из кишечника и проникает через гематотканевые барьеры. При этом исследований о влиянии нарушений микробиоты у пациентов с РАС на уровень ВН4 плазмы не обнаружено.

Ось кишечник–мозг: механизмы

Кишечная микробиота и ассоциированные с ней метаболиты играют важную роль в физиологической двусторонней сложной сети взаимодействия между мозгом и кишечником [47] за счёт нервных, эндокринных, нейроиммунных и метаболических (продукция микробных токсинов) механизмов, которые участвуют в передаче сигналов между ЦНС и кишечником, что, по-видимому, вовлечено в этиопатогенез психоневрологических расстройств, включая аутизм и РАС [8, 26]. Данная сеть взаимодействия в последнее время приобрела в научной литературе специфическое название «ось кишечник–мозг» [48] и завоёвывает всё большее внимание исследователей, несмотря на то что механизмы, посредством которых она реализуется, остаются гипотетическими [49]. Влияния, опосредованные этой осью, не являются однонаправленными, а представляют собой непрерывную двустороннюю связь: ЦНС способна изменять состав микробиоты и менять проницаемость кишечника, модулировать моторику и секрецию через активацию оси гипоталамус–гипофиз–надпочечники, вегетативную и нейроэндокринную системы с непосредственным воздействием на микрофлору кишечника [50]. Среди некоторых медиаторов этой оси наиболее изучены остаются вазоактивный кишечный пептид, серотонин, мелатонин, γ -аминонасыщенная кислота, катехоламины, гистамин и ацетилхолин [26], однако основные патогенетические и физиологические механизмы данных связей до конца не выяснены.

Обобщая имеющиеся данные, можно выделить несколько основных гипотетических механизмов, осуществляющих работу оси мозг–кишечник:

1. Изменённый микробный состав кишечника может вызывать нарушение кишечного барьера, влияя на проницаемость кишечного эпителия [12, 51], что может привести к транслокации бактерий и их антигенов, токсинов и метаболитов.

2. Кишечный микробиом играет важную роль в созревании иммунной системы хозяина, модулируя врождённую и приобретённую иммунную систему, особенно регуляторные Т-клетки, которые предотвращают воспаление [52]. Дисбактериоз

у детей с РАС приводит к активации иммунной системы и выбросу воспалительных цитокинов, которые регулируют работу ЦНС через систему блуждающего нерва и другие пути [12]. При этом вопрос каузальности (что первично: дисбиоз или нарушения иммунитета) остаётся открытым и требует самого тщательного изучения [53].

3. Микробиота кишечника может отправлять сигналы в ЦНС через энтеральную нервную систему или через афферентные волокна блуждающего нерва как непосредственно, так и через высвобождение нейротрансмиттеров в кровотоки [22, 26]. Введение *Lactobacillus rhamnosus* мышам стимулировало через блуждающий нерв транскрипцию рецепторов γ -аминоасляной кислоты в ЦНС, вызывая поведенческие и психологические реакции, и этот эффект прекращался после ваготомии. Несколько видов бактерий могут отправлять сигналы в ЦНС через блуждающий нерв [12, 22]. При передаче сигналов сверху вниз вегетативная нервная система и ось гипоталамус–гипофиз–надпочечники влияют на микробиоту кишечника, вероятно, за счет изменения химического состава секретов [26, 53].

4. Наконец, кишечная микробиота продуцирует метаболиты, такие как КЦЖК, липополисахарид, фенольные соединения и свободные аминокислоты, которые, вероятно, играют важную специфическую роль в патогенезе РАС, как непосредственно воздействуя на мишени в ЦНС [12], так и путём активации иммунной системы и провоспалительных свойств [10]. Кроме того, при кишечном дисбиозе может быть нарушен синтез веществ, играющих протективную роль в отношении развития аутизма (витаминов, кофакторов синтеза нейромедиаторов и самих нейромедиаторов).

Заключение

Таким образом, к настоящему времени имеется большое количество результатов исследований, как экспериментальных, так и клинических, подтверждающих гипотезу о возможном влиянии кишечной микробиоты на функционирование ЦНС и, в частности, участия дисбиоза кишечника в этиопатогенезе РАС, а также раскрывающих молекулярные механизмы этого влияния. Несмотря на то что большинство сведений имеет предварительный характер, в целом к настоящему времени формируется картина приблизительного понимания оси кишечник–мозг как сложной многокомпонентной системы взаимного влияния ЦНС и микробиоты кишечника, требующей тщательного последующего изучения, особенно с позиции этиологии и патогенеза РАС. Знание молекулярных механизмов реализации кишечного дисбиоза в патогенезе РАС позволит в дальнейшем разрабатывать терапевтические и профилактические подходы к лечению данной группы психических расстройств.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Navarro F., Liu Y., Rhoads J.M. Can probiotics benefit children with autism spectrum disorders? *World J. Gastroenterol.* 2016; 22(46): 10093–1102. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i46.10093>
2. Vuong H.E., Hsiao E.Y. Emerging roles for the gut microbiome in autism spectrum disorder. *Biol. Psychiatry.* 2017; 81(5): 411–23. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.08.024>
3. Walker S.J., Fortunato J., Gonzalez L.G., Krigsman A. Identification of unique gene expression profile in children with regressive autism spectrum disorder (ASD) and ileocolitis. *PLoS One.* 2013; 8(3): e58058. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058058>
4. De Magistris L., Familiari V., Pascotto A., Sapone A., Frolli A., Iardino P., et al. Alterations of the intestinal barrier in patients with autism spectrum disorders and in their first-degree relatives. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2010; 51(4): 418–24. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181dccc4a5>
5. Kushak R.I., Buie T.M., Murray K.F., Newburg D.S., Chen C., Nestoridi E., et al. Evaluation of intestinal function in children with autism and gastrointestinal symptoms. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2016; 62(5): 687–91. <https://doi.org/10.1097/mpg.0000000000001174>
6. Hsiao E.Y., McBride S.W., Hsien S., Sharon G., Hyde E.R., McCue T., et al. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopment disorders. *Cell.* 2013; 155(7): 1451–63. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.11.024>
7. Ashwood P., Anthony A., Torrente F., Wakefield A.J. Spontaneous mucosal lymphocyte cytokine profiles in children with autism and gastrointestinal symptoms: Mucosal immune activation and reduced counter regulatory interleukin-10. *J. Clin. Immunol.* 2004; 24(6): 664–73. <https://doi.org/10.1007/s10875-004-6241-6>
8. Ashwood P., Wakefield A.J. Immune activation of peripheral blood and mucosal CD3+ lymphocyte cytokine profiles in children with autism and gastrointestinal symptoms. *J. Neuroimmunol.* 2006; 173(1-2): 126–34. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2005.12.007>
9. Li Q., Han Y., Dy A.B.C., Hagerman R. The gut microbiota and autism spectrum disorders. *Front. Cell. Neurosci.* 2017; 11: 120. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00120>
10. Ashwood P., Krakowiak P., Hertz-Picciotto I., Hansen R., Pesah I., Van de Water J. Elevated plasma cytokines in autism spectrum disorders provide evidence of immune dysfunction and are associated with impaired behavioral outcome. *Brain Behav. Immun.* 2011; 25(1): 40–5. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.08.003>
11. Onore C., Careaga M., Ashwood P. The role of immune dysfunction in the pathophysiology of autism. *Brain Behav. Immun.* 2012; 26(3): 383–392. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2011.08.007>
12. Doenys C. Gut microbiota, inflammation, and probiotics on neural development in autism spectrum disorder. *Neuroscience.* 2018; 374: 271–86. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.01.060>
13. Haba R., Shintani N., Onaka Y., Wang H., Takenaga R., Hayata A., et al. Lipopolysaccharide affects exploratory behaviors toward novel objects by impairing cognition and/or motivation in mice: Possible role of activation of the central amygdala. *Behav. Brain Res.* 2012; 228(2): 423–31. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.12.027>
14. Pan W., Yu C., Hsueh H., Kastin A.J. The role of cerebral vascular NF- κ B in LPS-induced inflammation: differential regulation of efflux transporter and transporting cytokine receptors. *Cell. Physiol. Biochem.* 2010; 25(6): 623–30. <https://doi.org/10.1159/000315081>
15. Emanuele E., Orsi P., Boso M., Brogna D., Brondino N., Barale F., et al. Low-grade endotoxemia in patients with severe au-

ОБЗОРЫ

- tism. *Neurosci. Lett.* 2010; 471(3): 162–5.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.01.033>
16. Marler S., Ferguson B.J., Lee E.B., Peters B., Williams K.C., McDonnell E., et al. Brief report: Whole blood serotonin levels and gastrointestinal symptoms in autism spectrum disorder. *J. Autism Dev. Disord.* 2016; 46(3): 1124–30.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.11.010>
17. Israelyan N., Margolis K.G. Serotonin as a link between the gut-brain-microbiome axis in autism spectrum disorders. *Pharmacol. Res.* 2018; 132: 1–6.
<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.03.020>
18. Mulder E.J., Anderson G.M., Kemperman R.F., Oosterloo-Duinkerken A., Minderaa R.B., Kema I.P. Urinary excretion of 5-hydroxyindoleacetic acid, serotonin and 6-sulphatoxymelatonin in normoserotonemic and hyperserotonemic autistic individuals. *Neuropsychobiology.* 2010; 61(1): 27–32.
<https://doi.org/10.1159/000258640>
19. Golubeva A.V., Joyce S.A., Moloney G., Burokas A., Sherwin E., Arbolea S., et al. Microbiota-related changes in bile acid & tryptophan metabolism are associated with gastrointestinal dysfunction in a mouse model of autism. *EBioMedicine* 2017; 24: 166–78. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.09.020>
20. Chugani D.C., Muzik O., Behen M., Rothermel R., Janisse J.J., Lee J., et al. Developmental changes in brain serotonin synthesis capacity in autistic and nonautistic children. *Ann. Neurol.* 1999; 45(3): 287–95.
[https://doi.org/10.1002/1531-8249\(199903\)45:3<287::aid-ana3>3.0.co;2-9](https://doi.org/10.1002/1531-8249(199903)45:3<287::aid-ana3>3.0.co;2-9)
21. De Theije C.G., Wu J., da Silva S.L., Kamphuis P.J., Garssen J., Korte S.M. Pathways underlying the gut-to-brain connection in autism spectrum disorders as future targets for disease management. *Eur. J. Pharmacol.* 2011; 668(Suppl. 1): S70–80.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.07.013>
22. Kraneveld A.D., Szklany K., de Theije C.G., Garssen J. Gut-to-brain axis in autism spectrum disorders: Central role for the microbiome. *Int. Rev. Neurobiol.* 2016; 131: 263–87.
<https://doi.org/10.1016/bs.irn.2016.09.001>
23. Muller C.L., Anacker A.M.J., Veenstra-VanderWeele J. The serotonin system in autism spectrum disorder: From biomarker to animal models. *Neuroscience.* 2016; 321: 24–41.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.11.010>
24. Li G., Young K.D. Indole production by the tryptophanase TnaA in *Escherichia coli* is determined by the amount of exogenous tryptophan. *Microbiology.* 2013; 159(Pt. 2): 402–10.
<https://doi.org/10.1099/mic.0.064139-0>
25. Strandwitz P. Neurotransmitter modulation by the gut microbiota. *Brain Res.* 2018; 1693(Pt. B): 128–33. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.03.015>
26. Олескин А.В., Эль-Регистан Г.И., Шендеров Б.А. Межмикробные химические взаимодействия и диалог микробиота-хозяин: роль нейромедиаторов. *Микробиология.* 2016; 85(1): 3–25. <https://doi.org/10.7868/S0026365616010080>
27. MacFabe D.F. Enteric short-chain fatty acids: Microbial messengers of metabolism, mitochondria, and mind: Implications in autism spectrum disorders. *Microb. Ecol. Health Dis.* 2015; 26: 28177. <https://doi.org/10.3402/mehd.v26.28177>
28. Wang L., Christophersen C.T., Sorich M.J., Gerber J.P., Angley M.T., Conlon M.A. Elevated fecal short chain fatty acid and ammonia concentrations in children with autism spectrum disorder. *Dig. Dis. Sci.* 2012; 57(8): 2096–102.
<https://doi.org/10.1007/s10620-012-2167-7>
29. Persico A.M., Napolioni V. Urinary p-cresol in autism spectrum disorder. *Neurotoxicol. Tertol.* 2013; 36: 82–90.
<https://doi.org/10.1016/j.ntt.2012.09.002>
30. Nicholson J.K., Holmes E., Kinross J., Burcelin R., Gibson G., Jia W., et al. Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science.* 2012; 336(6086): 1262–7.
<https://doi.org/10.1126/science.1223813>
31. Gabriele S., Sacco R., Cerullo S., Neri C., Urbani A., Tripi G., et al. Urinary p-cresol is elevated in young French children with autism spectrum disorder: A replication study. *Biomarkers.* 2014; 19(6): 463–70.
<https://doi.org/10.3109/1354750X.2014.936911>
32. Yang Y., Tian J., Yang B. Targeting gut microbiome: A novel and potential therapy for autism. *Life Sci.* 2018; 194: 111–9.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.12.027>
33. DeCastro M., Nankova B.B., Shah P., Patel P., Mally P.V., Mishra R., et al. Short chain fatty acids regulate tyrosine hydroxylase gene expression through a cAMP-dependent signaling pathway. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 2005; 142(1): 28–38.
<https://doi.org/10.1016/j.molbrainres.2005.09.002>
34. Thomas R.H., Meeking M.M., Mephram J.R., Tichenoff L., Possmayer F., Liu S., et al. The enteric bacterial metabolite propionic acid alters brain and plasma phospholipid molecular species: Further development of a rodent model of autism spectrum disorders. *J. Neuroinflammation.* 2012; 9: 153.
<https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-153>
35. Abdelli L.S., Samsam A., Naser S.A. Propionic acid induces gliosis and neuro-inflammation through modulation of PTEN/AKT pathway in autism spectrum disorder. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 8824. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45348-z>
36. Hong J., Jia Y., Pan S., Jia L., Li H., Han Z., et al. Butyrate alleviates high fat diet-induced obesity through activation of adiponectin-mediated pathway and stimulation of mitochondrial function in the skeletal muscle of mice. *Oncotarget.* 2016; 7(35): 56071–82. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11267>
37. Govindarajan N., Agis-Balboa R.C., Walter J., Sananbenesi F., Fischer A. Sodium butyrate improves memory function in an Alzheimer's disease mouse model when administered at an advanced stage of disease progression. *J. Alzheimers Dis.* 2011; 26(1): 187–97. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-110080>
38. Sun J., Wang F., Hong G., Pang M., Xu H., Li H., et al. Antidepressant-like effects of sodium butyrate and its possible mechanisms of action in mice exposed to chronic unpredictable mild stress. *Neurosci. Lett.* 2016; 618: 159–66.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.03.003>
39. Rose S., Bennuri S.C., Davis J.E., Wynne R., Slattery J.C., Tippett M., et al. Butyrate enhances mitochondrial function during oxidative stress in cell lines from boys with autism. *Transl. Psychiatry.* 2018; 8(1): 42. <https://doi.org/10.1038/s41398-017-0089-z>
40. Kratsman N., Getselter D., Elliott E. Sodium butyrate attenuates social behavior deficits and modifies the transcription of inhibitory/excitatory genes in the frontal cortex of an autism model. *Neuropharmacology.* 2016; 102: 136–45.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.11.003>
41. Ming X., Stein T.P., Barnes V., Rhodes N., Guo L. Metabolic perturbation in autism spectrum disorders: A metabolomics study. *J. Proteome Res.* 2012; 11(12): 5856–62.
<https://doi.org/10.1021/pr300910n>
42. Shimmura C., Suda S., Tsuchiya K.J., Hashimoto K., Ohno K., Matsuzaki H., et al. Alteration of plasma glutamate and glutamine levels in children with high-functioning autism. *PLoS One.* 2011; 6(10): e25340.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025340>
43. Engevik M.A., Morra C.N., Röth D., Engevik K., Spinler J.K., Devaraj S., et al. Microbial metabolic capacity for intestinal folate production and modulation of host folate receptors. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 2305.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02305>
44. Sun C., Zou M., Zhao D., Xia W., Wu L. Efficacy of folic acid supplementation in autistic children participating in structured teaching: an open-label trial. *Nutrients.* 2016; 8(6): 337.
<https://doi.org/10.3390/nu8060337>
45. Belik J., Shifrin Y., Arning E., Bottiglieri T., Pan J., Daigneault M.C., et al. Intestinal microbiota as a tetrahydrobiopterin exogenous source in hph-1 mice. *Sci. Rep.* 2017; 7: 39854.
<https://doi.org/10.1038/srep39854>

46. Frye R.E., Huffman L.C., Elliott G.R. Tetrahydrobiopterin as a novel therapeutic intervention for autism. *Neurotherapeutics*. 2010; 7(3): 241–9. <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2010.05.004>
47. Rhee S.H., Pothoulakis C., Mayer E.A. Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2009; 6(5): 306–14. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2009.35>
48. Mayer E.A., Padua D., Tillisch K. Altered brain-gut axis in autism: Comorbidity or causative mechanisms? *Bioessays*. 2014; 36: 933–9. <https://doi.org/10.1002/bies.201400075>
49. Mangiola F., Ianiro G., Franceschi F., Fagioli S., Gasbarrini G., Gasbarrini A. Gut microbiota in autism and mood disorders. *World J. Gastroenterol.* 2016; 22(1): 361–8. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i1.361>
50. Олескин А.В., Шендеров Б.А., Роговский В.С. Социальность микроорганизмов и взаимоотношения в системе микробиота-хозяин: роль нейромедиаторов. М.; 2019.
51. Onore C., Careaga M., Ashwood P. The role of immune dysfunction in the pathophysiology of autism. *Brain Behav. Immun.* 2012; 26(3): 383–92. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2011.08.007>
52. Hughes H.K., Rose D., Ashwood P. The gut microbiota and dysbiosis in autism spectrum disorders. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 2018; 18(11): 81. <https://doi.org/10.1007/s11910-018-0887-6>
53. Umbrello G., Esposito S. Microbiota and neurologic diseases: Potential effects of probiotics. *J. Transl. Med.* 2016; 14(1): 298. <https://doi.org/10.1186/s12967-016-1058-7>
1. Navarro F., Liu Y., Rhoads J.M. Can probiotics benefit children with autism spectrum disorders? *World J. Gastroenterol.* 2016; 22(46): 10093–1102. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i46.10093>
2. Vuong H.E., Hsiao E.Y. Emerging roles for the gut microbiome in autism spectrum disorder. *Biol. Psychiatry*. 2017; 81(5): 411–23. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.08.024>
3. Walker S.J., Fortunato J., Gonzalez L.G., Krigsman A. Identification of unique gene expression profile in children with regressive autism spectrum disorder (ASD) and ileocolitis. *PLoS One*. 2013; 8(3): e58058. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058058>
4. De Magistris L., Familiari V., Pascotto A., Sapone A., Frolli A., Iardino P., et al. Alterations of the intestinal barrier in patients with autism spectrum disorders and in their first-degree relatives. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2010; 51(4): 418–24. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3181dce4a5>
5. Kushak R.I., Buie T.M., Murray K.F., Newburg D.S., Chen C., Nestoridi E., et al. Evaluation of intestinal function in children with autism and gastrointestinal symptoms. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2016; 62(5): 687–91. <https://doi.org/10.1097/mpg.0000000000001174>
6. Hsiao E.Y., McBride S.W., Hsien S., Sharon G., Hyde E.R., McCue T., et al. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopment disorders. *Cell*. 2013; 155(7): 1451–63. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.11.024>
7. Ashwood P., Anthony A., Torrente F., Wakefield A.J. Spontaneous mucosal lymphocyte cytokine profiles in children with autism and gastrointestinal symptoms: Mucosal immune activation and reduced counter regulatory interleukin-10. *J. Clin. Immunol.* 2004; 24(6): 664–73. <https://doi.org/10.1007/s10875-004-6241-6>
8. Ashwood P., Wakefield A.J. Immune activation of peripheral blood and mucosal CD3+ lymphocyte cytokine profiles in children with autism and gastrointestinal symptoms. *J. Neuroimmunol.* 2006; 173(1-2): 126–34. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2005.12.007>
9. Li Q., Han Y., Dy A.B.C., Hagerman R. The gut microbiota and autism spectrum disorders. *Front. Cell. Neurosci.* 2017; 11: 120. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00120>
10. Ashwood P., Krakowiak P., Hertz-Picciotto I., Hansen R., Pes-sah I., Van de Water J. Elevated plasma cytokines in autism spectrum disorders provide evidence of immune dysfunction and are associated with impaired behavioral outcome. *Brain Behav. Immun.* 2011; 25(1): 40–5. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.08.003>
11. Onore C., Careaga M., Ashwood P. The role of immune dysfunction in the pathophysiology of autism. *Brain Behav. Immun.* 2012; 26(3): 383–92. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2011.08.007>
12. Doenys C. Gut microbiota, inflammation, and probiotics on neural development in autism spectrum disorder. *Neuroscience*. 2018; 374: 271–86. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.01.060>
13. Haba R., Shintani N., Onaka Y., Wang H., Takenaga R., Haya-ta A., et al. Lipopolysaccharide affects exploratory behaviors toward novel objects by impairing cognition and/or motivation in mice: Possible role of activation of the central amygdala. *Behav. Brain Res.* 2012; 228(2): 423–31. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.12.027>
14. Pan W., Yu C., Hsueh H., Kastin A.J. The role of cerebral vascular NFκB in LPS-induced inflammation: differential regulation of efflux transporter and transporting cytokine receptors. *Cell. Physiol. Biochem.* 2010; 25(6): 623–30. <https://doi.org/10.1159/000315081>
15. Emanuele E., Orsi P., Boso M., Broglia D., Brondino N., Barale F., et al. Low-grade endotoxemia in patients with severe autism. *Neurosci. Lett.* 2010; 471(3): 162–5. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.01.033>
16. Marler S., Ferguson B.J., Lee E.B., Peters B., Williams K.C., McDonnell E., et al. Brief report: Whole blood serotonin levels and gastrointestinal symptoms in autism spectrum disorder. *J. Autism Dev. Disord.* 2016; 46(3): 1124–30. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.11.010>
17. Israelyan N., Margolis K.G. Serotonin as a link between the gut-brain-microbiome axis in autism spectrum disorders. *Pharmacol. Res.* 2018; 132: 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.03.020>
18. Mulder E.J., Anderson G.M., Kemperman R.F., Oosterloo-Duinkerken A., Minderaa R.B., Kema I.P. Urinary excretion of 5-hydroxyindoleacetic acid, serotonin and 6-sulphatoxymelatonin in normoserotonemic and hyperserotonemic autistic individuals. *Neuropsychobiology*. 2010; 61(1): 27–32. <https://doi.org/10.1159/000258640>
19. Golubeva A.V., Joyce S.A., Moloney G., Burokas A., Sherwin E., Arboleya S., et al. Microbiota-related changes in bile acid & tryptophan metabolism are associated with gastrointestinal dysfunction in a mouse model of autism. *EBioMedicine* 2017; 24: 166–78. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.09.020>
20. Chugani D.C., Muzik O., Behen M., Rothermel R., Janisse J.J., Lee J., et al. Developmental changes in brain serotonin synthesis capacity in autistic and nonautistic children. *Ann. Neurol.* 1999; 45(3): 287–95. [https://doi.org/10.1002/1531-8249\(199903\)45:3<287::aid-ana3>3.0.co;2-9](https://doi.org/10.1002/1531-8249(199903)45:3<287::aid-ana3>3.0.co;2-9)
21. De Theije C.G., Wu J., da Silva S.L., Kamphuis P.J., Garssen J., Korte S.M. Pathways underlying the gut-to-brain connection in autism spectrum disorders as future targets for disease management. *Eur. J. Pharmacol.* 2011; 668(Suppl. 1): S70–80. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.07.013>
22. Kraneveld A.D., Szklany K., de Theije C.G., Garssen J. Gut-to-brain axis in autism spectrum disorders: Central role for the microbiome. *Int. Rev. Neurobiol.* 2016; 131: 263–87. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2016.09.001>
23. Muller C.L., Anacker A.M.J., Veenstra-VanderWeele J. The serotonin system in autism spectrum disorder: From biomarker to

ОБЗОРЫ

- animal models. *Neuroscience*. 2016; 321: 24–41. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.11.010>
24. Li G., Young K.D. Indole production by the tryptophanase TnaA in *Escherichia coli* is determined by the amount of exogenous tryptophan. *Microbiology*. 2013; 159(Pt. 2): 402–10. <https://doi.org/10.1099/mic.0.064139-0>
25. Strandwitz P. Neurotransmitter modulation by the gut microbiota. *Brain Res*. 2018; 1693(Pt. B): 128–33. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.03.015>
26. Oleskin A.V., El'-Registan G.I., Shenderov B.A. Role of neuro-mediators in the functioning of the human microbiota: "business talks" among microorganisms and the microbiota-host dialogue. *Mikrobiologiya*. 2016; 85(1): 3–25. <https://doi.org/10.7868/S0026365616010080> (in Russian)
27. MacFabe D.F. Enteric short-chain fatty acids: Microbial messengers of metabolism, mitochondria, and mind: Implications in autism spectrum disorders. *Microb. Ecol. Health Dis.* 2015; 26: 28177. <https://doi.org/10.3402/mehd.v26.28177>
28. Wang L., Christophersen C.T., Sorich M.J., Gerber J.P., Angley M.T., Conlon M.A. Elevated fecal short chain fatty acid and ammonia concentrations in children with autism spectrum disorder. *Dig. Dis. Sci.* 2012; 57(8): 2096–102. <https://doi.org/10.1007/s10620-012-2167-7>
29. Persico A.M., Napolioni V. Urinary p-cresol in autism spectrum disorder. *Neurotoxicol. Teratol.* 2013; 36: 82–90. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2012.09.002>
30. Nicholson J.K., Holmes E., Kinross J., Burcelin R., Gibson G., Jia W., et al. Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*. 2012; 336(6086): 1262–7. <https://doi.org/10.1126/science.1223813>
31. Gabriele S., Sacco R., Cerullo S., Neri C., Urbani A., Tripi G., et al. Urinary p-cresol is elevated in young French children with autism spectrum disorder: A replication study. *Biomarkers*. 2014; 19(6): 463–70. <https://doi.org/10.3109/1354750X.2014.936911>
32. Yang Y., Tian J., Yang B. Targeting gut microbiome: A novel and potential therapy for autism. *Life Sci*. 2018; 194: 111–9. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.12.027>
33. DeCastro M., Nankova B.B., Shah P., Patel P., Mally P.V., Mishra R., et al. Short chain fatty acids regulate tyrosine hydroxylase gene expression through a cAMP-dependent signaling pathway. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 2005; 142(1): 28–38. <https://doi.org/10.1016/j.molbrainres.2005.09.002>
34. Thomas R.H., Meeking M.M., Mephram J.R., Tichenoff L., Possmayer F., Liu S., et al. The enteric bacterial metabolite propionic acid alters brain and plasma phospholipid molecular species: Further development of a rodent model of autism spectrum disorders. *J. Neuroinflammation*. 2012; 9: 153. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-153>
35. Abdelli L.S., Samsam A., Naser S.A. Propionic acid induces gliosis and neuro-inflammation through modulation of PTEN/AKT pathway in autism spectrum disorder. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 8824. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45348-z>
36. Hong J., Jia Y., Pan S., Jia L., Li H., Han Z., et al. Butyrate alleviates high fat diet-induced obesity through activation of adiponectin-mediated pathway and stimulation of mitochondrial function in the skeletal muscle of mice. *Oncotarget*. 2016; 7(35): 56071–82. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11267>
37. Govindarajan N., Agis-Balboa R.C., Walter J., Sananbenesi F., Fischer A. Sodium butyrate improves memory function in an Alzheimer's disease mouse model when administered at an advanced stage of disease progression. *J. Alzheimers Dis.* 2011; 26(1): 187–97. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-110080>
38. Sun J., Wang F., Hong G., Pang M., Xu H., Li H., et al. Antidepressant-like effects of sodium butyrate and its possible mechanisms of action in mice exposed to chronic unpredictable mild stress. *Neurosci. Lett.* 2016; 618: 159–66. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.03.003>
39. Rose S., Bennuri S.C., Davis J.E., Wynne R., Slattery J.C., Tippet M., et al. Butyrate enhances mitochondrial function during oxidative stress in cell lines from boys with autism. *Transl. Psychiatry*. 2018; 8(1): 42. <https://doi.org/10.1038/s41398-017-0089-z>
40. Kratsman N., Getselter D., Elliott E. Sodium butyrate attenuates social behavior deficits and modifies the transcription of inhibitory/excitatory genes in the frontal cortex of an autism model. *Neuropharmacology*. 2016; 102: 136–45. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.11.003>
41. Ming X., Stein T.P., Barnes V., Rhodes N., Guo L. Metabolic perturbation in autism spectrum disorders: A metabolomics study. *J. Proteome Res.* 2012; 11(12): 5856–62. <https://doi.org/10.1021/pr300910n>
42. Shimmura C., Suda S., Tsuchiya K.J., Hashimoto K., Ohno K., Matsuzaki H., et al. Alteration of plasma glutamate and glutamine levels in children with high-functioning autism. *PLoS One*. 2011; 6(10): e25340. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025340>
43. Engevik M.A., Morra C.N., Röth D., Engevik K., Spinler J.K., Devaraj S., et al. Microbial metabolic capacity for intestinal folate production and modulation of host folate receptors. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 2305. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02305>
44. Sun C., Zou M., Zhao D., Xia W., Wu L. Efficacy of folic acid supplementation in autistic children participating in structured teaching: an open-label trial. *Nutrients*. 2016; 8(6): 337. <https://doi.org/10.3390/nu8060337>
45. Belik J., Shifrin Y., Arning E., Bottiglieri T., Pan J., Daigneault M.C., et al. Intestinal microbiota as a tetrahydrobiopterin exogenous source in hph-1 mice. *Sci. Rep.* 2017; 7: 39854. <https://doi.org/10.1038/srep39854>
46. Frye R.E., Huffman L.C., Elliott G.R. Tetrahydrobiopterin as a novel therapeutic intervention for autism. *Neurotherapeutics*. 2010; 7(3): 241–9. <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2010.05.004>
47. Rhee S.H., Pothoulakis C., Mayer E.A. Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2009; 6(5): 306–14. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2009.35>
48. Mayer E.A., Padua D., Tillisch K. Altered brain-gut axis in autism: Comorbidity or causative mechanisms? *Bioessays*. 2014; 36: 933–9. <https://doi.org/10.1002/bies.201400075>
49. Mangiola F., Ianiro G., Franceschi F., Fagioli S., Gasbarrini G., Gasbarrini A. Gut microbiota in autism and mood disorders. *World J. Gastroenterol.* 2016; 22(1): 361–8. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i1.361>
50. Oleskin A.V., Shenderov B.A., Rogovskiy V.S. *Sociality of Microorganisms and Relationships in the Microbiota-Host System: The Role of Neurotransmitters [Sotsial'nost' mikroorganizmov i vzaimootnosheniya v sisteme mikrobiota-khozyain: rol' neyromediatorov]*. Moscow; 2019. (in Russian)
51. Onore C., Careaga M., Ashwood P. The role of immune dysfunction in the pathophysiology of autism. *Brain Behav. Immun.* 2012; 26(3): 383–92. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2011.08.007>
52. Hughes H.K., Rose D., Ashwood P. The gut microbiota and dysbiosis in autism spectrum disorders. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 2018; 18(11): 81. <https://doi.org/10.1007/s11910-018-0887-6>
53. Umbrello G., Esposito S. Microbiota and neurologic diseases: Potential effects of probiotics. *J. Transl. Med.* 2016; 14(1): 298. <https://doi.org/10.1186/s12967-016-1058-7>

Информация об авторах

Благонравова Анна Сергеевна — д.м.н., доц., проректор по научной работе, проф. каф. эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины ПИМУ, Нижний Новгород, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1467-049X>

Жилыева Татьяна Владимировна — к.м.н., доц. каф. психиатрии ПИМУ, Нижний Новгород, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6155-1007>

Квашнина Дарья Валерьевна[✉] — к.м.н., старший преподаватель каф. эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины ПИМУ, Нижний Новгород, Россия, darja_tsariova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9317-4816>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 09.07.2020;
принята к публикации 06.10.2020;
опубликована 25.02.2021.

Information about the authors

Anna S. Blagonravova — D. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Vice-rector for research, prof., Department of epidemiology, microbiology and evidence-based medicine, Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1467-049X>

Tatyana V. Zhilyaeva — PhD. (Med.), Assoc. Prof., Department of psychiatry, Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6155-1007>

Darya V. Kvashnina[✉] — PhD. (Med.), senior lecturer, Department of epidemiology, microbiology and evidence-based medicine, Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russia, darja_tsariova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9317-4816>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 09.07.2020;
accepted for publication 06.10.2020;
published 25.02.2021.



Риккетсиозы в регионе Нижнего Поволжья

Углева С.В.[✉], Шабалина С.В.

Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Аннотация

Цель настоящего обзора — описать особенности эпидемиологии и клиники риккетсиозов в Нижнем Поволжье.

Материалы и методы. Были отобраны и проанализированы научные работы по поисковым электронным базам данных (Web of Science, PubMed, eLIBRARY и ResearchGate). Из 256 найденных источников авторами с учётом ключевых слов были отобраны 87, после анализа литературы в настоящее исследование в соответствии с темой работы были включены 30 источников.

Результаты. На территории Нижнего Поволжья, в том числе Астраханской области, регистрируются два вида риккетсиоза: риккетсиоз из группы клещевых пятнистых лихорадок — Астраханская пятнистая лихорадка (АПЛ) и Ку-лихорадка (коксиеллёз). АПЛ — сравнительно новый риккетсиоз, распространённый в бассейне Каспийского моря, по пойме р. Волги до Волгограда с захватом степей Калмыкии. Ку-лихорадка регистрируется во многих странах мира, а в России по важности и распространённости занимает одно из первых мест среди эндемичных заболеваний. Представлена также клиническая характеристика данных риккетсиозов.

Заключение. Изучение эпидемиологии и клиники риккетсиозных инфекций сохраняет свою актуальность.

Ключевые слова: риккетсиоз, Астраханская пятнистая лихорадка, Ку-лихорадка, коксиеллёз, Астраханская область

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

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

Для цитирования: Углева С.В., Шабалина С.В. Риккетсиозы в регионе Нижнего Поволжья. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2021; 98(2): 231–238.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-60>

Review article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-60>

Rickettsioses in the Lower Volga region

Svetlana V. Ugleva[✉], Svetlana V. Shabalina

Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

Abstract

The **aim** of this work was to describe the features of the epidemiology and clinic of rickettsioses at the Lower Volga region.

Materials and methods. Scientific papers on searchable electronic databases (Web of Science, PubMed, eLIBRARY and ResearchGate) were selected and analyzed. Of the 256 found sources, the authors selected 87, taking into account the keywords, after an analysis of the selected literature, 30 sources were included in the present study in accordance with the topic of the work.

Results. On the territory of the Lower Volga region, including the Astrakhan region, two rickettsioses are recorded: rickettsiosis from the tick-borne spotted fevers group — Astrakhan spotted fever (APL) and Q fever (coxiellosis). APL is a relatively new rickettsiosis common in the Caspian Sea basin, along the floodplain of the river Volga to Volgograd, capturing the steppes of Kalmykia. Q fever is recorded in many countries of the world, and in Russia, in terms of its importance and distribution, it occupies one of the first places among endemic diseases. The clinical characteristics of these rickettsioses are also presented.

Conclusions. The study of the epidemiology and clinic of rickettsial infections remains relevant.

Keywords: rickettsiosis, Astrakhan spotted fever, Q fever, coxiellosis, Astrakhan region

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Ugleva S.V., Shabalina S.V. Rickettsioses in the Lower Volga region. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2021; 98(2): 231–238. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-60>

Введение

Территория Нижнего Поволжья, в частности Астраханская область (АО), характеризуется особыми географическими, климатическими и экологическими условиями, которые, в свою очередь, влияют на эволюцию эпидемического процесса природно-очаговых болезней [1]. В результате социально-экономических и экологических преобразований, перестройки агропромышленного комплекса происходят глубокие изменения в природных очагах, что приводит к переходу их в природно-антропоургические очаги и росту заболеваемости [2].

Риккетсиозы — большая группа трансмиссивных острых лихорадочных инфекционных болезней, которые вызываются внутриклеточными возбудителями — риккетсиями и микроорганизмами, близкородственными к ним (бартонеллами, эрлихиями, коксииллами), и имеют ряд общих патогенетических, патоморфологических, эпидемиологических, клинических и иммунологических характеристик [3–5].

Важную роль в систематизации и изучении риккетсиозов сыграл русский учёный П.Ф. Здродовский (1890–1976), неоспоримый вклад в развитие отечественной риккетсиологии также внесла академик РАМН И.В. Тарасевич [6, 7]. В результате установлено, что риккетсии являются неподвижными, за исключением *R. conorii* и *R. sibirica*, плеоморфными грамотрицательными бактериоподобными микроорганизмами, паразитирующими на членистоногих различных видов [5]. Патогенные для человека и животных риккетсии относятся к отряду *Rickettsiales*, семейству *Rickettsiaceae* [4, 8].

На территории Нижнего Поволжья регистрируются два риккетсиоза: риккетсиоз из группы клещевых пятнистых лихорадок — Астраханская пятнистая лихорадка (АПЛ) и Ку-лихорадка (коксииллаз) [2, 9–15].

Материалы и методы

Были отобраны и проанализированы научные работы по поисковым электронным базам данных (Web of Science, PubMed, eLIBRARY и ResearchGate). Из 256 найденных источников авторами с учётом ключевых слов были отобраны 87, после анализа литературы в настоящее исследование в соответствии с темой работы были включены 30 источников.

Астраханская пятнистая лихорадка

АПЛ — острое инфекционное природно-очаговое заболевание, характеризующееся лихорадочным состоянием, миалгией, артралгией, розеолезно-папулезной и геморрагической сыпью [6, 16]. Это облигатно-трансмиссивная инфекция, возбудитель которой (*R. conorii* subsp. *caspia*) относится к генокомплексу *R. conorii* и передаётся человеку клещами *Rhipicephalus pumilio*. Код по МКБ-10 А77.1 — пятнистая лихорадка, вызываемая видом *R. conorii*. АПЛ является эндемическим природно-очаговым заболеванием, характерным преимущественно для АО [17]. Следует отметить, что данный риккетсиоз регистрируют также в Республике Калмыкия, предполагается его наличие в Волгоградской области и Западном Казахстане. Кроме этого ежегодно выявляют, как правило, несколько завозных случаев заболевания в Москве и Санкт-Петербурге [6, 17].

С конца 1970-х гг. началось изучение АПЛ, когда стали регистрироваться случаи лихорадочного заболевания неясного генеза, первоначально расценивавшегося как вирусная экзантема, иногда как псевдотуберкулёз [16]. С 1983 по 1988 г. число случаев заболевания увеличилось в 20 раз [10]. Так, с 1978 по 1981 г. были выявлены 32 случая болезни, в 1982 г. заболели 47 человек, а с 1983 по 1999 г. зарегистрировано 1860 эпизодов данного заболевания [10, 16]. За 2000–2018 гг. уровень заболеваемости АПЛ возрос в 3 раза: с 13 до 38,9 на 100 тыс. населения [1]. С 2000 по 2018 г. было зарегистрировано 4403 случая АПЛ с лабораторным подтверждением в 100% случаев [1, 16]. Первые случаи заболевания АПЛ начали выявлять только в Красноярском районе АО, а к концу 1990-х гг. они уже регистрировались в 9 из 11 сельских районов и в Астрахани [1, 10, 18]. Следует отметить, что случаи заболевания АПЛ ежегодно регистрировались в 6–9 новых населённых пунктах АО. В 1998 г. случаи заболевания были выявлены в Московской области у лиц, инфицированных в период пребывания в эндемическом очаге АО [6].

В результате многолетнего изучения возбудителя АПЛ в 1990 г. удалось подтвердить риккетсиозную этиологию заболевания [16, 19]. Однако только в 2002 г. генетические исследования возбудителя АПЛ позволили отнести его к новому виду — *R. conorii* subsp. *caspiensis* [17, 20]. Роль иксодовых клещей рода *Rhipicephalus pumilio* в качестве переносчика АПЛ доказана в 1992 г. исследователями

НИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, когда среди 196 экземпляров клещей было идентифицировано 8 штаммов риккетсий астраханского подвида [17, 18].

Источником и резервуаром при АПЛ являются дикие и домашние животные (собаки, кошки, ежи). Человек заражается в природном очаге через присасывание взрослого клеща *Rhipicephalus pumilio* [1, 6, 10, 18].

Заболеемость АПЛ на территории Нижнего Поволжья регистрировалась ежегодно, причём чётко проявлялся её рост за последние 40 лет. По данным эпизоотологического мониторинга, численность переносчика АПЛ с каждым годом увеличивается в среднем в 1,5–2,0 раза. Сезон паразитирования составляет 120–150 дней [1, 16].

Наиболее высокоактивные очаги АПЛ (очень высокого риска заражения) располагаются в Волго-Ахтубинской пойме, Дельтовой и Волго-Уральской ландшафтных зонах — среднемноголетний показатель заболеваемости в них — $84,9 \pm 5,6$ на 100 тыс. населения [1]. В зону с очень низким риском заражения вошли территории Ахтубинского и Черноярского районов — это северные районы Астраханской области, расположенные в пустынной ландшафтно-географической зоне (среднемноголетний показатель заболеваемости — $3,0 \pm 0,8$ на 100 тыс. населения) [1].

Заболеемость АПЛ носит выраженный сезонный характер — с апреля по октябрь; наибольший уровень приходится на август–сентябрь. В апреле число больных АПЛ по сравнению с мартом резко возрастает как в городской, так и в сельской местности. На высоте эпидемического сезона индекс обилия клещей *Rhipicephalus pumilio* резко снижается, а подъём заболеваемости обеспечивается за счёт их ювенальных форм. Это подтверждается регистрацией обратившихся с присасыванием клеща (определением личинок и нимф) с 1-й декады августа по 3-ю декаду сентября. С учётом сроков начала и окончания заболеваемости АПЛ можно сделать вывод о том, что эпидемический год за исследуемый период заключён в интервале с мая по апрель. Межсезонный период приходится на декабрь–март и характеризуется полным отсутствием случаев болезни [1, 16].

АПЛ болеют в основном взрослые (80%), чаще мужчины (57,6%). Подвержены заболеванию все возрастные группы, но наибольшее число случаев приходится на 40–49 (19,2%) и 60–69 лет (18,8%) (средние показатели 2000–2018 гг.). Заражение происходит при нахождении на огородах, рыбной ловле, дачах, охоте, отдыхе на природе [1, 16].

Ежегодно регистрируется заболеваемость детского населения. Удельный вес её составляет 20%, в возрастной группе преобладают дети школьного возраста — 7–14 лет (67%). Это происходит в связи с активизацией детского летнего отдыха, т.к. летом дети активно играют с собаками, ловят ежей.

Заболеевание регистрировалось во всех социально-профессиональных группах населения АО.

Динамика заболеваемости АПЛ совпадает с периодом активности клещей *Rhipicephalus pumilio*, которые являются переносчиками и, в силу трансовариальной передачи возбудителя своему потомству, источниками инфекции [6, 11]. Наблюдается прямая зависимость между численностью переносчика АПЛ, количеством обратившихся лиц с присасыванием клещей и заболеваемостью [1].

Течение АПЛ включает в себя несколько периодов: инкубационный, начальный, разгар и реконвалесценцию [2, 19].

Инкубационный период колеблется от нескольких дней до 1 мес, составляя чаще всего 1–2 нед. Граница между инкубационным и начальным периодами — появление лихорадки — всегда бывает выражена чётко, хотя так называемый «первичный аффект», который можно считать первым признаком болезни, формируется значительно раньше. Первичный аффект представляет собой участок воспаления в виде безболезненного инфильтрата размерами от 5–6 до 8–10 мм с некрозом в центре, покрытым светло- или тёмно-коричневой корочкой. Этот местный процесс является следствием развития и размножения риккетсий с выделением ими токсина [16]. Эволюция первичного аффекта проявляется постепенным угасанием яркости воспалительной окраски, уменьшением отёчности, завершаясь на 8–23-й день точечной поверхностной атрофией на месте отторгнувшейся корочки [2, 20].

Начальный (доэкзематозный период) АПЛ длится 2–6 дней. Он начинается с повышения температуры и появления чувства жара, головной боли, суставных и мышечных болей, снижения аппетита. Все эти явления прогрессивно нарастают: температура уже с 1-х суток болезни достигает 39–40°C, нередко отмечаются повторные ознобы, а увеличивающиеся общая слабость, интенсивные артромиалгии приводят к снижению подвижности заболевших. На 3–7-й день лихорадки появляется сыпь, которая является патогномичным признаком при АПЛ. Болезнь переходит в период разгара, что сопровождается усилением симптомов интоксикации. Сыпь имеет симметричный распространенный характер с локализацией на коже туловища (главным образом переднебоковых отделов), верхних (преимущественно на сгибательных поверхностях) и нижних конечностях, включая ладони и подошвы. Сыпь на коже лица встречается редко — в случаях с более выраженной интоксикацией [2, 20].

По степени тяжести АПЛ может иметь лёгкое, среднетяжёлое и тяжёлое течение. В последние годы доля тяжёлых случаев АПЛ составила 5,3% от общего количества заболеваний этой лихорадкой. Факторами, способствующими тяжёлому течению

АПЛ, стали пожилой возраст, сопутствующие заболевания, иммунодефицитные состояния. Летальные случаи впервые начали регистрироваться с 2013 г., летальность составила $1,4 \pm 0,4\%$ [2, 19, 20]. Клиническая картина тяжёлого течения характеризуется наиболее высокой лихорадкой и выраженной интоксикацией. Больные предъявляют жалобы на сильнейшие головные, мышечные, суставные боли и резкую слабость, анорексию вплоть до полного отказа от приёма пищи в течение нескольких дней. Происходит быстрая и значительная потеря массы тела. Отмечаются ранняя обильная распространённая сыпь с преобладанием геморрагических элементов, приобретающих порой сливной характер, положительный симптом жгута. Характерно появление розеолезно-папулезных высыпаний на лице. Выявляется значительная протеинурия.

Случаи АПЛ с тяжёлым течением регистрируются с различными осложнениями — пневмонией, токсическими миокардитами, инфекционно-токсическим шоком. Часто присоединяются острая почечная недостаточность и острая печёночная энцефалопатия. В отдельных случаях у больных имела место острая полиорганная недостаточность, явившаяся причиной летальных исходов от данного заболевания [20].

Ку-лихорадка (коксиеллёз)

Ку-лихорадка — это название нозологической формы (код по МКБ-10 — А78), однако ввиду того, что за последние десятилетия этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика болезни во многом расшифрованы, её называют также коксиеллёзом по роду возбудителя, как предложил в 1953 г. болгарский учёный С. Ангелов [21]. Название «Q-лихорадка» (от англ. *queer* — неясный) предложил Э. Деррик, впервые в 1937 г. описавший заболевание у фермеров и рабочих мясных фабрик в Австралии [21]. Риккетсиозную этиологию заболевания установили Ф.М. Бернет и М. Фриман (1939 г.). Независимо от австралийских исследователей в США Х. Кокс выделил фильтрующий агент из клещей-переносчиков пятнистой лихорадки Скалистых гор и доказал в 1938 г. его риккетсиозную природу. Позднее возбудитель был выделен в отдельный род риккетсий, названный в честь учёного *Coxiella*. В России очаги заболевания известны с 1952 г. и распространены повсеместно; в 1960-х гг. их изучили П.Ф. Здродовский, М.П. Чумаков, Е.Н. Барташевич и др. [21]. Возбудителем болезни являются бактерии вида *Coxiella burnetii*, которые относятся к классу гамма-протеобактерий, порядку *Legionellales*, семейству *Coxiellaceae*, роду *Coxiella* (II группа патогенности) [22].

Коксиеллёз — природно-очаговое заболевание с разнообразными механизмами и путями передачи возбудителя в его природных биотопах [23]. Оно

представляет собой важную медико-социальную проблему в связи с широким распространением микроорганизма в различных климато-географических зонах России, многообразием путей передачи инфекции (воздушно-пылевой, пищевой, контактный), профессиональным характером заражения лиц, занятых в животноводстве [24]. Основное эпидемическое и эпизоотическое неблагополучие по коксиеллёзу определяют основные носители возбудителя — сельскохозяйственные животные [22].

Ку-лихорадка регистрируется во многих странах мира, а в России по своей важности и распространению занимает одно из первых мест среди эндемичных заболеваний [21]. Из 89 субъектов РФ болезнь регистрируется в 50.

В России обязательная регистрация Ку-лихорадки проводится с 1957 г. По данным, представленным Федеральным центром гигиены и эпидемиологии, за период с 1957 по 2013 г. официально зарегистрировано 13 111 случаев заболеваний, причём за 25 лет (с 1994 по 2013 г.) — 2542 случая при показателе заболеваемости немногим менее 0,1 на 100 тыс. населения [24]. Исходя из показателей заболеваемости Ку-лихорадкой по России можно говорить о её спорадическом характере. При этом основное количество выявленных случаев Ку-лихорадки приходится на Южный федеральный округ [24].

По официальным данным в РФ более 80% случаев Ку-лихорадки отмечалось в АО [21]: уровень заболеваемости за 1998–2018 гг. составил 8,03 на 100 тыс. населения [24, 25]. Показатель заболеваемости в России — 0,08 на 100 тыс. населения [24, 26].

В эпидемиологическом отношении коксиеллёз представляет собой своеобразную зоонозную инфекцию с наличием 2 типов очагов — первичных (природных) и вторичных — антропоургических (как правило, сельскохозяйственных). Резервуарами патогена в природе и, следовательно, источниками инфекции могут служить более 96 видов диких теплокровных животных. Последние, являясь донорами возбудителя для клещей, выделяют его во внешнюю среду с мочой и фекалиями. Мелкие млекопитающие (в основном мышевидные грызуны) редко служат непосредственным источником этой инфекции для человека, однако не исключены случаи заражения при разделке туш, а также при работе в вивариях, в том числе при контакте с сырьём растительного происхождения, загрязнённым экскрементами инфицированных грызунов [27].

Основным резервуаром и источником инфекции для человека служат домашние и одомашненные животные (кошки, собаки, крупный рогатый скот, козы, овцы, лошади, ослы, мулы, верблюды, олени, буйволы и др.). Наиболее опасны в этом отношении козы и овцы, заражающиеся как в природных очагах от инфицированных клещей, так и в

местах сельских хозяйств — при совместном содержании с больными животными. У домашних животных коксиеллёз часто протекает как латентная инфекция, обостряющаяся в период беременности и родов. Длительность выделения коксиелл (с молоком, испражнениями) колеблется от 2 мес до 2 лет. Особую опасность представляют плацента и околоплодная жидкость. В антропургических очагах человек инфицируется как алиментарным путём при употреблении инфицированного молока, заражённой воды, так и воздушно-пылевым (при вдыхании пыли) или контактным (через слизистые оболочки или повреждённую кожу) путями, при этом преобладают аэрогенный и алиментарный пути передачи инфекции. От больного человека здоровому она не передаётся. На эндемичных территориях заболевание у человека возникает, как правило, на фоне эпизоотий среди сельскохозяйственных животных [27].

Птицы также восприимчивы к *C. burnetii*. В их организме возбудитель сохраняется до 5 мес и может выделяться с помётом. Список восприимчивых пернатых включает более 90 видов — представителей многих отрядов как оседлых, так и перелётных птиц. Однако прямой эпидемиологической связи заболеваний человека с дикими видами не отмечено. Домашние птицы, особенно в условиях птицеводческих хозяйств, могут быть источником инфекции для человека.

Основными же источниками и переносчиками *C. burnetii* в природе являются клещи, способные питаться на инфицированных животных [28]. В организме клеща возбудитель коксиеллёза живёт на протяжении всей его жизни, не утрачивая своих патогенных свойств для человека и теплокровных животных. Инфекция у клещей протекает бессимптомно с интенсивным размножением возбудителя, прежде всего в клетках эпителия кишечника. Выделяются коксиеллы во внешнюю среду с испражнениями клещей, их коксальной жидкостью и слюнным секретом. В природных очагах происходит постоянный обмен возбудителя между клещами и их прокормителями: мелкими дикими млекопитающими, а также домашними, дикими животными и птицами. Можно с уверенностью утверждать, что клещи являются лишь опосредованным источником инфекции для человека, редко выступая в качестве самостоятельного контактного начала. Тем не менее именно они ответственны за эпизоотологическую стойкость природных очагов коксиеллёза, т.к. непосредственно участвуют в диссеминации возбудителя из биотопов в очаги хозяйственного типа и наоборот [24].

Коксиеллёзом преимущественно болеют в марте–мае люди, которые по роду своей профессиональной деятельности участвуют в отёле и окоте животных. Чаще заболевают мужчины, занятые сельскохозяйственными работами, животновод-

ством, убоем, обработкой шкур и шерсти животных, птичьего пуха и т.д.

Учитывая результаты наблюдений, в настоящее время можно выделить некоторые особенности эпидемического процесса при коксиеллёзе. Постепенно стирается сезонность заболеваемости Ку-лихорадкой: больные стали регистрироваться круглогодично и распределяться с менее выраженным подъёмом в пиковые месяцы (май–июнь) [26].

Заболеваемость Ку-лихорадкой в АО имеет ряд сформировавшихся характерных черт эпидемического процесса на фоне высокого уровня заболеваемости без тенденции к снижению. Это обязывает вести постоянный мониторинг за состоянием заболеваемости на территории АО с целью своевременного проведения комплекса профилактических мероприятий, включающего организацию обследования сельскохозяйственных животных на данную инфекцию.

Выделены первичные (природные) очаги с определённым спектром видов клещей-переносчиков, привязанные к различным географическим зонам: пустынные, полупустынные, степные, лесостепные, лесные и горные.

Ситуация в АО с каждым годом ухудшается, что объясняется зоолого-паразитологическими и ландшафтными особенностями региона, и вызывает особую настороженность по отношению к риккетсиозам этой группы [26].

Пик заболеваемости приходится на май–июнь, когда регистрируется более 60% заболевших, в основном (75%) лица трудоспособного возраста — 20–60 лет. При эпидемиологическом расследовании установлено, что более 20% заболевших имеют личное подсобное хозяйство и содержат домашних животных, 16% обследованных отмечали присасывание клещей или снимали их с себя, 10% реципиентов выезжали на природу. В остальных случаях заражение могло произойти алиментарным путём (употребление в пищу молочных продуктов домашнего изготовления, недостаточно термически обработанного мяса) [29].

Клиническая диагностика коксиеллёза затруднена полиморфизмом симптоматики [30]. Необходимо учитывать эпидемиологические предпосылки — пребывание в эндемических очагах, контакт со скотом, употребление сырого молока, уровень заболеваемости коксиеллёзом. Во время эпидемических вспышек диагностика облегчается, и можно выявить даже нетипичные формы заболевания. Из клинических проявлений диагностическое значение имеют следующие признаки: острое начало, быстрое повышение температуры тела до высоких цифр, ретроорбитальные боли, гиперемия лица, инъекция сосудов склер, гепатомегалия, развитие преимущественно интерстициальной пневмонии, риккетсиозного гепатита [2, 30].

Чрезвычайное разнообразие картины болезни нашло отражение в выделении отечественными учёными 5 клинических форм:

- 1) типичная (фебрильная);
- 2) бронхопневмоническая;
- 3) тифоподобная;
- 4) бруцеллёзоподобная;
- 5) нервная.

Несмотря на полиморфизм клинической симптоматики при коксиеллёзе, в течении болезни можно выделить 3 периода: начальный, разгар, период реконвалесценции.

Начинается коксиеллёз, как правило, остро. Уже в первые 2 сут заболевания температура тела поднимается до высоких цифр, сопровождаемая ознобом, головной болью. Основным проявлением болезни является лихорадка: температура тела с первых дней высокая, в редких случаях — пирексическая. Характер температурной кривой разнообразен: постоянная, ремиттирующая, неправильная, волнообразная и даже интермиттирующая [21]. Чаще всего наблюдается ремиттирующая (послабляющая) лихорадка. Длительность лихорадочного периода варьирует в промежутке от 6 дней до 7–8 нед. По наблюдениям многих клиницистов, температура снижается в течение 2–4 дней.

С самого начала изучения коксиеллёза отсутствие кожных высыпаний считалось типичным для данного вида риккетсиоза в отличие от других риккетсиозных заболеваний человека. В настоящее время в результате многолетних наблюдений клиницистов это положение потеряло своё абсолютное значение. Частота выявления экзантемы различна — от 4–5 до 20%. Опираясь на данные литературных источников, можно отметить, что изменения со стороны кожных покровов и слизистых оболочек неоднородны. У большей части больных как в начальный период, так и в разгар болезни при осмотре выявляются гиперемия лица и инъекция сосудов склер, гиперемия задней стенки глотки, у остальных пациентов цвет кожи лица и слизистых оболочек не изменяется, реже отмечается их бледность [21]. Сыпь представлена в виде розеолёзных, розеолёзно-папулёзных, папуло-везикулёзных, петехиальных элементов. Время появления экзантемы колеблется от 1-го до 16-го дня заболевания.

У большинства пациентов имеется выраженность и даже типичность изменений сердечно-сосудистой системы при коксиеллёзе в виде брадикардии и гипотонии, а также приглушённых или даже глухих тонов сердца, что даёт основание рассматривать эти явления как следствие токсического воздействия коксиелл на сердечно-сосудистую систему.

У трети больных коксиеллёзом наблюдаются изменения со стороны дыхательной системы. Большинство рентгенологов и клиницистов констатируют более частое рентгенологическое выявление

пневмонических очагов в нижней доле правого лёгкого. Клинические симптомы пневмонии сохраняются 10–14 дней. Обратное развитие пневмонического процесса начинается вместе с падением температуры тела и продолжается в период реконвалесценции с полным клинико-рентгенологическим выздоровлением в ближайшие сроки после выписки больных (обычно через 6 нед). Такой характер пневмоний при коксиеллёзе является своеобразным проявлением болезни [21, 26].

У подавляющего числа пациентов постоянным симптомом является гепатомегалия (до 80%), появляющаяся уже с 3–4-го дня болезни. В таких случаях можно говорить о развитии острого паренхиматозного гепатита коксиеллёзной этиологии. При отсутствии клинических симптомов со стороны печени имеет место отчётливо выраженное нарушение её функции. Наиболее часто при коксиеллёзе наблюдается патология соматической иннервации — общая гиперестезия, проявляющаяся прежде всего головной болью. Считается даже, что упорные головные боли имеют важное значение для подозрения на коксиеллёз. Признаком поражения соматической иннервации считаются ретроорбитальные боли, усиливающиеся при движении глаз, надавливании на глазные яблоки, и боли в пояснице [21, 26].

Заключение

На территории Нижнего Поволжья, в том числе в АО, регистрируются риккетсиоз из группы клещевых пятнистых лихорадок — АПЛ и Ку-лихорадка (коксиеллёз). Учитывая тенденцию к повышению уровня заболеваемости, увеличению числа случаев с тяжёлым и осложнённым течением болезни, росту летальных исходов, изучение эпидемиологии и клиники риккетсиозных инфекций сохраняет свою актуальность.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Углева С.В. *Научное обоснование оптимизации профилактики инфекций, передающихся иксодовыми клещами, на основе математического моделирования проявлений эпидемического процесса*: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. М.; 2020.
2. Галимзянов Х.М., Углева С.В., Василькова В.В., Лунина И.О. *Атлас переносчиков природно-очаговых трансмиссивных инфекций*. Астрахань; 2015.
3. Углева С.В., Буркин А.В., Борисова И.Э., Шабалина С.В. *Современные представления об эпидемиологии клещевых пятнистых лихорадок. Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2008; (2): 15–21.
4. Лобан К.М., Лобзин Ю.В., Лукин Е.П. *Риккетсиозы человека (руководство для врачей)*. М.: Элби; 2002.
5. Ситников И.Г., Худоян З.Г., Алешковская Е.С. *Риккетсиозы человека: учебное пособие*. Ярославль; 2015.
6. Тарасевич И.В. *Астраханская пятнистая лихорадка*. М.: Медицина; 2002.
7. Тарасевич И.В. *Современные представления о риккетсиозах. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2005; 7(2): 119–29.

ОБЗОРЫ

8. Лобзин А.П., Казанцев А.П., ред. *Риккетсиозы — Руководство по инфекционным болезням*. СПб.: Фолиант; 1999: 517–56.
9. Касимова Н.Б. *Клинико-патогенетические и иммуногенетические аспекты астраханской риккетсиозной лихорадки*: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. Астрахань; 2004.
10. Ковтунов А.И. *Эпидемиология, организация эпиднадзора и профилактики астраханской лихорадки*: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М.; 2000.
11. Ковтунов А.И., Салько В.Н., Седова А.Г., Тарасевич И.В., Фетисова Н.Ф., Галимзянов Х.М. Эпидемиология «астраханской лихорадки». В кн.: *Вопросы риккетсиологии и вирусологии*. Астрахань—М.; 1996: 3–9.
12. Покровский В.И., Касимова Н.Б., Галимзянов Х.М., Морозова Ю.В. *Клинико-патогенетические и иммуногенетические особенности Астраханской риккетсиозной лихорадки*. Астрахань; 2005.
13. Углева С.В., Шабалина С.В., Покровский В.И. Итоги и перспективы изучения клещевых трансмиссивных лихорадок (на примере Астраханской риккетсиозной лихорадки). *Инфекционные болезни*. 2016; 14(4): 5–10. <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2016-4-5-10>
14. Карпенко С.Ф., Галимзянов Х.М., Неталиева С.Ж., Горева О.Н. Особенности эпидемиологии и лабораторной диагностики кокциеллэза в Астраханской области. *Инфекция и иммунитет*. 2013; 3(2): 136.
15. Карпенко С.Ф. Современное представление о клинике и терапии кокциеллэза. *Вестник новых медицинских технологий*. 2013; 20(3): 117–22.
16. Углева С.В., Тутельян А.В., Шабалина С.В. Астраханская риккетсиозная лихорадка – клещевой риккетсиоз на территории Нижнего Поволжья. *Инфекционные болезни*. 2018; 16(2): 86–91. <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2018-2-86-91>
17. Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Пенъевская Н.А., Транквилевский Д.В., Яцменко Е.В., Блох А.И. Эпидемиологическая ситуация по клещевым риккетсиозам в Российской Федерации в 2010–2019 гг. и прогноз на 2020 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; (1): 61–8. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-1-61-68>
18. Углева С.В., Шендо Г.Л., Галимзянов Х.М., Курбангалиева А.Р., Куликова Л.Н. Мониторинг природного очага Астраханской пятнистой лихорадки. В кн.: *Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения»*. Астрахань; 2019: 76–80.
19. Галимзянов Х.М. *Астраханская лихорадка (клиника, диагностика, лечение)*: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. Астрахань; 1997.
20. Василькова В.В., Кабачек Н.И., Галимзянов Х.М., Черенова Л.П., Ахминеева А.Х. *Дифференциальная диагностика Астраханской риккетсиозной лихорадки*. Астрахань; 2009.
21. Жаркова В.В. *Клинико-патогенетические особенности и оптимизация терапии кокциеллэза на современном этапе*: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М.; 2007.
22. СП 3.1.7.2811-10. Профилактика кокциеллэза (лихорадка Ку). М.; 2010.
23. Лукин Е.П., Мищенко О.А., Борисевич С.В. Лихорадка Ку в XXI в.: материал для подготовки лекции. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2019; 8(4): 62–77. <https://doi.org/10.24411/2305-3496-2019-14009>
24. Яковлев Э.А., Борисевич С.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В. Заболеваемость лихорадкой Ку в Российской Федерации и странах Европы: реалии и проблемы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; (4): 49–54.
25. Колчин Е.А. *Геоэкологический анализ опасных природных явлений на территории Астраханской области*: Автореф. дисс. ... канд. географ. наук. Астрахань; 2010.
26. Карпенко С.Ф. *Клинико-патогенетическое и прогностическое значение некоторых факторов резистентности у больных кокциеллэзом*: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. М.; 2018.
27. Нафеев А.А., Безик В.В. Случай лихорадки Ку на неэндемичной территории. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2012; (6): 38–40.
28. Ахмерова Р.Р., Галимзянов Х.М., Спиренкова А.Е., Мартова О.В., Сахипов Р.С., Шендо Г.Л. Современная эпидемиологическая характеристика Ку-лихорадки на территории Астраханской области. В кн.: *Актуальные вопросы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Сборник материалов межрегиональной научно-практической конференции ученых и специалистов Роспотребнадзора*. Астрахань; 2019: 17–25.
29. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Астраханской области в 2013 году». Астрахань; 2014.
30. Шестакова И.В., Черенова Л.П., Василькова В.В., Галимзянов Х.М. *Лихорадка Ку у взрослых. Клинические рекомендации*. М.; 2014.

REFERENCES

1. Ugleva S.V. *Scientific substantiation of optimization of prevention of infections transmitted by ixodic ticks on the basis of mathematical modeling of manifestations of the epidemic process*: Diss. Moscow; 2020. (in Russian)
2. Galimzyanov Kh.M., Ugleva S.V., Vasil'kova V.V., Lunina I.O. *Atlas of Vectors of Natural Focal Vector-Borne Infections [Atlas perenoschikov prirodno-ochagovykh transmissivnykh infektsiy]*. Astrakhan; 2015. (in Russian)
3. Ugleva S.V., Burkin A.V., Borisova I.E., Shabalina S.V. Modern ideas about the epidemiology of tick-borne spotted fevers. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika*. 2008; (2): 15–21. (in Russian)
4. Loban K.M., Lobzin Yu.V., Lukin E.P. *Human Rickettsiosis (Guide for Doctors) [Rikkettsiozy cheloveka (rukovodstvo dlya vrachey)]*. Moscow: Elbi; 2002. (in Russian)
5. Sitnikov I.G., Khudoyan Z.G., Aleshkovskaya E.S. *Human Rickettsiosis: a Textbook [Rikkettsiozy cheloveka: uchebnoe posobie]*. Yaroslavl; 2015. (in Russian)
6. Tarasevich I.V. *Astrakhan Spotted Fever [Astrakhanskaya pyatnistaya likhoradka]*. Moscow: Meditsina; 2002. (in Russian)
7. Tarasevich I.V. Modern ideas about rickettsioses. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2005; 7(2): 119–29. (in Russian)
8. Lobzin A.P., Kazantsev A.P., eds. *Rickettsioses — Guide to Infectious Diseases [Rikkettsiozy — Rukovodstvo po infektsionnym bolezniam]*. St. Petersburg: Foliant; 1999: 517–56. (in Russian)
9. Kasimova N.B. *Clinical and pathogenetic and immunogenetic aspects of Astrakhan Rickettsia fever*: Diss. Astrakhan; 2004. (in Russian)
10. Kovtunov A.I. *Epidemiology, organization of surveillance and prevention of Astrakhan fever*: Diss. Moscow; 2000. (in Russian)
11. Kovtunov A.I., Sal'ko V.N., Sedova A.G., Tarasevich I.V., Fetisova N.F., Galimzyanov Kh.M. Epidemiology of «Astrakhan fever». In: *Questions of Rickettsiology and Virology [Voprosy rikketsiologii i virusologii]*. Astrakhan–Moscow; 1996: 3–9. (in Russian)
12. Pokrovskiy V.I., Kasimova N.B., Galimzyanov Kh.M., Morozova Yu.V. *Clinical-Pathogenetic and Immunogenetic Features of Astrakhan Rickettsia Fever [Kliniko-patogeneticheskie i immunogeneticheskie osobennosti Astrakhanskoy rikketsioznoy likhoradki]*. Astrakhan; 2005. (in Russian)
13. Ugleva S.V., Shabalina S.V., Pokrovskiy V.I. Outcomes and perspectives of studying tick transmitted fevers (by the example of Astrakhan rickettsial fever). *Infektsionnye bolezni*. 2016; 14(4): 5–10. <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2016-4-5-10> (in Russian)
14. Karpenko S.F., Galimzyanov Kh.M., Netal'ieva S.Zh., Gorova O.N. The peculiarities of the epidemiology and laboratory

- diagnosis of coxiellosis in the Astrakhan region. *Infektsiya i immunitet*. 2013; 3(2): 136. (in Russian)
15. Karpenko S.F. Modern approach to clinic and therapy of the coxiellosis. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2013; 20(3): 117–22. (in Russian)
 16. Ugleva S.V., Tutel'yan A.V., Shabalina S.V. Astrakhan spotted fever: tick-borne rickettsiosis on the territory of the lower Volga region. *Infektsionnye bolezni*. 2018; 16(2): 86–91. <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2018-2-86-91> (in Russian)
 17. Rudakov N.V., Shpynov C.N., Pen'evskaya N.A., Trankvilevskiy D.V., Yatsmenko E.V., Blokh A.I. Epidemiological situation on tick-borne rickettsioses in the Russian Federation in 2010–2019 and prognosis for 2020. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2020; (1): 61–8. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-1-61-68> (in Russian)
 18. Ugleva S.V., Shendo G.L., Galimzyanov Kh.M., Kurbangalieva A.R., Kulikova L.N. Monitoring of the natural focus of the Astrakhan spotted fever. In: *Materials of the scientific and practical conference «Topical issues of ensuring the sanitary and epidemiological welfare of the population» [Materialy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Aktual'nye voprosy obespecheniya sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya»]*. Astrakhan; 2019: 76–80. (in Russian)
 19. Galimzyanov Kh.M. *Astrakhan fever (clinic, diagnosis, treatment)*: Diss. Astrakhan; 1997. (in Russian)
 20. Vasil'kova V.V., Kabachek N.I., Galimzyanov Kh.M., Cherenova L.P., Akhmineeva A.Kh. *Differential Diagnosis of Astrakhan Rickettsial Fever [Differentsial'naya diagnostika Astrakhanskoy rickettsioznoy likhoradki]*. Astrakhan; 2009. (in Russian)
 21. Zharkova V.V. *Clinical and pathogenetic features and optimization of coxyellosis therapy at the present stage*: Diss. Moscow; 2007. (in Russian)
 22. SP 3.1.7.2811-10. Prevention of coxyellosis (Ku fever). Moscow; 2010. (in Russian)
 23. Lukin E.P., Mishchenko O.A., Borisevich S.V. Q fever: XXI century (lecture material). *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie*. 2019; 8(4): 62–77. <https://doi.org/10.24411/2305-3496-2019-14009> (in Russian)
 24. Yakovlev E.A., Borisevich S.V., Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V. Morbidity rates of Q fever in the Russian Federation and European countries: realities and problems. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2015; (4): 49–54. (in Russian)
 25. Kolchin E.A. *Geoeological analysis of natural hazards in the Astrakhan region*: Diss. Astrakhan; 2010. (in Russian)
 26. Karpenko S.F. *Clinical-pathogenetic and prognostic value of some resistance factors in patients with coxyellosis*: Diss. Moscow; 2018. (in Russian)
 27. Nafeev A.A., Bezik V.V. A case of Q fever in non-endemic areas. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2012; (6): 38–40. (in Russian)
 28. Akhmerova R.R., Galimzyanov Kh.M., Spirenkova A.E., Martova O.V., Sakhipov R.S., Shendo G.L. Modern epidemiological Characteristics of Ku-fever in the Astrakhan region. In: *Topical Issues of Ensuring the Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population. Collection of Materials of the Interregional Scientific and Practical Conference of Scientists and Specialists of Rospotrebnadzor [Aktual'nye voprosy obespecheniya sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya. Sbornik materialov mezhregional'noy nauchno-prakticheskoy konferentsii uchennykh i spetsialistov Rospotrebnadzora]*. Astrakhan; 2019: 17–25. (in Russian)
 29. State report «On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Astrakhan region in 2013». Astrakhan; 2014. (in Russian)
 30. Shestakova I.V., Cherenova L.P., Vasil'kova V.V., Galimzyanov Kh.M. Q fever in adults. Clinical recommendations. Moscow; 2014. (in Russian)

Информация об авторах

Углева Светлана Викторовна[✉] — д.м.н., доцент, консультант организационно-методического отдела административно-управленческого подразделения ЦНИИ эпидемиологии, Москва, Россия, uglevas@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1322-0155>

Шабалина Светлана Васильевна — д.м.н., проф., в.н.с. ЦНИИ эпидемиологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7102-5414>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 23.06.2020;
принята к публикации 16.03.2021;
опубликована 20.04.2021

Information about the authors

Svetlana V. Ugleva[✉] — D. Sci. (Med.), Assoc. Prof., consultant, Organizational and methodological department, Administrative division, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, e-mail: uglevas@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1322-0155>

Svetlana V. Shabalina — D. Sci. (Med.), Prof., leading researcher, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7102-5414>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 23.06.2020;
accepted for publication 16.03.2021;
published 20.04.2021

РЕЦЕНЗИИ



Рецензия на монографию «Генетические технологии» под общей редакцией академика РАН, д.м.н., проф. В.Г. Акимкина

(М.: ЦНИИ Эпидемиологии, 2020. 200 стр.)



Генетические технологии и направленное геномное редактирование с использованием программируемых нуклеаз за короткое время заняли передовые позиции в области модификации генома генома. Направленное редактирование генома, которое в настоящее время активно применяется для создания клеточных и животных моделей патологии человека, функционального скрининга геномов и эпигеномов, визуализации клеточных процессов, представляет особый интерес с точки зрения разработки терапевтических подходов для лечения генетических, инфекционных, онкологических, иммунологических заболеваний и заболеваний иной

этиологии, которые ранее считались неизлечимыми. Сегодня программируемые нуклеазы широко применяются в пищевой промышленности и сельском хозяйстве, а белки системы CRISPR/CAS рассматриваются в качестве инструмента для создания инновационных диагностических наборов «нового поколения». В связи с этим актуальность монографии «Генетические технологии» не вызывает сомнений.

В книге авторы постарались осветить широкий спектр вопросов в сфере генетических технологий, касающихся направленного редактирования генома. Так, представлена актуальная информация по программируемым нуклеазам — с «цинковыми пальцами», TALE- и CRISPR/Cas-нуклеазам. Обобщена информация по истории открытия, строению и области применения программируемых нуклеаз. Систематизирована информация по способам оценки неспецифической (внецелевой) активности программируемых нуклеаз, используемых для направленного геномного редактирования. Кроме того, монография знакомит читателя с многообразием существующих животных моделей, которые применяются для изучения эффективности генной терапии и скрининга лекарственных препаратов, в том числе разработанных на основе технологий направленного редактирования генома.

Важно отметить, что книга «Генетические технологии» может стать хорошим методическим пособием для студентов биологических и медицинских вузов, а также молодых учёных. Можно надеяться, что данная монография позволит научным сотрудникам, руководителям организаций и специалистам прикладных направлений здравоохранения, студентам и аспирантам систематизировать знания, накопленные в стремительно развивающейся области генетических технологий и направленного редактирования генома, сформировать её понимание.

*В.В. Малеев, доктор медицинских наук,
профессор, академик РАМН и РАН*



Рецензия на монографию «Лабораторная диагностика инфекционных болезней» под редакцией академика РАН, д.м.н., проф. В.Г. Акимкина, д.б.н., профессора М.Г. Твороговой

(М.: ЦНИИ Эпидемиологии, 2020. 480 стр.)



Книга «Лабораторная диагностика инфекционных болезней» содержит развёрнутую характеристику лабораторных исследований для этиологической диагностики более 50 инфекционных агентов, вызывающих разнообразные болезни или патологические состояния. Статьи, посвящённые выявлению возбудителей и маркёров инфекционных болезней, объединены в группы по различным параметрам классификаций: локализации возбудителя в организме (инфекции дыхательных путей, кишечные инфекции и др.), а также этиологии возбудителя (ВИЧ-инфекция, вирусные гепатиты, инфекции, вызываемые микобактериями). Отдельные главы посвящены современным методам лабораторной диагностики герпес-вирусных инфекций. Одновременно предложен и другой вариант — статьи, посвящённые инфекционным заболеваниям, которые одновременно относят к различным группам. Так, к группе ToRCH-инфекций, объединяющей возбудителей перинатальных инфекций, поми-

мо токсоплазмоза и краснухи, традиционно относят герпетические инфекции (в том числе цитомегаловирусную инфекцию), ВИЧ-инфекцию, парентеральные гепатиты и др. Уделено внимание оппортунистическим инфекциям, возбудители которых преимущественно вызывают патологический процесс у пациентов с разными проявлениями иммунодефицита. Представлены статьи о возбудителях оппортунистических инфекций протозойной, грибковой, вирусной и бактериальной природы. Среди возбудителей таких инфекций — *Toxoplasma gondii*, традиционно включаемая в группу возбудителей ToRCH-инфекций, а также герпес-вирусы Human betaherpesvirus 5, Human alphaherpesvirus2, Human alphaherpesvirus1 и др.

В каждой из статей, посвящённых лабораторной диагностике определённого заболевания, перечислены тесты, используемые в настоящее время для его этиологической диагностики, представлены сведения о показаниях к обследованию для выявления возбудителей описываемой инфекции и дифференциальной диагностики, перечислены материалы для исследования. В книге содержится материал, необходимый в практике лабораторных исследований, — порядок сбора и хранения биологического материала для лабораторной диагностики инфекционных болезней.

Несомненный интерес для читателя представляют рубрики в составе каждой главы — «Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики» и «Особенности интерпретации результатов лабораторных исследований», в которых авторами проведено сопоставление диагностического значения прямых и косвенных лабораторных методов определения патогенов, данные о клинической чувствительности и специфичности таких методов. Сведения о времени взятия образцов для исследования и виде биологического материала, необходимые для получения наиболее информативных результатов, несомненно, окажут помощь клиницисту в ходе выработки оптимального алгоритма для лабораторной диагностики определённой инфекции.

Наряду со сведениями о лабораторной диагностике инфекционных болезней в книге представ-

лены сведения об основных видах лабораторных исследований, применяемых в клинике на современном этапе. Книга содержит главы, посвящённые общеклиническим, гематологическим, биохимическим и иммунохимическим исследованиям. Каждая глава содержит рубрику, описывающую требования к условиям и процедурам взятия биологического материала для определённого вида исследований или конкретного анализа. Особого внимания заслуживает глава о биохимических и иммунохимических исследованиях, содержащая информацию об основных группах анализов, традиционно составляющих предмет исследования клинической лабораторной диагностики: ферментах, ионах, субстратах. В краткой и чёткой форме приведены данные о химических и физиологических свойствах разнообразных соединений, присутствующих в биологических жидкостях человека, разъяснён физиологический смысл и диагностическое значение изменений этих лабораторных показателей. Несомненный интерес для читателя представит материал рубрики «Исследования системы гемостаза», содержащий, наряду с описанием лабораторных тестов, информацию о новой современной клеточной модели механизмов гемостаза.

Главы обоих разделов книги — «Лабораторная диагностика инфекционных болезней» и «Основные виды лабораторных исследований» — снабжены списками литературы, в которых приведены

ссылки на отечественные и зарубежные основные научные труды, используемые при написании статей в книге: монографии, обзоры литературы, материалы экспериментальных и клинических исследований, а также на документы, относящиеся к обсуждаемым лабораторным работам: методические указания и методические рекомендации, ГОСТы и др.

Авторами обсуждаемого издания являются научные сотрудники и преподаватели ведущих научных учреждений, в том числе ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, ГБУЗ «Московский клинический центр имени А.С. Логанова», ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского», ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» и нескольких университетов.

Полнота и разнообразие изложенного материала, широкий спектр затрагиваемых исследований позволяет рекомендовать книгу «Лабораторная диагностика инфекционных болезней» для значительного круга читателей: врачей-клиницистов, инфекционистов, специалистов клинико-диагностических и научных лабораторий, а также студентам и аспирантам — биологам и медикам.

*Академик РАН, директор
ФГБУ «Детский научно-клинический
центр инфекционных болезней ФМБА»
доктор медицинских наук, профессор Ю.В. Лобзин*

НЕКРОЛОГИ

Памяти Светланы Сергеевны Маренниковой

(7 октября 1923 года – 5 марта 2021 года)



Невосполнимая утрата постигла отечественную науку — 5 марта 2021 г. ушла из жизни Светлана Сергеевна Маренникова, выдающийся учёный-вирусолог, человек, победивший оспу.

Светлана Сергеевна родилась 7 октября 1923 г. в г. Харькове.

После окончания в 1947 г. Первого ММИ им. И.М. Сеченова начался её долгий, плодотворный, необыкновенно трудный и прекрасный путь учёного-вирусолога от младшего научного сотрудника до эксперта Всемирной организации здравоохранения.

В разные годы С.С. Маренникова работала в Институте вирусологии им. Д.И. Ивановского, Государственном НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича, Московском НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Московском НИИ вирусных препаратов.

На протяжении своей научной деятельности С.С. Маренникова внесла существенный вклад в изучение вирусов различных таксономических групп, однако основным направлением её исследований были вирусы оспы. На основе всестороннего изучения вирусов натуральной оспы и других патогенных для человека поксвирусов, С.С. Маренниковой была разработана и внедрена в практику отечественного здравоохранения современная система лабораторной диагностики вируса натуральной оспы и сходных с ней заболеваний. Эффективность этой системы была подтверждена во время заноса оспы в Москву в 1959–1960 гг. и в ходе диагностической работы в рамках программы ВОЗ по ликвидации оспы в мире. Под руководством и при участии С.С. Маренниковой были созданы

новые экспериментальные модели ортопоксвирусных инфекций, разработаны и внедрены в практику средства экстренной серо- и химиопрофилактики оспы.

Одним из наиболее значимых этапов научной деятельности С.С. Маренниковой стало её активное участие в реализации Программы глобальной ликвидации оспы. Светлана Сергеевна возглавляла московский Сотрудничающий центр ВОЗ по оспе и родственным инфекциям, работавший на базе руководимой ею лаборатории. Будучи экспертом ВОЗ, она непосредственно участвовала в разработке документов, дававших научное обоснование стратегии и тактики ликвидации оспы, методов и требований к применявшимся препаратам. Светлана Сергеевна являлась членом ряда международных комиссий по сертификации ликвидации оспы. Подпись профессора С.С. Маренниковой в числе 19 выдающихся ученых мира стоит под декларацией ВОЗ (1980 г.), официально известившей мировое сообщество о победе над оспой на Земле.

В 1990-е годы С.С. Маренникова занималась изучением вирусов СПИДа, при её участии были разработаны и внедрены в практику отечественные диагностические тест-системы к ВИЧ, выделены и изучены многочисленные штаммы вируса из различных регионов страны.

Результаты научной деятельности доктора медицинских наук, профессора С.С. Маренниковой отражены в трёх монографиях, более 300 публикациях и изобретениях, 60 рабочих документах, подготовленных для экспертных комитетов и научных групп ВОЗ. Под её руководством выполнены 6 докторских и 29 кандидатских диссертаций. Она награждена орденом «Знак Почета», значком «Отличнику здравоохранения», 6 медалями ВДНХ, медалями Болгарии и Японии, почётным знаком Всемирной организации здравоохранения за активное участие в глобальной ликвидации оспы «Бифуркационная игла».

В 2011 г. под редакцией Светланы Сергеевны Маренниковой была издана книга «Как это было: программа глобальной ликвидации оспы в воспоминаниях её участников». В 2019 г. оригинал книги на русском языке передан в дар музею «Дом Эдварда Дженнера», а англоязычная электронная версия — в общедоступный архив.

Жизненный путь С.С. Маренниковой, Учёного, Учителя и Врача, останется в нашей памяти примером беззаветного служения во благо науки и человека.

Коллектив ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова



Памяти Вячеслава Федоровича Лаврова

(9 марта 1948 года – 22 февраля 2021 года)



После тяжёлой болезни ушел из жизни Вячеслав Фёдорович Лавров — наш коллега, друг, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией диагностики вирусных инфекций ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, профессор кафедры эпидемиологии РМАНПО Минздрава России.

Вячеслав Фёдорович родился 9 марта 1948 г. в Харькове, закончил в 1972 г. санитарно-гигиенический факультет Харьковского медицинского института. Несколько лет проработал на селе санитарным врачом, затем переехал в Москву и поступил в очную аспирантуру.

В 1983 г. он успешно защитил кандидатскую диссертацию в совете при Центральном НИИ гематологии и переливания крови МЗ СССР. В 1984 г. перешёл в НИИ вирусных препаратов МЗ СССР.

В 1997 г. Вячеслав Фёдорович защитил докторскую диссертацию на тему «Модулирующее действие вирусных антигенов на функциональные свойства

клеток систем иммунитета и кроветворения». Все эти годы он занимался изучением явлений, которые сопровождают вирусные инфекции, проблемами вирусиндуцированной иммуномодуляции. В.Ф. Лавровым было изучено влияние вируса гриппа А на процессы дифференцировки гемопоэтических клеток-предшественников костного мозга. Определив действие вируса, он провёл сравнительный анализ пролиферативного ответа лимфоцитов, синтеза интерферонов и глюкокортикоидов в процессе гриппозной инфекции.

Параллельно почти 20 лет Вячеслав Фёдорович занимал должность профессора кафедры эпидемиологии РМАНПО Минздрава России. В последнее время он занимался исследованиями, связанными с эпидемиологическими особенностями ветряной оспы.

Очень рано от нас ушел крупный специалист, посвятивший всю свою трудовую жизнь проблемам диагностики, разработки противовирусных препаратов. С 1984 г. Вячеслав Фёдорович Лавров проработал в отделе вирусологии им. акад. О.Г. Анджaparидзе и более 20 лет — в качестве заведующего лабораторией диагностики вирусных инфекций ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова.

Вячеслав Фёдорович являлся автором более 140 научных и учебно-методических работ, подготовил десятки квалифицированных специалистов, врачей-эпидемиологов, под его руководством защищены 8 кандидатских диссертаций.

Вячеслав Фёдорович Лавров был очень светлым человеком, добрым другом, настоящим товарищем. Своей энергией он заряжал всех, кто был рядом. Его отличали глубокая человечность, подлинная интеллигентность, высокий профессионализм, жизнелюбие и оптимизм.

Мы помним, мы любим, мы скорбим.

*Коллектив ФГБНУ НИИВС
им. И.И. Мечникова*



Памяти Бориса Аркадьевича Шендерова

(25 декабря 1940 года – 21 декабря 2020 года)



21 декабря 2020 года скончался известный российский учёный Борис Аркадьевич Шендеров.

Борис Аркадьевич родился 25 декабря 1940 года. В 1964 г. он окончил Саратовский медицинский институт по специальности «лечебное дело» и начал работать микробиологом в районной санэпидстанции и врачом районной больницы р/п Дергачи, Саратовская область. В 1966–1979 гг. Б.А. Шендеров был аспирантом, доцентом и профессором кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Саратовского медицинского института. В 1976 г. защитил докторскую диссертацию на тему «Трансмиссивная лекарственная устойчивость бактерий».

В процессе работы над диссертациями впервые в СССР и одним из первых в мире Б.А. Шендеров экспериментально доказал, что трансмиссивная антибиотикорезистентность формируется в результате образования транспозонов, включающих хромосомные гены устойчивости к различным химиотерапевтическим препаратам и их объединения с трансмиссивными плазмидами, способными переноситься при межклеточном взаимодействии различных бактерий, и предложил алгоритм борьбы с возникновением и распространением трансмиссивной антибиотикорезистентности.

В 1979, 1983–1985 гг. им были подготовлены и впервые в СССР опубликованы обзоры и материалы клинических исследований по неферментирующим грамотрицательным бактериям, вызывающим различные оппортунистические заболевания человека, большинство из которых были опубликованы

в «Журнале микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии».

В 1983 г. при финансовой поддержке Главмикробиопрома СССР Борис Аркадьевич организовал межотраслевую научно-исследовательскую лабораторию «Микробиологические методы борьбы с загрязнением окружающей среды» (г. Саратов), впоследствии ставшую филиалом Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН. В этой лаборатории были селекционированы из окружающей среды или генетически сконструированы около десятка штаммов — деструкторов различных загрязнителей окружающей среды (отдельные компоненты нефтепродуктов, фенольные и другие соединения).

В 1980–1983 гг. Б.А. Шендеров заведовал кафедрой микробиологии медицинского факультета Лусакского университета (Республика Замбия). Помимо учебной деятельности он создал первую в Центральной Африке клиническую лабораторию по диагностике анаэробных инфекций.

С 1984 г. Борис Аркадьевич заведовал лабораторией промышленной гигиены и экологической микробиологии Всесоюзного НИИ антибиотиков (г. Москва). Он сформулировал новую концепцию «Микроэкологическая токсикология» (1987), согласно которой симбиотические микробиоценозы являются первичной мишенью для приложения любых ксенобиотиков и вовлекаются во все метаболические и детоксикационные процессы. Это имело важное практическое значение при проведении токсико-гигиенической оценки химических соединений (макро- и микронутриентов, технологических добавок, лекарственных препаратов, сырья для их изготовления) в быту и на производстве с целью минимизации их негативного воздействия на состав и функции симбиотической микробиоты.

Б.А. Шендеров совместно с проф. О.В. Чахава, проф. Г.И. Подопригора организовал во Всесоюзном НИИ антибиотиков гнотобиологическую лабораторию, а в Саратове совместно с проф. В.Ф. Коляденко — первое гнотобиологическое клиническое отделение в СССР (и мире) для лечения больных педиатрического профиля. Клиническая эффективность работы этого отделения была настолько высокой, что в Минздраве СССР был издан приказ о создании подобных отделений в крупных родильных домах и педиатрических больницах по всей стране.

С 1989 по 1994 г. Б.А. Шендеров был руководителем лаборатории молекулярной микробной экологии и возглавлял Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского. Он был избран председателем Научного проблемного центра эпидемиологии, микробиологии, иммунологии, паразитологии и инфекционных болезней МЗ РФ и членом Коллегии Госсанэпиднадзора РФ.

Все эти годы Борис Аркадьевич развивал новую концепцию «Клиническая микробная экология» (1990 г.), на основе которой было обосновано, что нарушения симбиотических микробиоценозов человека под влиянием различных химических, физических и биологических факторов являются первичными механизмами, запускающими патогенез большинства соматических и метаболических заболеваний человека. На базе МНИИЭМ и в других центрах СССР/России создавались пробиотики на основе штаммов лактобацилл и бифидобактерий человеческого происхождения, способные позитивно модифицировать различные метаболические процессы (получены патенты на штаммы, деградирующие холестерин, щавелевую кислоту, гистамин и другие образующиеся в организме соединения), которые были рекомендованы для профилактики атеросклероза, мочекаменной болезни, бронхиальной астмы (1991–1995 гг.).

Наиболее важной для развития микрoэкологической тематики в России стала монография Б.А. Шендерова «Медицинская микробная экология и функциональное питание» (в 3 томах, 928 страниц, 1520 ссылок на источники литературы). Будучи врачом по образованию, Борис Аркадьевич стал инициатором организации в 1992 г. в МНИИЭМ первой в СССР/России лаборатории по исследованию и борьбе с ВИЧ-инфекцией.

С 1995 по 2000 г. Б.А. Шендеров был генеральным директором ОАО «Русский йогурт» и стоял у истоков организации производства кисломолочных продуктов функционального назначения. Он впервые в мире предложил организовать национальные и международные криобанки для долговременного сохранения природных микробиоценозов конкретных людей, животных, почвы и водоёмов в жидком азоте. Одной из целей создания криобанков являлось их использование как источника пробиотических штаммов и их комплексов для производства аутопробиотиков. На базе Института биофизики клетки РАН совместно с заведующей лабораторией криоконсервации генетических ресурсов этого института к.б.н. Э.Н. Гаховой был создан первый в мире криогенный банк симбиотической кишечной микробиоты человека (1996), который функционирует до настоящего времени.

С 2000 по 2018 г. в должности главного научного сотрудника лаборатории биологии бифидобактерий МНИИЭМ Б.А. Шендеров принимал ак-

тивное участие в изучении роли симбиотической микробиоты в поддержании здоровья, метаболических заболеваний, физиологического и ускоренного старения. В эти годы были внедрены в научные и клинические исследования современные приёмы омиксных технологий (геномики, эпигеномики, транскриптомики, протеомики, метаболомики, феномики). Б.А. Шендеров экспериментально и клинически обосновал значимость низкомолекулярных соединений, образуемых представителями нормальной микробиоты человека, практически во всех функциях и биохимических реакциях организма, в том числе в программировании и репрограммировании эпигенома человека.

С 2000 по 2010 г. Борис Аркадьевич был профессором кафедры «Технология продуктов функционального и специализированного назначения и длительного хранения» Московского государственного Университета пищевых производств (МГУПП) и одним из основных инициаторов внедрения и распространения в России концепций «Функциональное питание», «Нутригеномика и нутри- и микробная эпигеномика», а также концепции «Персонализированное питание». Впервые в России на базе этого университета была создана специальность «Технология функционального питания», для подготовки специалистов-технологов в области разработки функциональных и персонализированных продуктов питания для определенных групп населения (детское, школьное питание, питание для пожилых людей и спортсменов, для лиц опасных профессий и т.д.).

С 2008 по 2009 г. Б.А. Шендеров являлся главным научным сотрудником Института общей генетики РАН им. Н.И. Вавилова и научным руководителем инвестиционного проекта «Разработка технологий универсального быстро переориентируемого производства заквасок прямого внесения для биотехнологической промышленности».

С 2017 по 2018 г. он работал главным научным сотрудником ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровья» Минздрава России и был инициатором создания на базе этого учреждения Российского криобанка микробиоценозов человека.

В 2018–2020 гг. Б.А. Шендеров работал профессором кафедры неврологии Института междисциплинарной медицины, профессором ПНИЛ «Конструирование и внедрение продуктов и рационалов персонализированного питания» МГУТУ им. К.Г. Разумовского.

Б.А. Шендеров выступал как эксперт нескольких фондов, организатор и Президент российской ассоциации «Эпидбиомед», советник Исполнительного комитета и член Правления Международного общества микробной экологии и болезней, член Исполнительного комитета и Президент Междуна-

родного общества гнотобиологии, член Правления Российской ассоциации специалистов восстановительной медицины. С 1966 г. Бори Аркадьевич был членом Российского общества эпидемиологии, микробиологии и паразитологии им. И. Мечникова.

Б.А. Шендеров неоднократно выступал с научными сообщениями на заседаниях Общественной Палаты РФ, участвовал в работе заседаний экспертных советов Государственной Думы и Федеральное собрание РФ. В 2008 г. он выступал в качестве одного из семи приглашенных докладчиков на Международном мини-Нобель симпозиуме «Человек и его микрофлора». Борис Аркадьевич — автор более 550 опубликованных научных работ, включая 12 монографий и 32 изобретения.

Вся жизнь и научное творчество Бориса Аркадьевича были направлены на процветание российской науки! Его энергия, мировоззрение и жизненная позиция, деятельная энергичность и сози-

дательная инициативность смогли претворить в практику отечественного здравоохранения новые открытия и свершения в области микроэкологии человека, направлены на укрепление его здоровья и общественного потенциала России.

Борис Аркадьевич создал научную школу, передавал свой опыт и знаниям молодым российским ученым: был руководителем и консультантом 6 докторских и 15 кандидатских диссертаций.

В памяти его соратников, его учеников Борис Аркадьевич навсегда останется жизнерадостной, открытой к новым знаниям и творениям большой личностью, сумевшей сохранить высокое призвание врача, учёного, педагога.

Коллектив журнала выражает глубокие соболезнования родным и близким, соратникам по поводу кончины профессора Б.А. Шендерова.

Светлая память о нем сохранится в наших сердцах!