

ООО Издательская группа  
«Медиа Сфера»

Акционерное общество  
"ЭКОлаб"

Журнал зарегистрирован  
Федеральной службой по надзору  
в сфере связи, информационных  
технологий и массовых коммуникаций

# Д КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Том 69  
9 • 2024

Russian Clinical Laboratory Diagnostics

Е Ж Е М Е С Я Ч Н Ы Й    Н А У Ч Н О - П Р А К Т И Ч Е С К И Й    Ж У Р Н А Л

СЕНТЯБРЬ

Журнал основан в январе 1955 г.

**Учредители:**

ООО Издательская группа  
«Медиа Сфера» (печатное издание)  
127238, г. Москва, Дмитровское ш., 46  
кор. 2;

Акционерное общество "ЭКОлаб"  
(электронное издание)  
142530, Московская область,  
г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1

**Издатель:**  
Акционерное общество "ЭКОлаб"

Телефон редакции:  
8-916-201-80-47

**Зав. редакцией:**  
**Л.А.Шанкина**  
E-mail: clin.lab@yandex.ru

**Технический редактор:**  
**Ч.А.Сафаров**  
E-mail: klinlab@internet.ru

Ответственность за достоверность  
информации, содержащейся в рекламных  
материалах, несут рекламодатели

Сдано в набор 20.08.2024.  
Подписано в печать 01.09.2024

Формат 60 × 88%  
Печать офсетная  
Печ. л. 8,00  
Уч.-изд. л. 8,95

**WWW страница:** <https://clinlabdia.ru/>

ПИ № ФС77-37760 от 07.10.2009 г.  
ЭЛ № ФС77-80929 от 21.04.2021 г.

Все права защищены. Ни одна часть этого из-  
дания не может быть занесена в память  
компьютера либо воспроизведена любым  
способом без предварительного письменного  
разрешения издателя

Журнал представлен в базе данных Российско-  
го индекса научного цитирования (РИНЦ) и в  
следующих международных информационно-  
справочных изданиях: Abstracts of Micrology,  
Adis International Ltd Reactions Weekly, Chemical  
Abstracts (Print), Chemical Titles, EBCOhost Biologi-  
cal Abstracts (Online), Elsevier BV EMBASE, Elsevier  
BV Scopus, Excerpta Medica, Abstract Journals,  
Index Medicus, Index to Dental Literature, OCLC  
Article First, Reactions Weekly (Print), Thomson Reu-  
ters Biological Abstracts (Online), Thomson Reuters  
BIOSIS Previews, VINITI RAN Referativnyi Zhurnal,  
Ulrich's International Periodicals Directory

**Индекс Ф81645 — для подписчиков**  
**Подписка через Интернет:**  
[https://www.pressa-rf.ru/cat/1/edition/e81645/Под-  
писка на электронную версию:  
\[https://elibrary.ru/title\\\_about\\\_new.asp?id=7849;\]\(https://elibrary.ru/title\_about\_new.asp?id=7849\)  
<https://www.pressa-rf.ru/rucont/edition/331548/>](https://www.pressa-rf.ru/cat/1/edition/e81645/Подписка-на-электронную-версию)

ISSN: 0869-2084 (Print)  
ISSN: 2412-1320 (Online)

Клин. лаб. диагностика. 2024. Том 69. № 09.  
427-491

**ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:**

**А.Ю. МИРОНОВ**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

**ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:**

**Харсеева Г.Г.**, д.м.н., профессор, (Ростов-на-Дону, Россия);

**НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР:**

**Чеботарь И.В.**, д.м.н. (Москва, Россия);

**ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ:**

**Андреева И.И.**, д.м.н., доцент (Ростов-на-Дону, Россия);

**ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:**

**Гильманов А.Ж.**, д.м.н., профессор (Уфа, Россия);  
**Добровольский А.Б.**, д.б.н., профессор (Москва, Россия);  
**Земсков В.М.**, д.м.н., профессор (Москва, Россия)  
**Иванов А.А.**, д.м.н., профессор (Москва, Россия);  
**Ипполитов Е.В.**, д.м.н., профессор (Москва, Россия);  
**Кочетов А.Г.**, д.м.н., профессор (Москва, Россия);  
**Марданлы С.Г.**, д.м.н., профессор (Электрогорск, Россия);  
**Тотолян А.А.**, академик РАН, д.м.н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

**РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:**

**Арипов А.Н.**, д.м.н., профессор (Ташкент, Узбекистан);  
**Вавилова Т.В.**, д.м.н., профессор (Санкт-Петербург, Россия);  
**Горбунов В.А.**, к.м.н., доцент (Минск, Беларусь);  
**Долгих Т.И.**, д.м.н., профессор (Омск, Россия);  
**Ельчанинова С.А.**, д.м.н., профессор (Барнаул, Россия);  
**Керимов С.Г.**, д.м.н., профессор (Баку, Азербайджан);  
**Кушлинский Н.Е.**, академик РАН, д.м.н., профессор (Москва, Россия);  
**Маматкулов И.Х.**, д.м.н., профессор (Ташкент, Узбекистан);  
**Осман Халил Ареф**, к.б.н. (Хомс, Сирия)  
**Сергеев А.Ю.**, д.м.н., профессор (Томск, Россия);  
**Талыбов Т.Г.**, академик НАН, д.б.н., профессор (Нахчыван, Азербайджан);  
**Тартаковский И.С.**, д.б.н., профессор (Москва, Россия);  
**Эмануэль В.Л.**, д.м.н., профессор (Санкт-Петербург, Россия);  
**Яровая Г.А.**, д.б.н., профессор (Москва, Россия)

LLC Publishing Group  
"Media Sphera"

Joint Stock Company  
"EKOLab"

# D KLINICHESKAYA LABORATORNAYA iagnostika

Volume 69  
9 • 2024

Russian Clinical Laboratory Diagnostics

SCIENTIFIC PRACTICAL MONTHLY JOURNAL

SEPTEMBER

The Journal is founded in 1955

**Founders:**

**LLC "Publishing Group "Media Sphera"**  
(print edition)

127238, Moscow, Dmitrovskoe sh., 46 k.  
b. 2;

**Joint Stock Company "EKOLab"**  
(electronic edition)

142530, Moscow region, Elektrogorsk,  
St. Budyonnogo, 1

**Publisher:**

**Joint Stock Company "EKOLab"**

Editorial office phone:  
8-916-201-80-47,

**Managing editor:**

**L.A. Shankina**  
E-mail: [clin.lab@yandex.ru](mailto:clin.lab@yandex.ru)

**Technical editor:**

**Ch.A. Safarov**  
E-mail: [klinlab@internet.ru](mailto:klinlab@internet.ru)

**The responsibility for credibility of information  
contained in advertising materials is accounted  
for advertisers**

**WWW страница:** <https://clinlabdia.ru/>

**E-mail:** [klinlab@internet.ru](mailto:klinlab@internet.ru)

PI No. FS77-37760 dated 10/07/2009

EL No. FS77-80929 dated 04/21/2021

All rights reserved. Any part of this edition can not  
be entered computer memory nor be reproduced  
with any other mode without preliminary permission  
of editor in written form.

The Journal is presented in data base of the Rus-  
sian index of scientific quotation (RiNZ) and in fol-  
lowing I&R editions: Abstracts of Micology, Adis  
International Ltd Reactions Weekly, Chemical  
Abstracts (print), Chemical Titles, EBCOhost Bio-  
logical Abstracts (Online), Elsevier BV EMBASE,  
Elsevier BV Scopus, Excerpta Medica, Abstract  
Journals, Index Medicus, Index to Dental Litera-  
ture, OCLC Article First, Reactions Weekly (Print),  
Thomson Reuters Biological Abstracts (Online),  
Thomson Reuters BIOSIS Previews, VINITI RAN  
Referativnyi Zhurnal, Ulrich's International Periodi-  
cals Directory

ISSN: 0869-2084 (Print)  
ISSN: 2412-1320 (Online)

**EDITOR-IN-CHIEF:**

**A.Yu. MIRONOV**, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Moscow, Russia*)

**DEPUTIE EDITOR-IN-CHIEF:**

**Galina G. Kharseeva**, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Rostov-on-Don, Russia*);

**SCIENTIFIC EDITOR:**

**Igor V. Chebotar**, Dr. Sci. (Med.) (*Moscow, Russia*);

**EXECUTIVE SECRETARY:**

**Irina I. Andreeva**, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor (*Rostov-on-Don, Russia*);

**EDITORIAL BOARD MEMBERS:**

**Aleksandr Zh. Gilmanov**, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Ufa, Russia*);

**Anatoliy B. Dobrovolsky**, Dr. Sci. (Biol.), Professor (*Moscow, Russia*);

**Vladimir M. Zemskov**, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Moscow, Russia*);

**Evgeny V. Ippolitov**, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Moscow, Russia*);

**Aleksey A. Ivanov**, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Moscow, Russia*);

**Anatoliy G. Kochetov**, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Moscow, Russia*);

**Seifaddin G. Mardanly**, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Elektrogorsk, Russia*);

**Areg A. Totolian**, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor (*St. Petersburg, Russia*)

**EDITORIAL COUNCIL MEMBERS:**

**Abdumalik N. Aripov**, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Tashkent, Uzbekistan*);

**Tatiana V. Vavilova**, Dr. Sci. (Med.), Professor (*St. Petersburg, Russia*);

**Vladimir A. Gorbunov**, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor (*Minsk, Belarus*);

**Tatiana I. Dolgikh**, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Omsk, Russia*);

**Svetlana A. Elchaninova**, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Barnaul, Russia*);

**Sanan G. Kerimov**, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Baku, Azerbaijan*);

**Nikolay E. Kushlinskii**, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor  
(*Moscow, Russia*);

**Ibrokhim Kh. Mamatkulov**, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Tashkent, Uzbekistan*);

**Osman Khalil Aref**, Cand. Sci. (Biol.), (*Homs, Syria*)

**Aleksey Yu. Sergeev**, Dr. Sci. (Med.), Professor (*Tomsk, Russia*);

**Tariel G. Talybov**, the NAN Academician, Dr. Sci. (Biol.), Professor (*Nakh-  
chivan, Azerbaijan*);

**Igor S. Tartakovskiy**, Dr. Sci. (Biol.), Professor (*Moscow, Russia*);

**Vladimir L. Emanuel**, Dr. Sci. (Med.), Professor (*St. Petersburg, Russia*);

**Galina A. Yarovaya**, Dr. Sci. (Biol.), Professor (*Moscow, Russia*)

## СОДЕРЖАНИЕ

### БИОХИМИЯ

*Сарф Е.А., Дьяченко Е.И., Бельская Л.В.*

Свободный транс-4-гидроксипролин в слюне при разных молекулярно-биологических подтипах рака молочной железы . . . . . 431

*Максимов Р.А., Колесников Е.Н., Демидов С.И., Тимошкина Н.Н., Власов С.Н.*

Перспективы применения циркулирующих неcodирующих РНК у больных забрюшинными липосаркомами для послеоперационного мониторинга течения болезни . . . 439

### ГЕМАТОЛОГИЯ

*Евлампиева Л.Г., Харац В.Е., Сергейчик О.И., Сталлингс А.Д., Горбатенко Е.А., Леонович С.В., Ярославская Е.И.*

Оценка взаимосвязи лабораторных показателей крови с результатами СиПАП терапии у пациентов кардиологического профиля . . . . . 445

### ИММУНОЛОГИЯ

*Костинов М.П., Тюкавкина С.Ю., Харсеева Г.Г., Миронов А.Ю., Каушанская Л.В., Муслимова З.А.*

Клиническая лабораторная диагностика, иммунопатогенез, иммунокоррекция при COVID-19 (обзор литературы) . . . . . 456

### МИКРОБИОЛОГИЯ

*Поспелова Ю.С., Каримова Н.В., Кузнецова М.В.*

Вирулентный потенциал штаммов *Escherichia coli*, выделенных при нозокомиальных и внебольничных инфекциях мочевыводящих путей у взрослых . . . . . 468

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

Архитектоника микробиоты эндометрия у женщин с бесплодием различного генеза . . . . . 478

*Козлов А.В., Лямин А.В., Абрамова А.А., Шафигуллина Л.Р.*

Оценка факторов, влияющих на результаты микробиологической диагностики инфекций кровотока с помощью автоматических гемокультураторов (обзор литературы) . . . . . 487

#### ВНИМАНИЮ АВТОРОВ И ЧИТАТЕЛЕЙ!

**Журнал «Клиническая лабораторная диагностика» входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы результаты диссертаций на соискание учёной степени доктора и кандидата наук**

## CONTENTS

### BIOCHEMISTRY

*Sarf E.A., Dyachenko E.I., Bel'skaya L.V.*

Salivary free trans-4-hydroxyproline in different molecular biological subtypes of breast cancer . . .431

*Maksimov R.A., Kolesnikov E.N., Demidov S.I., Timoshkina N.N., Vlasov S.N.*

Prospects for the use of circulating non-coding RNAs in patients with retroperitoneal liposarcomas for postoperative monitoring of the course of the disease . . . . .439

### HEMATOLOGY

*Evlampieva L.G., Kharats V.E., Sergeichik O.I., Stallings, A.D., Gorbatenko E.A., Leonovich S.V., Yaroslavskaya E.I.*

Assessment of the relationship between laboratory blood parameters and the results of CPAP therapy in cardiac patients . . . . .445

### IMMUNOLOGY

*Kostinov M.P., Tyukavkina S.Y., Kharseeva G.G., Mironov A.Yu., Kaushanskaya L.V., Muslimova Z.A.*

Clinical laboratory diagnostics, immunopathogenesis, immunocorrection in COVID-19 (review of literature) . . . . .456

### MICROBIOLOGY

*Pospelova J.S., Karimova N.V., Kuznetsova M.V.*

Virulence potential of *Escherichia coli* strains isolated from nosocomial and community hospital urinary tract infections in adults . . . . .468

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

Architectonics of endometrial microbiota in women with infertility of various genesis . . . . .478

*Kozlov A.V., Lyamin A.V., Abramova A.A., Shafigullina L.R.*

Assessment of factors influencing the results of microbiological diagnosis of bloodstream infections using automatic hemocultivators (review of literature) . . . . .487

## БИОХИМИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Сарф Е.А., Дьяченко Е.И., Бельская Л.В.

### СВОБОДНЫЙ ТРАНС-4-ГИДРОКСИПРОЛИН В СЛЮНЕ ПРИ РАЗНЫХ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПОДТИПАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ФГБОУ ВО «Омский государственный педагогический университет», 644099, г. Омск, Россия

**Актуальность.** Изменение продукции и структуры коллагена при раке молочной железы (РМЖ) может влиять на стимулирование и прогрессирование опухоли от ее злокачественного трансформирования до усиленной инвазии, ангиогенеза и метастазирования.

**Цель работы:** определение концентрации пролина (Pro), транс-4-гидроксипролина (t4HYP) и гидроксипролина (Hyl) как основных аминокислот, входящих в структуру коллагена в слюне при РМЖ, а также оценка их взаимосвязи с клинико-патологическими и молекулярно-биологическими характеристиками РМЖ.

**Материал и методы.** Проведено исследование на 141 добровольцах, разделенных на 2 группы: основная (рак молочной железы, n=116) и контрольная группа (условно здоровые, n=25).

**Результаты.** Установлено повышение концентрации Pro в слюне, не зависящее от клинико-патологических и молекулярно-биологических характеристик РМЖ, что может рассматриваться как потенциальный диагностический маркер. Повышенное содержание Pro, t4HYP и Hyl в слюне коррелирует с HER2-положительным статусом РМЖ, тогда как повышенное содержание t4HYP и Hyl коррелирует с отсутствием экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона, низкой дифференцировкой и высокой пролиферативной активностью опухоли, что в комплексе является прогностически неблагоприятными признаками и характерно для агрессивных молекулярно-биологических подтипов РМЖ. Для t4HYP показаны взаимосвязи с показателями иммунного статуса (ИЛ-2, ИЛ-10 и ИЛ-18) в слюне при РМЖ.

**Обсуждение.** Показано, что концентрация Pro в целом повышена в слюне при РМЖ, тогда так именно для t4HYP и Hyl выявлены тонкие различия между подгруппами РМЖ, отличающимися по клинико-патологическим и молекулярно-биологическим характеристикам. Для t4HYP показано больше взаимосвязей с показателями иммунного статуса в слюне при РМЖ.

**Заключение.** Это подчеркивает необходимость комплексной оценки содержания метаболитов коллагена в слюне при РМЖ.

**Ключевые слова:** слюна; рак молочной железы; пролин; транс-4-гидроксипролин; гидроксипролин; коллаген

**Для цитирования:** Сарф Е.А., Дьяченко Е.И., Бельская Л.В. Свободный транс-4-гидроксипролин в слюне при разных молекулярно-биологических подтипах рака молочной железы. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (9): 431-438. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-9-431-438>

**Для корреспонденции:** Бельская Людмила Владимировна, канд. хим. наук, зав. научно-исследовательской лаб. биохимии; e-mail: [belskaya@omgpru.ru](mailto:belskaya@omgpru.ru).

**Финансирование.** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда «Диагностическая и прогностическая значимость аминокислотного профиля слюны при раке молочной железы», проект 23-15-00188.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 28.05.2024

Принята к печати 02.07.2024

Опубликовано 00.09.2024

Sarf E.A., Dyachenko E.I., Bel'skaya L.V.

### SALIVARY FREE TRANS-4-HYDROXYPROLINE IN DIFFERENT MOLECULAR BIOLOGICAL SUBTYPES OF BREAST CANCER

Omsk State Pedagogical University, 644099, Omsk, Russia

**Background.** Alterations in collagen production and structure in breast cancer may influence tumor stimulation and progression from malignant transformation to increased invasion, angiogenesis, and metastasis.

**Objective.** The purpose of the work is to determine the concentration of proline (Pro), trans-4-hydroxyproline (t4HYP) and hydroxylysine (Hyl) as the main amino acids included in the structure of collagen in saliva in breast cancer, as well as to assess their relationship with clinicopathological and molecular biological characteristics breast cancer.

**Material and methods.** A study was conducted on 141 volunteers, divided into 2 groups: the main group (breast cancer, n=116) and the control group (conditionally healthy, n=25).

**Results.** An increase in the concentration of Pro in saliva was established, independent of the clinicopathological and molecular biological characteristics of breast cancer, which can be considered as a potential diagnostic marker. Increased levels of Pro, t4HYP and

*Hyl* in saliva correlate with the HER2-positive status of breast cancer, while increased levels of t4HYP and Hyl correlate with the lack of expression of estrogen and progesterone receptors, low differentiation and high proliferative activity of the tumor, which in combination are prognostically unfavorable signs and characteristic for aggressive molecular biological subtypes of breast cancer. For t4HYP, relationships with indicators of immune status (IL-2, IL-10 and IL-18) in saliva in breast cancer were shown.

**Discussion.** It has been shown that the concentration of Pro is generally increased in saliva in breast cancer, while subtle differences in clinicopathological and molecular biological characteristics have been identified for t4HYP and Hyl. For t4HYP, more relationships were shown with indicators of salivary immune status in breast cancer.

**Conclusion.** This emphasizes the need for a comprehensive assessment of the content of collagen metabolites in saliva in breast cancer.

**Key words:** saliva; breast cancer; proline; trans-4-hydroxyproline; hydroxylysine; collagen

**For citation:** Sarf E.A., Dyachenko E.I., Bel'skaya L.V. Salivary free trans-4-hydroxyproline in different molecular biological subtypes of breast cancer. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (9): 431-438 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-9-431-438>

**For correspondence:** Bel'skaya L.V., PhD in Chemistry, Head of Laboratory, Biochemistry Research Laboratory; e-mail: [belskaya@omgpu.ru](mailto:belskaya@omgpu.ru)

**Information about authors:**

Bel'skaya L.V., <https://orcid.org/0000-0002-6147-4854>;

Dyachenko E.I., <https://orcid.org/0009-0005-3081-3226>;

Sarf E.A., <https://orcid.org/0000-0003-4918-6937>.

**Acknowledgment.** This research was funded by Russian Science Foundation, grant number 23-15-00188.

**Conflict of interests.** The authors declare absence of conflict of interests.

Received 28.05.2024

Accepted 02.07.2024

Published 00.09.2024

**Введение.** К основным методам обследования молочной железы на наличие уплотнений являются пальпаторным и маммографический методы диагностики. Данные способы позволяют получить результат, который является достаточным и необходимым симптоматическим признаком для дальнейшего обследования пациентов с целью исключения или подтверждения наличия рака молочной железы (РМЖ). Поскольку увеличение плотности внеклеточного матрикса (ВКМ) опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью молочной железы происходит за счет гиперпродукции коллагена, его высокой степени жесткости и повышенной стабилизации, в научной литературе отмечается повышенный интерес к изучению состава и структуры коллагена [1-3]. Известно, что на этапе синтеза коллагена после включения пролина (Pro) и лизина (Lys) в полипептидную цепь происходит их гидроксирование с образованием транс-4-гидроксипролина (t4HYP) и гидроксизина (Hyl). Реакцию образования t4HYP катализирует фермент коллаген-пролил-4-гидроксилаза (С-Р4Н) [4], который сверхэкспрессируется при РМЖ и способствует его прогрессированию посредством нескольких механизмов [5-7]. Посттрансляционная модификация Lys и Hyl обусловлена активацией фермента лизилоксидазы (LOX), также участвует в формировании стабильной структуры коллагеновых волокон [8-12]. Отмечено, что коллаген может непосредственно влиять на пролиферацию и дифференцировку эпителия молочной железы. Pro может стимулировать пентозофосфатный путь (ПФП), усиливать поток рибозы и тем самым ускорять синтез нуклеотидов, которые являются строительным материалом для раковых клеток в состоянии пролиферативной активности [13-17]. Помимо этого, опухоль-ассоциированный коллаген является модулятором иммунного ответа в микроокружении опухоли через активацию или подавление цитокинового ответа, тем самым, влияя на прогрессирование рака

[18]. Коллаген активирует Т- и В-клетки посредством связи с ИЛ-2 [19] и ингибирует синтез противовоспалительных цитокинов ИЛ-10 и ИЛ-18 [20]. Таким образом, сверх продукция коллагена обеспечивает физические и биохимические сигналы для поддержания пролиферативной активности и инвазивного роста раковых клеток [21]. При этом за счет образования поперечных связей структура коллагена становится более плотной, что приводит к повышенной жесткости ВКМ и может влиять на стимулирование и прогрессирование опухоли от ее злокачественного трансформирования до усиленной инвазии, ангиогенеза и метастазирования [22,23].

Ранее нами показано, что метаболические особенности РМЖ находят отражение в изменении биохимического состава слюны [24-26]. Это позволяет неинвазивным способом получать дополнительную информацию, которая может быть полезна как для понимания механизма развития РМЖ, так и для поиска новых диагностических маркеров [27-29].

Целью данной работы являлось определение концентрации Pro, t4HYP и Hyl как основных аминокислот, входящих в структуру коллагена в слюне при РМЖ, а также оценка их взаимосвязи с клинико-патологическими и молекулярно-биологическими характеристиками РМЖ.

**Материал и методы.** В исследовании случай – контроль приняли участие добровольцы, которые были разделены на 2 группы: основную (РМЖ,  $n=116$ , возраст  $56.6\pm 2.3$  года) и контрольную группу (условно здоровые,  $n=25$ , возраст  $49.7\pm 4.1$  года). Включение в группы происходило параллельно. В качестве критериев включения рассматривались: женский пол, возраст пациентов 30–60 лет, отсутствие какого-либо лечения на момент проведения исследования, в том числе хирургического, химиотерапевтического или лучевого, отсутствие признаков активной инфекции (включая гнойные процессы), проведение санации полости рта.

Критерии невключения: отсутствие гистологической верификации диагноза. Исследования одобрены на заседании комитета по этике БУЗ Омской области «Клинический онкологический диспансер» от 21 июля 2016 г., протокол № 15.

У всех пациенток основной группы гистологически и цитологически была подтверждена инвазивная карцинома молочных желез следующих стадий: стадия I+II – 80 (69,0%), стадия III+IV – 36 (31,0%). У 60 пациенток не выявлено признаков поражения метастазами регионарных лимфатических узлов ( $N_0$  – 51,7%), у 56 пациенток выявлены метастазы в смежаемых подмышечных лимфатических узлах ( $N_{1-3}$  – 48,3%). Опухоли молочных желез были классифицированы по степени дифференцировки ткани на высоко- и средне дифференцированные (G I+II,  $n=74$ ) и низкодифференцированные (GIII,  $n=42$ ). Во всех случаях определен статус рецепторов HER2, эстрогена и прогестерона. У 88 пациентов (75,9%) подтвержден HER2-отрицательный статус, у 27 (24,1%) – HER2-положительный; у 37 пациенток (31,9%) подтвержден ER-отрицательный статус, у 79 (68,1%) – ER-положительный; у 46 пациенток (39,7%) подтвержден PR-отрицательный статус, у 70 (60,3%) – PR-положительный. Значения Ki-67 менее 20% определено у 57 пациенток (49,1%), более 20% – у 59 пациенток (50,9%). По молекулярно-биологическим подтипам рака молочной железы пациентки распределены следующим образом: тройной негативный (ТНРМЖ) – 14 (12,1%), люминальный А – 40 (34,5%), люминальный В (HER2-отрицательный) – 35 (30,2%), люминальный В (HER2-положительный) – 15 (12,9%), нелюминальный РМЖ – 12 (10,3%). У добровольцев контрольной группы не было выявлено патологий молочных желез при плановом маммографическом и ультразвуковом исследованиях.

Образцы слюны собирали однократно на этапе госпитализации строго до начала лечения. Сбор образцов проведен в стерильные полипропиленовые центрифужные пробирки с завинчивающейся крышкой в объеме 2 мл. Образцы слюны собирали путем сплевывания без дополнительной стимуляции в интервале 8-10 часов утра, время максимальной секреции слюны, натошак после предварительного полоскания полости рта водой. У всех испытуемых рассчитывали скорость саливации (мл/мин), чтобы исключить влияния вязкости слюны на измеряемые параметры. Различий в скорости саливации между основной и контрольной группой не выявлено.

Непосредственно после сбора образцы центрифугировали при  $10,000 \times g$  в течение 10 минут (ЦЛн-16), отбирали 1 мл верхнего слоя, переносили в пробирки типа Эппендорф и хранили в морозильной камере при температуре  $-80^\circ\text{C}$  до проведения анализа.

Определение аминокислотного состава слюны выполнено методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием, разработанным в лаборатории биоинформатики и метабономики репродукции человека на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова».

Аликвоту образца объемом 40 мкл помещали в центрифужную пробирку и добавляли 40 мкл внутреннего стандарта и перемешивали с помощью вортекса Vortex

Labtex V-2 (Labtex) в течение 30 секунд. Затем добавляли 480 мкл раствора хлороформ/метанол = 2/1, об.:об. и 10 мкл воды очищенной. Перемешивали с помощью Vortex Labtex V-2 (Labtex) в течение 10 минут и центрифугировали 10 минут при скорости 16000 об/мин. при температуре  $-7^\circ\text{C}$  (ОНАУС, Ohaus Corp., Нью-Джерси, США). Отбирали 100 мкл верхнего водно-метанольного слоя в центрифужную пробирку вместимостью 1,5 мл и высушивали с помощью концентратора в токе азота. К сухому остатку добавляли 200 мкл 3N раствора хлористоводородной кислоты в бутаноле и перемешивали с помощью Multi-Vortex V-32 (Biosan) в течение 3 минут. Далее термостатировали 15 минут температуре  $60^\circ\text{C}$  и высушивали с помощью концентратора. Сухой остаток перерастворяли в 200 мкл раствора ацетонитрил/вода=3/1 и центрифугировали 30 минут при 16000 об/мин. при температуре  $-7^\circ\text{C}$ . После чего 100 мкл супернатанта переносили в чистую центрифужную пробирку типа Эппендорф и добавляли 200 мкл 10 мМ формиата аммония. Центрифугировали 30 минут при 16000 об/мин при температуре  $-7^\circ\text{C}$ , 100 мкл супернатанта переносили в виалу со вставкой.

Анализ образцов осуществляли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе 1260 Infinity II (Agilent, США) с детектированием на масс-спектрометре 6460 Triple Quad (Agilent, США). Разделение образцов осуществляли методом жидкостной хроматографии с использованием колонки Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18  $2,1 \times 100$  мм, с диаметром сорбента 1,8 мкм (Agilent, США). Для анализа тестируемых соединений в пробах разработан ВЭЖХ метод с масс-спектрометрическим детектированием в режиме мониторинга выбранных реакций. Для обратного расчёта концентраций использовали метод внутреннего стандарта. В качестве внутреннего стандарта использовали аланин-d4. Для построения калибровочной шкалы использовали не менее 6 образцов набора «Amino Acid» (Jasem, Turkey). Использовалось автоматическое интегрирование хроматограмм с помощью программного обеспечения «Quantitative Quant-myway» (Agilent, США).

Содержание в слюне цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-10, ИЛ-18) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов «Вектор Бест» (Россия) на анализаторе Thermo Fisher Multiskan FC (Waltham, США). Объем аликвоты во всех случаях составил 100 мкл, анализ и расчет концентрации цитокинов (пг/мл) проведен в соответствии с инструкцией производителя.

Статистический анализ полученных данных выполнен при помощи программ Statistica 10.0 (StatSoft) непараметрическим методом с использованием в зависимых группах критерия Вилкоксона, в независимых группах – U-критерия Манна-Уитни. Предварительно проведена проверка характера распределения и гомогенности дисперсий в группах. Согласно тесту Шапиро-Уилка содержание всех определяемых параметров не соответствует нормальному распределению ( $p < 0.05$ ). Проведённый тест на гомогенность дисперсий в группах (тест Бартлетта) позволил отклонить гипотезу, что дисперсии гомогенны по группам ( $p < 0.0001$ ). Поэтому для обработки полученных данных были применены непараметрические методы статистики. Описание выборки произво-

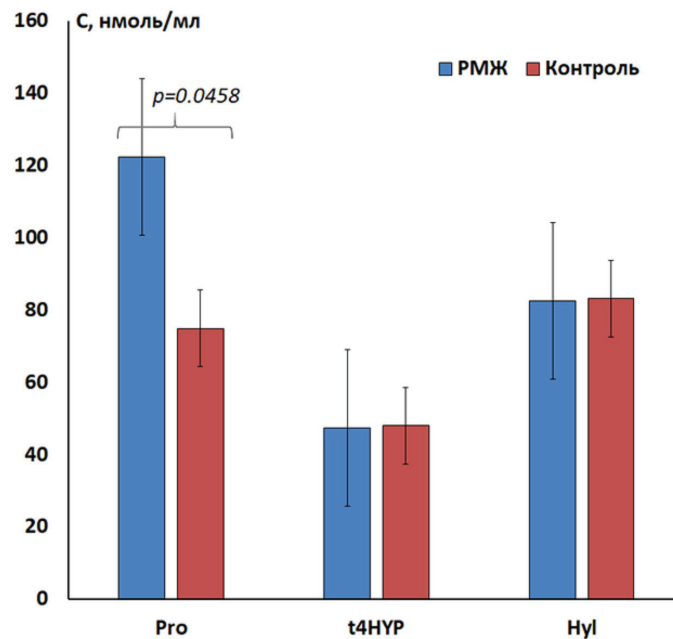


Рис.1. Концентрация аминокислот в слюне при РМЖ и в контрольной группе.

**Содержание Pro, t4HYP и HYL в слюне при РМЖ в зависимости от клинично-патологических и молекулярно-биологических характеристик опухоли**

Характеристика	n	Pro, нмоль/мл	t4HYP, нмоль/мл	Hyl, нмоль/мл
<b>Стадия:</b>				
Стадия I + II	80	125.6 [91.50; 162.9]*	47.32 [46.81; 47.99]	76.98 [41.60; 84.27]
Стадия III + IV	36	117.6 [84.38; 238.7]*	48.33 [47.94; 49.03]	82.74 [41.98; 84.58]
		-	<i>p=0.0195</i>	-
<b>Поражение лимфоузлов:</b>				
N <sub>0</sub>	60	120.9 [88.58; 150.9]*	47.42 [47.05; 52.53]	82.78 [41.53; 84.89]
N <sub>1-3</sub>	56	127.2 [89.30; 188.7]*	47.94 [46.48; 49.03]	56.09 [42.29; 83.50]
<b>Молекулярно-биологический подтип:</b>				
Люминальный A	40	122.2 [88.58; 199.6]*	47.16 [9.10; 47.46]	45.14 [41.53; 84.51]
Люминальный B (HER2+)	15	141.5 [103.7; 222.3]*	47.32 [31.81; 47.94]	67.86 [51.15; 84.58]
Люминальный B (HER2-)	35	117.4 [73.68; 175.2]*	47.50 [46.98; 48.33]	82.64 [41.98; 83.88]
Нелюминальный	12	120.9 [88.63; 182.4]*	48.13 [47.94; 48.33]	83.03 [83.01; 84.21]
ТНРМЖ	14	129.4 [84.78; 151.4]*	48.40 [47.35; 52.92]	84.58 [63.18; 87.74]
<b>Статус экспрессии рецепторов HER2:</b>				
HER2 (-)	88	121.6 [83.22; 172.6]*	47.38 [46.94; 48.06]	65.06 [41.60; 84.27]
HER2 (+)	27	135.8 [102.1; 220.1]*	48.13 [47.94; 48.33]	83.61 [51.15; 84.58]
		-	<i>p=0.0461</i>	-
<b>Статус экспрессии рецепторов эстрогена (ER):</b>				
ER (-)	37	128.0 [89.77; 151.4]*	48.33 [47.94; 48.40]	83.01 [43.62; 85.40]
ER (+)	79	122.1 [87.39; 181.1]*	47.32 [46.81; 47.99]	65.06 [41.79; 84.25]
<b>Статус экспрессии рецепторов прогестерона (PR):</b>				
PR (-)	46	119.6 [88.63; 175.6]*	47.94 [46.81; 48.33]	83.01 [48.58; 84.21]
PR (+)	70	124.9 [88.58; 170.7]*	47.42 [47.15; 48.06]	50.66 [41.41; 84.70]
<b>Степень дифференцировки (G):</b>				
G I + II	74	122.9 [89.77; 188.6]*	47.21 [46.81; 47.38]	52.30 [41.98; 84.51]
G III	42	119.6 [85.43; 148.7]*	48.06 [47.94; 48.67]	83.01 [41.26; 84.27]
		-	<i>p=0.0071</i>	-
<b>Индекс пролиферативной активности Ki-67:</b>				
< 20%	57	127.9 [91.16; 186.8]*	47.16 [27.96; 47.76]	52.30 [41.60; 84.51]
> 20%	59	117.8 [84.78; 170.1]*	47.94 [47.27; 48.67]	82.74 [41.98; 84.27]
		-	<i>p=0.0486</i>	-

Примечание. \* - различия с контрольной группой статистически достоверны,  $p < 0,05$ ; n - число обследованных.



дили с помощью медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25-го и 75-го перцентилей [LQ; UQ]. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Концентрация Pro в слюне при РМЖ статистически значимо выше, чем в норме: 122.4 [88.58; 172.6] vs. 74.96 [63.51; 189.4] нмоль/мл, тогда как для t4НУР и Ну1 различий со здоровым контролем не выявлено (рис.1).

Следует отметить, что для Pro независимо от деления на подгруппы в зависимости от клинико-патологических и молекулярно-биологических характеристик РМЖ во всех случаях сохраняется статистически значимое различие с контрольной группой (см. таблицу, рис. 2, А).

Только для t4НУР показаны статистически значимые различия при анализе отдельных подгрупп РМЖ (см. таблицу). Так, концентрация t4НУР растет с увеличением стадии и степени дифференцировки РМЖ. Наблюдается рост концентрации t4НУР при наличии экспрессии HER2, отрицательном статусе экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона, а также высоком значении Ki-67. Максимальное увеличение концентрации t4НУР отмечено в слюне при нелюминальном и тройном негативном РМЖ (ТНРМЖ) (рис. 2, Б).

Для Ну1 показано незначительное увеличение кон-

центрации на распространенных стадиях РМЖ, а также при низкой степени дифференцировки и высоком значении Ki-67 (см. таблицу). Концентрация Ну1 растет при HER2 положительном статусе, а также при отсутствии экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона. Незначительное увеличение концентрации Ну1 отмечено только для ТНРМЖ (рис. 2, В).

Показано, что именно повышение концентрации t4НУР коррелирует с ростом уровня ИЛ-2 ( $r=0.3414$ ), а также уменьшением уровня ИЛ-10 ( $r=-0.4274$ ) и ИЛ-18 ( $r=-0.5491$ ) в слюне. Известно, что эти цитокины играют важную скоординированную роль в генезе РМЖ. Для Pro и Ну1 корреляционных взаимосвязей с цитокинами не выявлено.

Показано, что изменение концентрации ИЛ-2 и ИЛ-10 повышается в слюне для всех молекулярно-биологических подтипов РМЖ (рис. 3, А). Для ИЛ-2 отмечено более низкое содержание при люминальных А и В подтипах, тогда как содержание ИЛ-10 повышено при HER2-положительных подтипах РМЖ. Для ИЛ-18 отмечена интересная тенденция: концентрация при люминальных (эстроген- и прогестерон-положительных) подтипах РМЖ выше, чем в контрольной группе, тогда как при гормон-отрицательных подтипах РМЖ – ниже (рис. 3, Б).

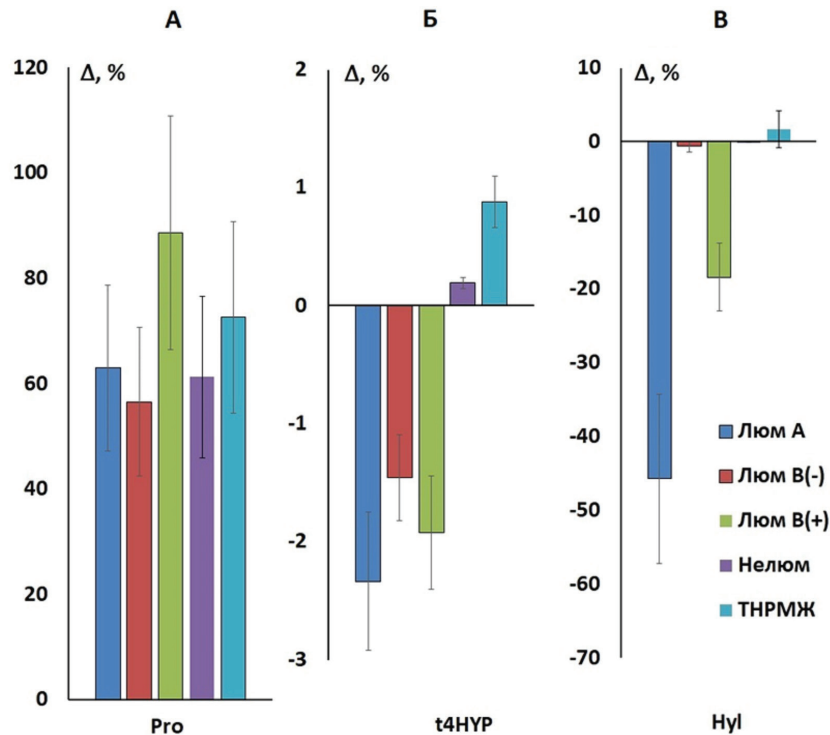


Рис.2. Относительное изменение концентрации аминокислот в слюне при РМЖ по сравнению с контрольной группой для разных молекулярно-биологических подтипов. А – Pro, Б – t4НУР, В – Ну1. Относительное изменение рассчитано как разница концентраций в исследуемой и контрольной группах по отношению к контрольной группе, %.

**Обсуждение.** Нами продемонстрирован рост концентрации Pro в слюне при РМЖ, независимо от клинико-патологических и молекулярно-биологических характеристик опухоли. Повышение его концентрации не отражает специфические метаболические реакции для конкретного молекулярного подтипа РМЖ. Роль Pro в организме человека разнообразна: он подвергается

посттрансляционной модификации гидроксилирования с образованием t4НУР и коллагеновых волокон; принимает участие в анаплеротической реакции через образование  $\alpha$ -кетоглутарата [30], субстрата цикла трикарбоновых кислот, как главного источника АТФ [31]; активирует ПФП, синтез рибонуклеотидов, что является источником строительных материалов для активно

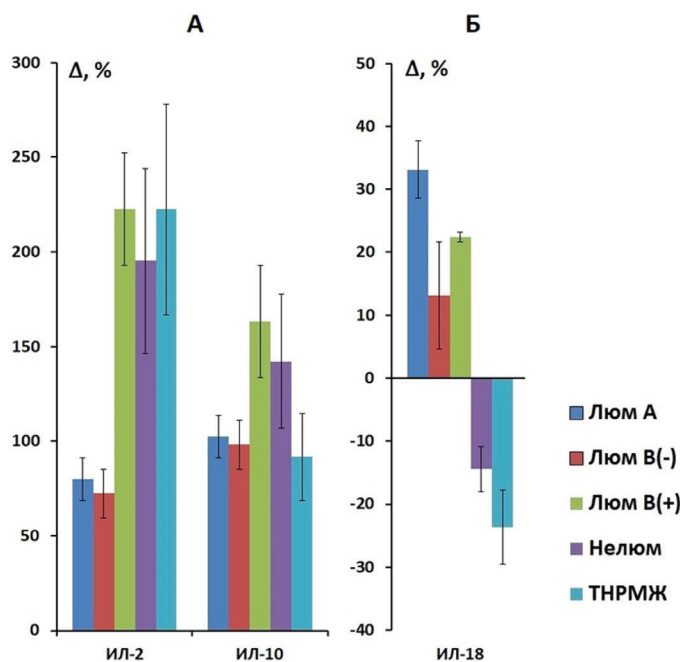


Рис. 3. Относительное изменение концентрации цитокинов в слюне при РМЖ по сравнению с контрольной группой в зависимости от молекулярно-биологического подтипа. А – ИЛ-2, ИЛ-10, Б – ИЛ-18.

делящихся опухолевых клеток [32].

В отличие от Pro для t4НУР нами показана взаимосвязь с характеристиками РМЖ (см. таблицу). Так, статистически значимое увеличение содержания t4НУР коррелирует с увеличением стадии рака груди и степенью дифференцировки онкологических клеток, а также с наличием экспрессии HER2 и высоким значением Ki-67. Исходя из этих данных, уровень свободного t4НУР в слюне должен быть выше у пациентов с нелюминальным подтипом РМЖ, однако нами также показано его увеличение при ТНРМЖ. R. Xu [21] было показано, что высокое содержание С-Р4Н, и как следствие, t4НУР наблюдаются среди пациентов с ТНРМЖ [21]. Для этой группы характерны высокий уровень метастазирования [33], высокая резистентность к химиотерапии и худшие прогнозы по выживаемости [5,34]. По-видимому, повышение уровня t4НУР в слюне для этих подгрупп объясняется другими факторами, в частности отсутствием экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона, что объединяет эти две подгруппы (рис. 2).

Помимо Pro в формировании структуры коллагена участвуют Lys и Hyl. Для создания более длинных коллагеновых волокон [35-37] и придания жесткости ВКМ [38] Lys и Hyl окисляется при воздействии фермента LOX. За счет этого, образуются ковалентные поперечные связи во ВКМ [39]. Данный фермент может выступать в роли пускового механизма для метастазирования при РМЖ [40]. Концентрация Hyl, отражающего стабильность и жесткость ВКМ, увеличивается при отрицательном статусе экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона, низкой дифференцировке и высоким индексом пролиферативной активности, а соответственно при ТНРМЖ (Рис.2).

Известно, что изменение основных компонентов микроокружения опухоли влияет на ее молекулярно-биологические особенности, что приводит к измене-

нию ВКМ [41]. Так, более агрессивный подтип РМЖ может сопровождаться усиленным отложением коллагеновых волокон [42,43].

Нами показано, что содержание t4НУР в слюне коррелирует с показателями иммунного ответа при РМЖ (см. рис. 3). Согласно литературным источникам, сопряженное увеличение уровня ИЛ-2 и t4НУР связано с тем, что коллагеновые волокна I и III типов выступают в роли внеклеточного хранилища для биологически активного ИЛ-2 [44]. В данном случае, коллагеновые волокна оказывают модулирующее действие на локальные ИЛ-2, несущие на себе рецепторы с низким сродством, привлекая Т-клетки, несущие ИЛ-2 с рецепторами, обладающими высоким сродством. Также коллагены содержат интегрин, активность которых влияет на активацию рецепторов ИЛ-2, через активацию рецепторов p55 и p75. Помимо этого, интегрин активируют ряд факторов роста, что приводит к митотической активности ИЛ-2 и входу в S-фазу [45]. Таким образом, коллагены накапливают и стимулируют пролиферацию цитокина ИЛ-2. При его деградации происходит высвобождение существенного количества ИЛ-2 во внеклеточное пространство, где реализуется главная противовоспалительная роль цитокина через активацию Т- и В-клеток и естественных киллеров (НК-клетки) ауто/паракринным методом. Это отражает нормальную физиологическую реакцию на повреждение, как происходит при заживлении ран. Коллагеновые волокна закрывают очаг поражения, а ИЛ-2 активирует клеточный иммунный ответ. Главное отличие между физиологической реакцией на повреждение и РМЖ заключается в том, что коллагеновые волокна в последнем случае имеют измененную структуру и воздействие носит негативный характер [44].

Рост концентрации t4НУР имел обратную направленную связь с ИЛ-10 и ИЛ-18. Помимо общеизвестной

роли данных цитокинов в регуляции иммунного ответа, они могут подавлять продукцию ВКМ. Так, ИЛ-10 ослабляет продукцию ВКМ [46,47] и стимулирует активность протеолитических ферментов, участвующих в его деградации [48], и наоборот, низкий уровень ИЛ-10 может способствовать синтезу коллагена [49]. Так, в одном из исследований были обнаружены антифибротические свойства ИЛ-10 на примере изучения гипертрофического рубцевания кожи. Установлено, что ИЛ-10 ингибировал фиброз за счет активации перекрестных помех между путями передачи сигналов PI3K/AKT и STAT3 [50].

Антифибротические свойства ИЛ-18 реализуются за счет подавления экспрессии коллагеновых волокон через активацию гена Ets-1 [51,52] посредством фосфорилирования ERK, одного из ключевых сигнальных путей MAPK [53,54], что приводит к ингибированию TGF- $\beta$  (трансформирующего фактора роста  $\beta$ ) и синтезу коллагеновых волокон [55]. По всей видимости, как увеличенный синтез коллагеновых волокон, так и запуск сигнальных путей направлен на защиту от антифибротического влияния ИЛ-10 и ИЛ-18. Это согласуется с полученными нами результатами.

Таким образом, повышение концентрации Pro в слюне, не зависящее от клинико-патологических и молекулярно-биологических характеристик РМЖ, может рассматриваться как потенциальный диагностический маркер. Повышенное содержание Pro, t4НУР и Ну1 в слюне коррелирует с HER2-положительным статусом РМЖ, тогда как повышенное содержание t4НУР и Ну1 коррелирует с отсутствием экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона, низкой дифференцировкой и высокой пролиферативной активностью опухоли, что в комплексе является прогностически неблагоприятными признаками. Тем не менее, полученные результаты являются предварительными и требуют дальнейшей верификации на более представительной выборке.

**Заключение.** Показано, что концентрация Pro в целом повышена в слюне при РМЖ, тогда так именно для t4НУР и Ну1 выявлены тонкие различия между подгруппами РМЖ, отличающимися по клинико-патологическим и молекулярно-биологическим характеристикам. Для t4НУР показано больше взаимосвязей с показателями иммунного статуса в слюне при РМЖ. Это подчеркивает необходимость комплексной оценки содержания Pro и его метаболитов в слюне при РМЖ.

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Li H.X., Zheng J.H., Fan H.X., Li H.P., Gao Z.X., Chen D. Expression of  $\alpha\beta 6$  Integrin and Collagen Fibre in Oral Squamous Cell Carcinoma: Association With Clinical Outcomes and Prognostic Implications. *J. Oral. Pathol. Med.* 2013; 42: 547–56. DOI: 10.1111/jop.12044.
- Conklin M.W., Eickhoff J.C., Riching K.M., Pehlke C.A., Eliceiri K.W., Provenzano P.P., et al. Aligned Collagen Is a Prognostic Signature for Survival in Human Breast Carcinoma. *Am. J. Pathol.* 2011; 178: 1221–32. DOI: 10.1016/j.ajpath.2010.11.076.
- Esbona K., Yi Y., Saha S., Yu M., Van Doorn R.R., Conklin M.W., et al. The Presence of Cyclooxygenase 2, Tumor-Associated Macrophages, and Collagen Alignment as Prognostic Markers for Invasive Breast Carcinoma Patients. *Am. J. Pathol.* 2018; 188 (3): 559–73. DOI: 10.1016/j.ajpath.2017.10.025.
- Phang J.M. The regulatory mechanisms of proline and hydroxyproline metabolism: Recent advances in perspective. *Front. Oncol.* 2023; 26 (12): 1118675. DOI: 10.3389/fonc.2022.1118675.
- Shi R., Gao S., Zhang J., Xu J., Graham L.M., Yang X., et al. Collagen prolyl 4-hydroxylases modify tumor progression. *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*. 2021; 53 (7): 805–814. DOI: 10.1093/abbs/gmab065.
- Gorres K.L., Raines R.T. Prolyl 4-hydroxylase. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2010; 45 (2): 106–24. DOI: 10.3109/10409231003627991.
- Vasta J.D., Raines R.T. Human Collagen Prolyl 4-Hydroxylase Is Activated by Ligands for Its Iron Center. *Biochemistry*. 2016; 55 (23): 3224–33. DOI: 10.1021/acs.biochem.6b00251.
- Yamauchi M., Sricholpech M. Lysine post-translational modifications of collagen. *Essays Biochem.* 2012; 52: 113–33. DOI: 10.1042/bse0520113.
- Lucero H.A., Kagan H.M. Lysyl oxidase: an oxidative enzyme and effector of cell function. *Cell Mol. Life Sci.* 2006; 63: 2304–16. DOI: 10.1007/s00018-006-6149-9.
- Payne S.L., Hendrix M.J., Kirschmann D.A. Paradoxical roles for lysyl oxidases in cancer: a prospect. *J. Cell Biochem.* 2007; 101: 1338–1354. DOI: 10.1002/jcb.21371.
- Barry-Hamilton V., Spangler R., Marshall D., McCauley S., Rodriguez H.M., Oyasu M., et al. Allosteric inhibition of lysyl oxidase-like-2 impedes the development of a pathologic microenvironment. *Nat. Med.* 2010; 16 (9): 1009–17. DOI: 10.1038/nm.2208.
- Siddikuzzaman, Grace V.M., Guruvayoorappan C. Lysyl oxidase: a potential target for cancer therapy. *Inflammopharmacology*. 2011; 19: 117–29. DOI: 10.1007/s10787-010-0073-1.
- Burke L., Guterman I., Palacios G. R., Britton R.G., Burschowsky D., Tufarelli C., et al. The Janus-like role of proline metabolism in cancer. *Cell Death Discov.* 2020; 6: 104. DOI: 10.1038/s41420-020-00341-8.
- Liu W., Hancock C.N., Fischer J.W., Harman M., Phang J. M. Proline biosynthesis augments tumor cell growth and aerobic glycolysis: involvement of pyridine nucleotides. *Sci. Rep.* 2015; 5: 17206. DOI: 10.1038/srep17206.
- Pandhare J., Donald S. P., Cooper S. K., Phang J. M. Regulation and function of proline oxidase under nutrient stress. *J. Cell Biochem.* 2009; 107 (4): 759–68. DOI: 10.1002/jcb.22174.
- Tanner J.J., Fendt S.M., Becker D.F. The proline cycle as a potential cancer therapy target. *Biochemistry*. 2018; 57 (25): 3433–44. DOI: 10.1021/acs.biochem.8b00215.
- Phang J.M., Liu W., Zahirnyk O. Proline metabolism and microenvironmental stress. *Annu Rev. Nutr.* 2010; 30: 441–63. DOI: 10.1146/annurev.nutr.012809.104638.
- Gordon-Weeks A., Yuzhalin A.E. Cancer Extracellular Matrix Proteins Regulate Tumour Immunity. *Cancers (Basel)*. 2020; 12 (11): 3331. DOI: 10.3390/cancers12113331.
- Silver A.B., Tzeng S.Y., Lager M., Wang J., Ishihara J., Green J.J., et al. An engineered immunocytokine with collagen affinity improves the tumor bioavailability, tolerability, and therapeutic efficacy of IL-2. *Cell Rep. Med.* 2023; 4 (11): 101289. DOI: 10.1016/j.xcrm.2023.101289.
- Huang Y., Zou K., Jiang H., Li Z. The complex role of IL-10 in malignant ascites: a review. *Cancer Immunol. Immunother.* 2024; 73 (2): 32. DOI: 10.1007/s00262-023-03616-y.
- Xu R. P4HA1 is a new regulator of the HIF-1 pathway in breast cancer. *Cell Stress*. 2019; 3 (1): 27–28. DOI: 10.15698/cst2019.01.173.
- Pickup M.W., Mouw J.K., Weaver V.M. The Extracellular Matrix Modulates the Hallmarks of Cancer. *EMBO Rep.* 2014; 15: 1243–53. DOI: 10.15252/embr.201439246.
- Rømer A.M.A., Thorseth M.L., Madsen D.H. Immune Modulatory Properties of Collagen in Cancer. *Front. Immunol.* 2021; 12: 791453. DOI: 10.3389/fimmu.2021.791453.
- Bel'skaya L.V., Sarf E.A., Solomatin D.V., Kosenok V.K. Metabolic Features of Saliva in Breast Cancer Patients. *Metabolites*. 2022; 12 (2): 166. DOI: 10.3390/metabo12020166.
- Bel'skaya L.V., Sarf E.A. «Salivaomics» of Different Molecular Biological Subtypes of Breast Cancer. *Current Issues in Molecular Biology*. 2022; 44 (7): 3053–74. DOI: 10.3390/cimb44070211.
- Bel'skaya L.V., Sarf E.A. Prognostic Value of Salivary Biochemical Indicators in Primary Resectable Breast Cancer. *Metabolites*. 2022; 12 (6): 552. DOI: 10.3390/metabo12060552.
- Koopaie M., Kolahdooz S., Fatahadeh M., Manifar S. Salivary biomarkers in breast cancer diagnosis: A systematic review and diagnostic meta-analysis. *Cancer Med.* 2022; 11 (13): 2644–61. DOI: 10.1002/cam4.4640.

28. Nonaka T., Wong D.T.W. Saliva diagnostics: Salivaomics, saliva exo-omics, and saliva liquid biopsy. *J. Am. Dent. Assoc.* 2023; 154 (8): 696-704. DOI: 10.1016/j.adaj.2023.05.006.
29. Porto-Mascarenhas E.C., Assad D.X., Chardin H., Gozal D., De Luca Canto G., Acevedo A.C., et al. Salivary biomarkers in the diagnosis of breast cancer: A review. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2017; 110: 62-73. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2016.12.009.
30. Hancock C.N., Liu W., Alvord W.G., Phang J.M. Co-regulation of mitochondrial respiration by proline dehydrogenase/oxidase and succinate. *Amino Acids.* 2016; 48 (3): 859-72. DOI: 10.1007/s00726-015-2134-7.
31. Mihaylova M.M., Shaw R.J. The AMPK signalling pathway coordinates cell growth, autophagy and metabolism. *Nat. Cell Biol.* 2011; 13 (9): 1016-23. DOI: 10.1038/ncb2329.
32. Phang J.M. Proline metabolism in cell regulation and cancer biology: Recent advances and hypotheses. *Antioxid. Redox Signaling.* 2019; 30 (4): 635-49. DOI: 10.1089/ars.2017.7350.
33. Gilkes D.M., Chaturvedi P., Bajpai S., Wong C.C., Wei H., Pitcairn S., et al. Collagen prolyl hydroxylases are essential for breast cancer metastasis. *Cancer Res.* 2013; 73: 3285-96. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3963.
34. Xiong G., Deng L., Zhu J., Rychahou P.G., Xu R. Prolyl-4-hydroxylase  $\alpha$  subunit 2 promotes breast cancer progression and metastasis by regulating collagen deposition. *BMC Cancer.* 2014; 14: 1. DOI: 10.1186/1471-2407-14-1.
35. Mouw J.K., Ou G., Weaver V.M. Extracellular Matrix Assembly: A Multiscale Deconstruction. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2014; 15: 771-85. DOI: 10.1038/nrm3902.
36. Molnar J., Fong K.S., He Q.P., Hayashi K., Kim Y., Fong S.F., et al. Structural and functional diversity of lysyl oxidase and the LOX-like proteins. *Biochim. Biophys. Acta.* 2003; 1647 (1-2): 220-4. DOI: 10.1016/s1570-9639(03)00053-0.
37. Eyre D.R., Glimcher M.J. Collagen Cross-Linking. Isolation of Cross-Linked Peptides From Collagen of Chicken Bone. *Biochem J.* 1973; 135: 393-403. DOI: 10.1042/bj1350393.
38. Baker A.M., Bird D., Lang G., Cox T.R., Erler J.T. Lysyl Oxidase Enzymatic Function Increases Stiffness to Drive Colorectal Cancer Progression Through FAK. *Oncogene.* 2013; 32: 1863-8. DOI: 10.1038/onc.2012.202.
39. Rodriguez-Pascual F., Rosell-Garcia T. The challenge of determining lysyl oxidase activity: Old methods and novel approaches. *Anal. Biochem.* 2022; 639: 114508. DOI: 10.1016/j.ab.2021.114508.
40. Miller B.W., Morton J.P., Pinese M., Saturno G., Jamieson N.B., McGhee E., et al. Targeting the LOX/hypoxia axis reverses many of the features that make pancreatic cancer deadly: inhibition of LOX abrogates metastasis and enhances drug efficacy. *EMBO Mol. Med.* 2015; 7 (8): 1063-76. DOI: 10.15252/emmm.201404827.
41. Acerbi L., Cassereau I., Dean Q., Shi A., Au C., Park Y.Y., et al. Human breast cancer invasion and aggression correlates with ECM stiffening and immune cell infiltration. *Integr. Biol. (Camb.).* 2015; 7 (10): 1120-34. DOI: 10.1039/c5ib00040h.
42. Du W., Xia X., Hu F., Yu J. Extracellular matrix remodeling in the tumor immunity. *Front. Immunol.* 2024; 14: 1340634. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1340634.
43. Yu T., Di G. Role of tumor microenvironment in triple-negative breast cancer and its prognostic significance. *Chin. J. Cancer Res.* 2017; 29 (3): 237-52. DOI: 10.21147/j.issn.1000-9604.2017.03.10.
44. Somasundaram R., Ruehl M., Tiling N., Ackermann R., Schmid M., Riecken E.O. et al. Collagens serve as an extracellular store of bioactive interleukin 2. *J. Biol. Chem.* 2000; 275 (49): 38170-38175. DOI: 10.1074/jbc.M006616200.
45. Dustin M.L. Role of adhesion molecules in activation signaling in T lymphocytes. *J. Clin. Immunol.* 2001; 21 (4): 258-63. DOI: 10.1023/a:1010927208180.
46. Bogdan C., Vodovotz Y., Nathan C. Macrophage deactivation by interleukin 10. *J. Exp. Med.* 1991; 174 (6): 1549-55. DOI: 10.1084/jem.174.6.1549.
47. Sabat R., Grütz G., Warszawska K., Kirsch S., Witte E., Wolk K., et al. Biology of interleukin-10. *Cytokine & Growth Factor Reviews.* 2010; 21: 331-44. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2010.09.002.
48. Short W.D., Steen E., Kaul A., Wang X., Olutoye O.O. 2nd., Vangapandu H.V., et al. IL-10 promotes endothelial progenitor cell infiltration and wound healing via STAT3. *FASEB J.* 2022; 36 (7): e22298. DOI: 10.1096/fj.201901024RR.
49. Yamamoto T., Eckes B., Krieg T. Effect of interleukin-10 on the gene expression of type I collagen, fibronectin, and decorin in human skin fibroblasts: differential regulation by transforming growth factor-beta and monocyte chemoattractant protein-1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001; 281 (1): 200-5. DOI: 10.1006/bbrc.2001.4321.
50. Shi J., Li J., Guan H., Cai W., Bai X., Fang X., et al. Anti-fibrotic actions of interleukin-10 against hypertrophic scarring by activation of PI3K/AKT and STAT3 signaling pathways in scar-forming fibroblasts. *PLoS One.* 2014; 9(5): e98228. DOI: 10.1371/journal.pone.0098228.
51. Czuwara-Ladykowska J., Sementchenko V.I., Watson D.K.; Trojanowska M. Ets1 is an effector of the transforming growth factor beta (TGF-beta) signaling pathway and an antagonist of the profibrotic effects of TGF-beta. *J. Biol. Chem.* 2002; 277 (23): 20399-20408. DOI: 10.1074/jbc.M200206200.
52. Sherriff-Tadano R., Ohta A., Morito F., Mitamura M., Haruta Y., Koarada S., et al. Antifibrotic effects of hepatocyte growth factor on scleroderma fibroblasts and analysis of its mechanism. *Mod. Rheumatol.* 2006; 16 (6): 364-71. DOI: 10.1007/s10165-006-0525-z.
53. Westermarck J., Kähäri V.M. Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion. *FASEB J.* 1999; 13 (8): 781-92.
54. Reunanen N., Foschi M., Han J., Kahari V.M. Activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 inhibits type I collagen expression by human skin fibroblasts. *J. Biol. Chem.* 2000; 275 (44): 34634-9. DOI: 10.1074/jbc.C000175200.
55. Kim H.J., Song S.B., Choi J.M., Kim K.M., Cho B.K., Cho D.H., Park H.J. IL-18 downregulates collagen production in human dermal fibroblasts via the ERK pathway. *J. Invest Dermatol.* 2010; 130 (3): 706-15. DOI: 10.1038/jid.2009.302.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Максимов Р.А., Колесников Е.Н., Демидов С.И., Тимошкина Н.Н., Власов С.Н.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК У БОЛЬНЫХ ЗАБРЮШИННЫМИ ЛИПОСАРКОМАМИ ДЛЯ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО МОНИТОРИНГА ТЕЧЕНИЯ БОЛЕЗНИ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения России, 344019, Ростов-на-Дону, Россия

*Цель работы - сравнить экспрессионную активность дифференциально экспрессированных микроРНК (миРНК) в ткани липосарком различного гистологического типа с их экспрессией в сыворотке крови для разработки системы послеоперационного мониторинга течения болезни. Исследование проведено на 87 пациентах с забрюшинными неорганными липосаркомами. Высоккодифференцированные липосаркомы установлены у 51 (58,6%) больного, дедифференцированные у 26 (29,9%), плеоморфные у 7 (8,1%) и миксоидная у 3 (3,4%) пациентов. В течение 40 месяцев после операции фиксировали рецидивы заболевания и формировали две подгруппы пациентов в зависимости от течения болезни. Результаты экспрессии миРНК в опухолевых клетках операционных образцов, сыворотки крови как до, так и через 6 месяцев после операции ретроспективно сравнивали в подгруппах больных с наличием и отсутствием рецидивов. Формировали комплексную модель оценки риска развития рецидивов заболевания. В результате исследования идентифицированы специфические миРНК (миРНК-34, -619-5p, -1246, -4532), которые дифференцированно экспрессировались одновременно в сыворотке и опухолевой ткани у больных с забрюшинными липосаркомами. Для миРНК-34 и миРНК-1246 установлена статистически значимая связь между уровнями их содержания в ткани опухоли и сыворотки крови независимо от гистологического типа опухоли. миРНК-1246 показала самый высокий коэффициент корреляции. Анализ экспрессии миРНК-34 и миРНК-1246 в сыворотке крови через 6 месяцев после операции повышал прогностическую информативность оценки риска развития рецидива заболевания у больных с забрюшинными липосаркомами наряду с учетом степени злокачественности опухоли, состояния края хирургической резекции. Установлены разделительные уровни экспрессии для молекул в сыворотке крови через 6 месяцев после операции для формирования прогноза развития рецидивов. Идентифицированные циркулирующие миРНК-34 и миРНК-1246 представляют ценность в качестве биомаркеров при прогнозе течения забрюшинных липосарком.*

**Ключевые слова:** забрюшинные липосаркомы; прогноз рецидивов; биологические маркеры; микроРНК; дифференцированная экспрессия молекул

**Для цитирования:** Максимов Р.А., Колесников Е.Н., Демидов С.И., Тимошкина Н.Н., Власов С.Н. Перспективы применения циркулирующих некодирующих РНК у больных забрюшинными липосаркомами для послеоперационного мониторинга течения болезни. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (9): 439-444.  
DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-9-439-444>

**Для корреспонденции:** Максимов Роман Алексеевич, аспирант; e-mail: [alald@inbox.ru](mailto:alald@inbox.ru)

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 10.06.2024

Принята к печати 22.07.2024

Опубликовано 00.09.2024

*Maksimov R.A., Kolesnikov E.N., Demidov S.I., Timoshkina N.N., Vlasov S.N.*

## PROSPECTS FOR THE USE OF CIRCULATING NON-CODING RNAs IN PATIENTS WITH RETROPERITONEAL LIPOSARCOMAS FOR POSTOPERATIVE MONITORING OF THE COURSE OF THE DISEASE

National Medical Research Center of Oncology» of Ministry of Health of the Russian Federation, 344019, Rostov-on-Don, Russia

*The aim of the work was to compare the expression activity of differentially expressed microRNAs (miRNAs) in liposarcoma tissue of various histological types with their expression in blood serum to develop a system for postoperative monitoring of the disease. The study was conducted on 87 patients with retroperitoneal nonorgan liposarcomas. Well-differentiated liposarcomas were identified in 51 (58,6%) patients, dedifferentiated in 26 (29,9%), pleomorphic in 7 (8,1%) and myxoid in 3 (3,4%) patients. For 40 months after surgery, relapses of the disease were recorded and two subgroups of patients were formed depending on the course of the disease. Results of miRNA expression in tumor cells of surgical samples and blood serum both before and after 6 months. After surgery were retrospectively compared in subgroups of patients with and without relapses. We formed a comprehensive model for assessing the risk of disease relapse. As a result of the study, specific miRNAs were identified (miRNA-34, -619-5p, -1246, -4532), which were differentially expressed simultaneously in the serum and tumor tissue of patients with retroperitoneal liposarcomas. For miRNA-34 and miRNA-1246, a statistically significant relationship was established between the levels of their content in tumor tissue and blood serum, regardless of the histological type of tumor. miRNA-1246 showed the highest correlation coefficient. Analysis of the expression of miRNA-34 and miRNA-1246 in blood serum 6 months after surgery increased the prognostic information value of assessing the risk of disease relapse in patients with retroperitoneal liposarcomas, along with taking into account the degree of malignancy of the tumor and the state of the surgical resection margin. The separation expression levels for molecules in the blood serum 6 months after surgery were established to predict the development of relapses. The identified circulating miRNA-34 and miRNA-1246 are valuable as biomarkers in predicting the course of retroperitoneal liposarcomas.*

**Key words:** retroperitoneal liposarcomas; relapse prognosis; biological markers; microRNA; differentiated expression of molecules

**For citation:** Maksimov R.A., Kolesnikov E.N., Demidov S.I., Timoshkina N.N., Vlasov S.N. Prospects for the use of circulating non-coding RNAs in patients with retroperitoneal liposarcomas for postoperative monitoring of the course of the disease. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (9): 439-444 (in Russ.). DOI: https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-9-439-444

**For correspondence:** Maksimov R.A., graduate student; e-mail: alald@inbox.ru.

**Information about authors:**

Maksimov R.A., <https://orcid.org/0000-0003-1278-2700>;

Kolesnikov E.N., <https://orcid.org/0000-0001-9749-709X>;

Demidov S.I., <https://orcid.org/0009-0007-3046-9669>;

Timoshkina N.N., <https://orcid.org/0000-0001-6358-7361>;

Vlasov S.N., <https://orcid.org/0000-0003-3289-8436>.

**Acknowledgments.** The study had no sponsor support.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflicts of interests.

Received 10.06.2024

Accepted 22.07.2024

Published 00.09.2024

**Введение.** Липосаркома представляет собой самый распространенный тип сарком мягких тканей с удельной долей 20% [1]. Липосаркомы имеют множество гистологических подтипов и обычно развиваются в относительно молодом возрасте по сравнению с другими видами рака [1]. Липосаркомы подразделяются на 4 категории: высокодифференцированная (ВДЛС), дедифференцированная (ДДЛС), миксоидная (МЛС) и плеоморфная липосаркома (ПЛС) [2]. Гистологический тип опухоли определяет степень злокачественности опухолевых клеток и агрессивность течения заболевания [3].

МикроРНК (миРНК) представляют собой некодирующие РНК длиной 17-25 нуклеотидов и способны регулировать экспрессию генов на транскрипционном уровне путем связывания с матричными РНК-мишенями [4]. За последние десять лет исследований выявлены многочисленные доказательства, позволяющие подтвердить участие миРНК в развитии рака [5]. Циркулирующие миРНК привлекают особое внимание в качестве биомаркеров, поскольку открывают перспективы для многократного определения их содержания в сыворотке при послеоперационном мониторинге состояния больных [6].

Забрюшинные липосаркомы часто обнаруживают, когда объем опухоли и ее распространение не позволяют провести радикальную операцию [7], что значительно ухудшает течение болезни. Установлено, что высокая экспрессия миРНК-155 и -26a-2 в опухолевых клетках коррелирует с плохим прогнозом при ДДЛС [8,9]. миРНК-25-3p и -92a-3p гиперэкспрессируются в везикулах плазмы периферической крови, полученных от пациентов с липосаркомами [10]. Циркулирующие миРНК сыворотки рассматривают как биомаркеры определенных типов рака, таких как саркома [11], рак мочевого пузыря [12] и рак яичников [13]. Циркулируя в крови, высвобождаются ли идентифицированные миРНК из ткани липосарком? Зависит ли экспрессия миРНК в опухоли и сыворотке крови от гистологического типа забрюшинных липосарком? Обладает ли мониторинг циркулирующих миРНК информативностью для прогноза прогрессирования липосарком? Поставленные вопросы не являются решенными до настоящего времени. В связи с вышеизложенным, целью

нашего исследования явилось сравнить экспрессионную активность дифференциально экспрессированных миРНК в ткани липосарком различного гистологического типа с их экспрессией в сыворотке крови для разработки системы послеоперационного мониторинга течения болезни.

**Материал и методы.** Исследование проведено на 87 пациентах с забрюшинными неорганными липосаркомами. Среди пациентов клинической группы женщин было 51 (58,6%), мужчин 36 (41,4%). Средний возраст пациентов составлял 52,7±1,49 года с преобладающим числом больных до 60 лет (87,4%). По результатам гистологического заключения высокодифференцированные липосаркомы установлены у 51 (58,6%) больного, дедифференцированные у 26 (29,9%), плеоморфные у 7 (8,1%) и миксоидная у 3 (3,4%) пациентов.

Образцы сыворотки отбирали перед операцией или предоперационным лечением, а также через полгода после операции и хранили при температуре -20 °С для дальнейшего использования. Образцы тканей были получены из хирургических образцов пациентов, прооперированных в центре, и хранились при температуре -80 °С для дальнейшего использования. Образцы тканей были получены из хирургических образцов пациентов, прооперированных в центре, и хранились при температуре -80 °С. Настоящее исследование было одобрено Локальным независимым этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России. Письменное информированное согласие было получено от каждого пациента при госпитализации в центр.

Сывороточную РНК выделяли из 300 мкл сыворотки с использованием реагента для извлечения РНК 3D-Gene® (Toray Industries, Inc.). Свежезамороженные ткани измельчали в порошок в среде жидкого азота (-196 °С). Общую РНК выделяли из порошка замороженной опухолевой ткани с использованием набора miRNeasy® Mini kit (Qiagen, Германия). Комплементарную ДНК (кДНК) получали с помощью реагентов miScript II RT kit (Qiagen, Германия) в соответствии с инструкциями производителя. Образцы кДНК подвергали количественной ПЦР с использованием набора для ПЦР miScript SYBR Green PCR kit (Qiagen, Германия). Реакции ПЦР проводили в режиме реального вре-

мени Step One Plus (Applied Biosystems; Thermo Fisher Scientific, Inc.). При этом использовали специфические коммерческие праймеры для миРНК: Hs miR-155\_1, Hs miR-26a-2\_1, Hs miR-25-3p\_1, Hs miR-92a-3p\_1, Hs miR-619-5p\_1, Hs miR-1246\_1, Hs miR-4454\_1, Hs miR-4532\_1, Hs miR-6126\_1 фирмы Qiagen (Германия). Уровни экспрессии изучаемых миРНК в ткани и сыворотке крови были нормализованы относительно экспрессионной активности миРНК-103 [14]. При этом, относительную экспрессию миРНК мишени по отношению к референсной молекуле рассчитывали в условных единицах RQ по методу  $RQ=2^{-\Delta\Delta Ct}$ . С помощью корреляционного анализа оценивали связь между уровнями экспрессии миРНК в ткани и сыворотке крови.

В течение 40 месяцев после операции фиксировали рецидивы заболевания и формировали две подгруппы пациентов в зависимости от течения болезни. Результаты экспрессии миРНК в опухолевых клетках операционных образцов, сыворотки крови как до, так и через 6 месяцев после операции ретроспективно сравнивали в подгруппах больных с наличием и отсутствием рецидивов. С помощью ROC-анализа находили разделительный уровень циркулирующих миРНК, позволяю-

щий оценивать риск развития рецидива опухоли.

Статистический анализ результатов проводили с помощью компьютерной программы Statistica (StatSoft, США) и модулей описательной статистики, корреляционного и регрессионного анализа, ROC-анализа.

**Результаты и обсуждение.** У пациентов с липосаркомами независимо от гистологического типа опухоли в опухолевых образцах по отношению к референсной миРНК экспрессия миРНК-155, -21, -26a-2, -25-3p, -92a-3p, -619-5p, -1246, -4454, -4532, -6126 статистически значимо была повышена ( $p < 0,05$ ), экспрессионная активность миРНК-15a, -34 и -143 снижена (рис. 1). При множественном сравнении экспрессии миРНК в опухолевой ткани исключали больных с высокодифференцированными липосаркомами, имеющими благоприятный прогноз, в отличие от других гистологических типов. С помощью дисперсионного анализа установлено, что у пациентов с дедифференцированными, плеоморфными и миксоидной липосаркомами экспрессия миРНК-155, -21, 26a-2, -619-5p, -1246, -4454 различалась. Таким образом, выявлена дифференцированная экспрессия отдельных миРНК в зависимости от гистологического типа опухоли.

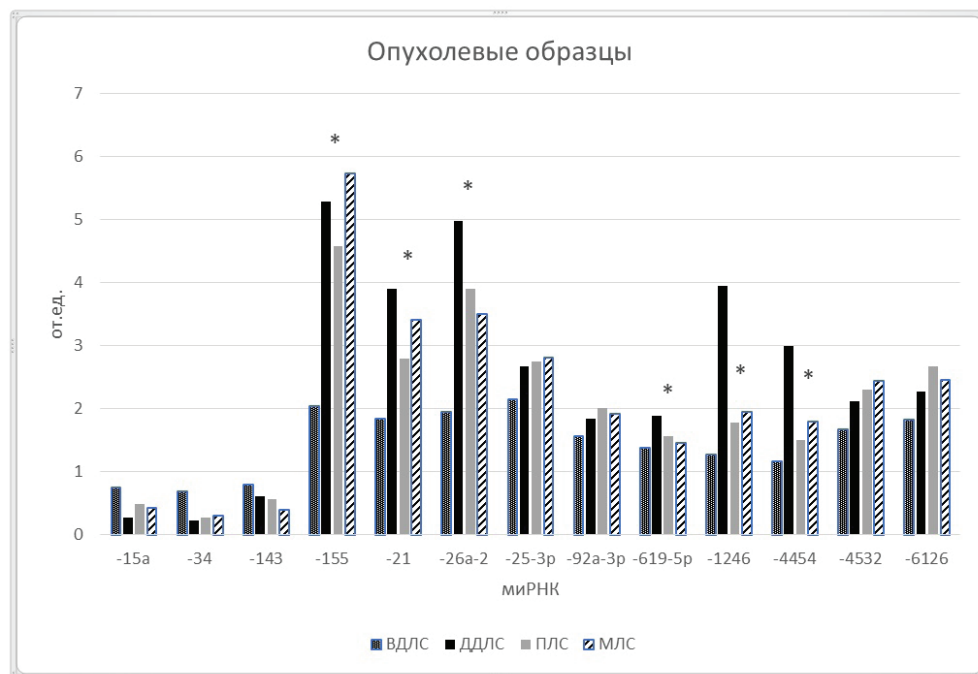


Рис. 1. Экспрессия миРНК в опухолевой ткани у больных липосаркомами.  
 \* - статистически значимое различие показателя у больных с ДДЛС, ПЛС, МЛС.

В сыворотке крови у пациентов с липосаркомами до операции высоко экспрессировались миРНК-619-5p, -1246, -4454, -4532, -6126, а экспрессия миРНК-34 была снижена. Экспрессия миРНК в ткани в целом была выше, чем в сыворотке. В табл. 1 представлены коэффициенты корреляции экспрессии миРНК в ткани и сыворотке с учетом гистологического типа опухоли.

Уровни экспрессии определенных миРНК, таких как миРНК-34, -619-5p, -1246, -4532, статистически значимо коррелировали между образцами сыворотки и опухолевой ткани. Данное обстоятельство позволи-

ло предположить, что уровень этих циркулирующих миРНК определялся экспрессией их в опухоли. Однако, только для двух молекул – миРНК-34 и миРНК-1246 установлена статистически значимая связь между уровнями их содержания в ткани опухоли и сыворотки независимо от гистологического типа опухоли. Причем миРНК-1246 показала самый высокий коэффициент корреляции. Следовательно, определение содержания миРНК-34 и -1246 может быть использовано для мониторинга течения развития липосарком вне зависимости от гистологии опухоли.

**Коэффициенты корреляции между экспрессией миРНК в ткани опухоли и сыворотке крови у больных с забрюшинными неорганными липосаркомками**

миРНК-	Коэффициенты корреляции (R, p)			
	ВДЛС	ДДЛС	ПЛС	МЛС
-34	<b>R=0,40, p=0,049</b>	<b>R=0,52, p=0,007</b>	<b>R=0,53, p=0,005</b>	<b>R=0,48, p=0,009</b>
-619-5p	R=0,34, p=0,076	<b>R=0,48, p=0,036</b>	<b>R=0,43, p=0,047</b>	R=0,32, p=0,215
-1246	<b>R=0,48, p=0,041</b>	<b>R=0,74, p=0,005</b>	<b>R=0,65, p=0,002</b>	<b>R=0,68, p=0,001</b>
-4454	R=0,29, p=0,193	R=0,30, p=0,095	R=0,24, p=0,281	R=0,22, p=0,176
-4532	R=0,24, p=0,205	<b>R=0,47, p=0,046</b>	<b>R=0,48, p=0,039</b>	R=0,32, p=0,095
-6126	R=0,14, p=0,281	R=0,40, p=0,172	R=0,17, p=0,461	R=0,28, p=0,353

Примечание. *p* – уровень значимости. Жирным шрифтом обозначены статистически значимые связи.

За 40 месяцев наблюдения рецидивы заболевания развились у 44 (50,6%) человек. У больных с забрюшинными липосаркомками рецидив опухоли проявляется множественными, отдельно расположенными узлами. Причем количество узлов нарастает с каждым новым рецидивом, что может указывать на имплантационный механизм возникновения рецидива забрюшинной неорганный липосаркомки. Наиболее важными факторами прогноза являются размер опухоли, радикальность хирургического вмешательства, гистологический тип липосаркомки, степень злокачественности [15]. Однако, гематогенный механизм распространения опухолевых клеток может вносить свою весомую лепту в рецидивирование болезни. Циркулирующие опухолевые клетки, сама опухолевая ткань могут быть источником сывороточных миРНК [16]. В исследовании было изучено сопряжение до- и послеоперационных (через 6 месяцев) уровней сывороточных миРНК-34 и миРНК-1246 с развитием рецидива забрюшинной ли-

посаркомки. Основанием для такого подхода явилось то, что у больных с забрюшинными липосаркомками данные миРНК дифференциально экспрессированы одновременно в опухолевой ткани и сыворотке крови и вне зависимости от гистологического типа опухоли установлена выраженная корреляция между экспрессией опухолевых и циркулирующих молекул.

В подгруппах пациентов в зависимости от рецидива болезни исходные уровни миРНК-34 и -1246 в сыворотке крови не различались. Однако через 6 месяцев после операции у пациентов с последующим развитием рецидива установлено повышение экспрессии миРНК-1246 и снижение содержания миРНК-34 в сыворотке крови по сравнению с больными с безрецидивным течением болезни (рис. 2). Разделительный уровень экспрессии молекул через 6 месяцев после операции для оценки риска развития рецидива по результатам ROC-анализа составил для миРНК-1246 - 1,84 ( $p=0,031$ ), а для миРНК-34 - 0,37 ( $p=0,018$ ).

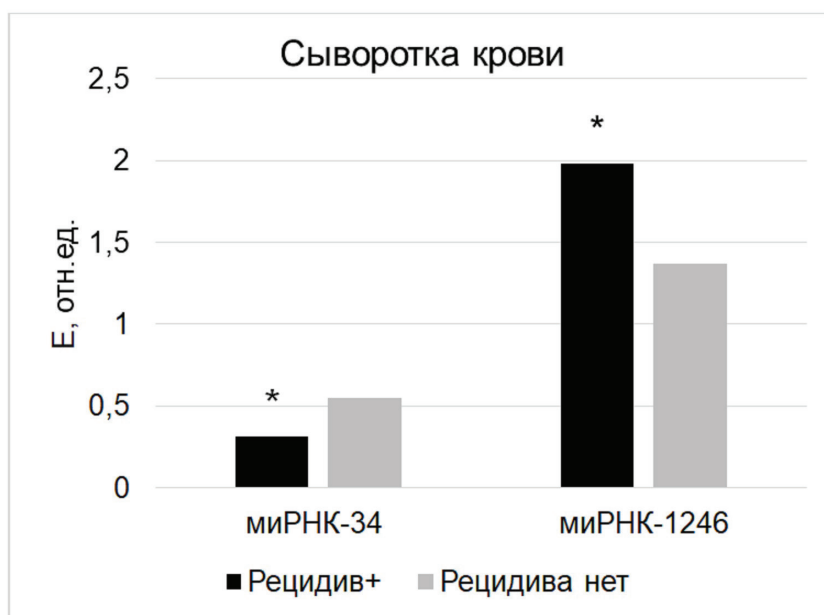


Рис. 2. Уровни экспрессии миРНК-34 и миРНК-1246 в сыворотке крови через 6 месяцев после операции у больных забрюшинными липосаркомками в зависимости от течения заболевания.

Далее с помощью регрессионного анализа Кокса была проведена оценка относительного риска развития рецидива забрюшинных липосарком для раз-

личных факторов риска, включая уровень экспрессии миРНК-34 и миРНК-1246 в крови через 6 месяцев после операции (табл. 2).



Таблица 2

Результаты однофакторного и многофакторного регрессионного анализа относительного риска развития рецидива в течение трех лет после операции у больных забрюшинными липосаркомами

Фактор	Относительный риск рецидива (ДИ, p)
Высокая градация злокачественности (high grade)	2,07 (1,17-3,66), p=0,013
Позитивный край хирургической резекции R1/2	3,12 (1,26-7,72), p=0,014
$E_{\text{миРНК-1246}} > 1,84$	1,62 (1,45-1,89), p=0,018
$E_{\text{миРНК-34}} < 0,37$	1,74 (1,53-1,99), p=0,014
Grade*R	3,79 (2,31-4,76), p=0,011
Grade*R* $E_{\text{миРНК-1246}}$	4,05 (3,25-5,73), p<0,001
Grade*R* $E_{\text{миРНК-34}}$	4,17 (3,04-5,82), p<0,001
Grade*R* $E_{\text{миРНК-1246}}$ * $E_{\text{миРНК-34}}$	4,78 (3,67-6,04), p<0,001

Примечание. Grade - степень злокачественности, R - радикальность операции, ЕмиРНК -экспрессия миРНК в сыворотке крови, ДИ - доверительный интервал.

Высокая градация степени злокачественности у больных забрюшинными липосаркомами сопровождалась повышением риска развития рецидива в ближайшие три года после операции в 2,07 ( $p=0,013$ ), а радикально выполненная операция с позитивным краем резекции после гистологического исследования (R1) либо по итогам макроскопического осмотра (R2) усиливала риск рецидива в 3,12 раз ( $p=0,014$ ). Превышение экспрессии миРНК-1246 в сыворотке крови через 6 месяцев после операции более 1,84 по отношению к референсной миРНК по итогам однофакторного регрессионного анализа сопровождалось усилением риска развития рецидива болезни в 1,62 раза, а снижение аналогичного показателя для миРНК-34 менее 0,37 - в 1,74 раза. Одновременное выявление нескольких предикторов приводило к повышению риска рецидива болезни и было максимальным при высокой степени злокачественности опухоли, нерадикальности операции, превышении экспрессии миРНК-1246 в сыворотке крови через 6 месяцев после операции более 1,84 по отношению к референсной миРНК и снижении экспрессии миРНК-34 ниже 0,37. Следовательно, оценка экспрессии циркулирующих некодирующих РНК у больных забрюшинными липосаркомами расширяет возможности прогноза послеоперационного течения болезни и дополнительно может быть использована при мониторинге состояния пациентов после операции.

**Заключение.** В настоящем исследовании идентифицированы специфические миРНК (миРНК-34, -619-5p, -1246, -4532), которые дифференцированно экспрессировались одновременно в сыворотке крови и опухолевой ткани у больных с забрюшинными липосаркомами. Для миРНК-34 и миРНК-1246 установлена статистически значимая связь между уровнями их содержания в ткани опухоли и сыворотки крови независимо от гистологического типа опухоли. миРНК-1246 показала самый высокий коэффициент корреляции.

Анализ экспрессии миРНК-34 и миРНК-1246 в сыворотке крови через 6 месяцев после операции повышал прогностическую информативность оценки риска развития рецидива заболевания у больных с забрюшинными липосаркомами наряду с учетом степени злокачественности опухоли, состояния края хирургической резекции. При превышении экспрессии миРНК-1246

в сыворотке крови через 6 месяцев после операции уровня 1,84 относительно референсной миРНК-103 риск развития рецидива забрюшинной липосаркомы возрастал в 1,62 раза ( $p=0,018$ ). При снижении экспрессии миРНК-34 в сыворотке крови через 6 месяцев после операции ниже 0,37 относительно референсной миРНК-103, риск развития рецидива забрюшинной липосаркомы возрастал в 1,74 раза ( $p=0,014$ ).

Идентифицированные циркулирующие миРНК-34 и миРНК-1246 представляют ценность в качестве биомаркеров при прогнозе течения забрюшинных липосарком.

#### ЛИТЕРАТУРА (П. П. 3 - 16 СМ. REFERENCES)

1. Волков А.Ю., Неред С.Н., Любченко Л.Н. Забрюшинные неорганные липосаркомы: современный взгляд на проблему. *Сибирский онкологический журнал*. 2019;18(5): 86–96.
2. Омельченко Д.В., Васин А.Б. Результаты хирургического лечения больных с диагнозом «неорганный злокачественный опухоль забрюшинного пространства». *Креативная хирургия и онкология*. 2023;13(1): 45-50.

#### REFERENCES

1. Volkov A.Yu., Nered S.N., Lyubchenko L.N. Retroperitoneal non-organ liposarcomas: the modern concept. *Sibirskiy onkologicheskij zhurnal*. 2019; 18(5): 86–96. DOI: 10.21294/1814-4861-2019-18-5-86-96. (in Russian)
2. Omel'chenko D.V., Vasin A.B. Patients with primary malignant retroperitoneal tumor: surgical outcomes. *Kreativnaya khirurgiya i onkologiya*. 2023; 13(1): 45-50. DOI: 10.24060/2076-3093-2023-13-1-45-50. (in Russian)
3. Gamboa A.C., Gronchi A., Cardona K. Soft-tissue sarcoma in adults: An update on the current state of histiotype-specific management in an era of personalized medicine. *CA Cancer J. Clin.* 2020; 70: 200–229. DOI: 10.3322/caac.21605.
4. Chellini L., Palombo R., Riccioni V., Paronetto M.P. Oncogenic Dysregulation of Circulating Noncoding RNAs: Novel Challenges and Opportunities in Sarcoma Diagnosis and Treatment. *Cancers*. 2022; 14(19): 4677. DOI: 10.3390/cancers14194677.
5. Teo A.Y.T., Lim V.Y., Yang V.S. MicroRNAs in the Pathogenesis, Prognostication and prediction of treatment resistance in soft tissue sarcomas. *Cancers*. 2023; 15: 3: 577. DOI: 10.3390/cancers15030577.
6. Tran C., Dinh P. Potential diagnostic value of serum microRNAs

- for 19 cancer types: a meta-analysis of bioinformatics data. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2024; 1–14. DOI: 10.1080/07391102.2024.2328744.
7. Vos M., Boeve W.C., van Ginhoven T.M., Sleijfer S., Verhoef C., Grünhagen D.J. Impact of primary tumor location on outcome of liposarcoma patients, a retrospective cohort study. *Eur. J. Surg. Oncol.* 2019 Dec; 45(12): 2437-42. DOI: 10.1016/j.ejso.2019.08.026.
  8. Kapodistrias N., Mavridis K., Batistatou A., Gogou P., Karavasilis V., Sainis I. et al. Assessing the clinical value of microRNAs in formalin-fixed paraffin-embedded liposarcoma tissues: Overexpressed miR-155 is an indicator of poor prognosis. *Oncotarget*. 2017 Jan 24; 8(4): 6896-6913. DOI: 10.18632/oncotarget.14320.
  9. Lee D.H., Amanat S., Goff C., Weiss L.M., Said J.W., Doan N.B. et al. Overexpression of miR-26a-2 in human liposarcoma is correlated with poor patient survival. *Oncogenesis*. 2013 May 20; 2(5): e47. DOI: 10.1038/oncsis.2013.10.
  10. Casadei L., Calore F., Creighton C.J., Guescini M., Batte K., Iwenofu O.H. et al. Exosome-Derived miR-25-3p and miR-92a-3p Stimulate Liposarcoma Progression. *Cancer Res*. 2017 Jul 15; 77(14): 3846-56. DOI: 10.1158/0008-5472.
  11. Asano N., Matsuzaki J., Ichikawa M., Kawauchi J., Takizawa S., Aoki Y. et al. A serum microRNA classifier for the diagnosis of sarcomas of various histological subtypes. *Nat. Commun.* 2019 Mar 21; 10(1): 1299. DOI: 10.1038/s41467-019-09143-8.
  12. Usuba W., Urabe F., Yamamoto Y., Matsuzaki J., Sasaki H., Ichikawa M. et al. Circulating miRNA panels for specific and early detection in bladder cancer. *Cancer Sci*. 2019 Jan; 110(1): 408-19. DOI: 10.1111/cas.13856.
  13. Yokoi A., Matsuzaki J., Yamamoto Y., Yoneoka Y., Takahashi K., Shimizu H. et al. Integrated extracellular microRNA profiling for ovarian cancer screening. *Nat. Commun.* 2018 Oct 17; 9(1): 4319. DOI: 10.1038/s41467-018-06434-4.
  14. Latham G.J. Normalization of microRNA quantitative RT-PCR data in reduced scale experimental designs. *Methods Mol. Biol.* 2010; 667: 19-31. DOI: 10.1007/978-1-60761-811-9\_2.
  15. Casadei L., de Faria F.C.C., Lopez-Aguir A., Pollock R.E., Grignol V. Targetable pathways in the treatment of retroperitoneal liposarcoma. *Cancers*. 2022; 14(6):1362. DOI: 10.3390/cancers14061362.
  16. Kohama I., Asano N., Matsuzaki J., Yamamoto Y., Yamamoto T., Takahashi R. et al. Comprehensive serum and tissue microRNA profiling in dedifferentiated liposarcoma. *Oncology Letters*. 2021; 22(2): 623. DOI: 10.3892/ol.2021.12884.

## ГЕМАТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Евлампиева Л.Г., Харац В.Е., Сергейчик О.И., Сталлингс А.Д., Горбатенко Е.А., Леонович С.В., Ярославская Е.И.

### ОЦЕНКА ВЗАИМОСВЯЗИ ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ С РЕЗУЛЬТАТАМИ СИПАП ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ КАРДИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

Тюменский кардиологический научный центр, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, 625026, Томск, Россия

**Актуальность.** Изучение взаимосвязей лабораторных показателей крови с результатами СИПАП терапии (от англ. Continuous Positive Airway Pressure – поддержание постоянного положительного давления в дыхательных путях) у пациентов кардиологического профиля с тяжелым течением синдрома обструктивного апноэ сна (СОАС), имеет важное клиническое и прогностическое значение. Поскольку клинически значимые формы СОАС у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями сопряжены со значительным риском кардиоваскулярных осложнений.

**Цель** – по данным проспективного наблюдения изучить взаимосвязи лабораторных показателей крови с результатами СИПАП терапии у пациентов кардиологического профиля с тяжелым течением СОАС.

**Материал и методы.** Из регистра пациентов кардиологического профиля с СОАС ( $n = 138$ ) в исследование включены 52 пациента с тяжелой степенью СОАС (82,7% мужчин,  $55,6 \pm 8,8$  года), обследованных в 2019 - 2022 годах. Артериальная гипертензия диагностирована у 96,1%, ишемическая болезнь сердца – у 42,3%, хроническая сердечная недостаточность – у 86,5%. Оценивались параметры клинические, инструментальные, общего и биохимического анализов крови до начала СИПАП терапии и через  $12,3 \pm 7,0$  месяцев после ее начала.

**Результаты.** Оказалось, что 8 человек адекватно использовали СИПАП терапию, (группа с СИПАП) и 44 пациента либо отказались от ее применения, либо использовали неадекватно (группа без СИПАП). При сравнении групп исходно не выявлено различий по возрасту, полу, индексу массы тела и клиническим характеристикам. Корреляционный анализ у пациентов с СИПАП выявил на 1-м визите прямую зависимость между уровнем лейкоцитов и суммарным временем сатурации ниже  $SpO_2$  85% ( $r=0,893$ ;  $p=0,007$ ), отрицательную связь между уровнем лейкоцитов и минимальным уровнем сатурации за период ночного сна ( $r= -0,778$ ;  $p=0,039$ ); на 2-м визите сохранялась прямая корреляционная взаимосвязь между уровнем лейкоцитов и суммарным временем сатурации ниже  $SpO_2$  85% ( $r=0,786$ ;  $p=0,021$ ).

**Заключение.** У пациентов кардиологического профиля с СИПАП терапией определена взаимосвязь повышенного уровня гипоксемии с большим количеством лейкоцитов, что указывает на риск развития системного воспаления в данной группе.

**Ключевые слова:** синдром обструктивного апноэ сна; сердечно-сосудистые заболевания; лабораторные показатели крови; СИПАП терапия

**Для цитирования:** Евлампиева Л.Г., Харац В.Е., Сергейчик О.И., Сталлингс А.Д., Горбатенко Е.А., Леонович С.В., Ярославская Е.И. Оценка взаимосвязи лабораторных показателей крови с результатами СИПАП терапии у пациентов кардиологического профиля. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (9): 445-455.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-9-445-455>

**Для корреспонденции:** Евлампиева Лариса Геннадьевна, канд. мед. наук, мл. науч. сотр. лаборатории инструментальной диагностики научного отдела инструментальных методов исследования; e-mail: [evlampieva.l.g@gmail.com](mailto:evlampieva.l.g@gmail.com)

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила	22.05.2024
Принята к печати	22.06.2024
Опубликовано	00.09.2024

*Evlampieva L.G., Kharats V.E., Sergeichik O.I., Stallings, A.D., Gorbatenko E.A., Leonovich S.V., Yaroslavskaia E.I.*

### ASSESSMENT OF THE RELATIONSHIP BETWEEN LABORATORY BLOOD PARAMETERS AND THE RESULTS OF CPAP THERAPY IN CARDIAC PATIENTS

Tyumen Cardiology Research Center, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, 625026, Tomsk, Russia

**Background.** The study of the relationship between laboratory blood parameters and the results of CPAP therapy (Continuous Positive Airway Pressure) in cardiac patients with severe obstructive sleep apnea syndrome (OSA) has important clinical and prognostic significance. Since clinically significant forms of OSA in patients with cardiovascular diseases are associated with a significant risk of cardiovascular complications.

**Objective.** Based on prospective observation data, to study the relationship between laboratory blood parameters and the results of CPAP therapy in cardiac patients with severe OSA.

**Material and methods.** From the register of cardiac patients with OSA ( $n = 138$ ), the study included 52 patients with severe OSA (82.7% men,  $55.6 \pm 8.8$  years), examined in 2019 - 2022. Arterial hypertension was diagnosed in 96.1%, coronary heart disease – in 42.3%, chronic heart failure – in 86.5%. The parameters of clinical, instrumental, general and biochemical blood tests were assessed before the start of CPAP therapy and  $12.3 \pm 7.0$  months after its start.

**Results.** It turned out that 8 people adequately used CPAP therapy (group with CPAP) and 44 patients either refused to use it or used it inadequately (group without CPAP). When comparing the groups at baseline, there were no differences in age, gender, body mass index and clinical characteristics. Correlation analysis in patients with CPAP revealed at the 1st visit a direct relationship between the level of leukocytes and the total time of saturation below SpO<sub>2</sub> 85% ( $r=0.893$ ;  $p=0.007$ ), a negative relationship between the level of leukocytes and the minimum level of saturation during the period of night sleep ( $r = -0.778$ ;  $p=0.039$ ); on the 2nd visit there was a direct correlation between the level of leukocytes and the total time of saturation below SpO<sub>2</sub> 85% ( $r=0.786$ ;  $p=0.021$ ).

**Conclusion.** In cardiac patients with CPAP therapy, a relationship between an increased level of hypoxemia and a higher number of leukocytes was determined, which indicates the risk of developing systemic inflammation in this group.

**Key words:** obstructive sleep apnea syndrome; cardiovascular diseases; blood laboratory parameters; CPAP therapy

**For citation:** Evlampieva L.G., Kharats V.E., Sergeichik O.I., Stallings, A.D., Gorbatenko E.A., Leonovich S.V., Yaroslavskaya E.I. Assessment of the relationship between laboratory blood parameters and the results of CPAP therapy in cardiac patients. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (9): 445-455 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-9-445-455>

**For correspondence:** Evlampieva Larisa Gennadievna, PhD, Junior Researcher at the Laboratory of Instrumental Diagnostics; e-mail: [evlampieva.l.g@gmail.com](mailto:evlampieva.l.g@gmail.com)

**Information about authors:**

Evlampieva L.G., <https://orcid.org/0000-0003-3554-0659>;  
Kharats V.E., <https://orcid.org/0000-0002-6297-7859>;  
Sergeichik O.I., <https://orcid.org/0000-0001-8979-0827>;  
Stallings, A.D., <https://orcid.org/0000-0003-0961-2348>;  
Gorbatenko E.A., <https://orcid.org/0000-0003-3675-1503>;  
Leonovich S.V., <https://orcid.org/0000-0002-8562-6955>;  
Yaroslavskaya E.I., <https://orcid.org/0000-0003-1436-8853>.

**Conflict of interests.** The authors declare the absence of conflict of interest.

**Acknowledgment.** The study had no sponsor support.

Received 22.05.2024

Accepted 22.06.2024

Published 00.09.2024

**Введение.** Синдром обструктивного апноэ сна (СОАС) – патологическое состояние с повторяющимися эпизодами полного или частичного коллапса верхних дыхательных путей во время сна, снижением сатурации, нарушением сна, наличием храпа и дневной сонливости [1].

Клинически СОАС представлен сложным симптомокомплексом, включающим целый ряд кардиологических, респираторных, неврологических, метаболических нарушений, а также когнитивно-поведенческих расстройств.

Встречаемость СОАС среди пациентов кардиологического профиля составляет 66% [2]. Установлено, что у пациентов СОАС частота риска тромбозов глубоких вен возрастает в 3,5 раза, тромбоэмболии легочной артерии в 3,97 раза [3], инфаркта миокарда и инсульта в 2-3 раза, а внезапной смерти во сне – в 5,3 раза [4].

Ключевые звенья патогенеза СОАС - циклические эпизоды гипоксии – реоксигенации, системное воспаление, окислительный стресс, симпатическая гиперактивность, эндотелиальная дисфункция определяют уровень отклонения гематологических показателей. Так, ассоциация между СОАС и сердечно-сосудистой патологией связана с активацией тромбоцитов и механизмом воспаления. Доказано, что многие лабораторные показатели крови коррелируют с тяжестью СОАС, в частности повышенное значение ширины распределения эритроцитов, гемоглобина, гематокрита, соотноше-

ние нейтрофилов к лимфоцитам можно использовать для оценки тяжести СОАС [5, 6]. Параметры тромбоцитов - средний объем тромбоцитов, ширина распределения тромбоцитов могут быть полезны в оценке риска сердечно-сосудистых осложнений и контроля эффективности лечения СОАС [7].

Приоритетным методом достижения полного контроля за клинически значимыми формами СОАС является СИПАП терапия (от англ. Continuous Positive Airway Pressure - поддержание постоянного положительного давления в дыхательных путях). Доказано, что СИПАП терапия умеренно снижает артериальное давление (АД) и положительно влияет на суточный профиль АД у лиц с артериальной гипертензией (АГ) [8], улучшает клиническое состояние пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) [9], устраняет брадиаритмии [10], улучшает эффективность лечения фибрилляции предсердий [11], повышает качество жизни у данной категории больных [12].

Учитывая высокий риск сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с клинически значимым СОАС, возникает необходимость в исследовании лабораторных показателей крови в качестве доступного инструмента в оценке тяжести СОАС.

**Цель исследования** - по данным проспективного наблюдения изучить взаимосвязи лабораторных показателей крови с результатами СИПАП терапии у пациентов кардиологического профиля с тяжелым те-

чением СОАС.

**Материал и методы.** Исследование выполнено с использованием данных «Регистра пациентов кардиологического профиля с синдромом обструктивного апноэ сна» (дата регистрации: 14.06.2022). Набор больных в регистр осуществлялся в период с мая 2019 по декабрь 2022 года. Исследование проспективное, наблюдательное, соответствует стандартам клинической практики (Good Clinical Practice) и положениям Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Протокол исследования одобрен Комитетом по биомедицинской этике Тюменского кардиологического научного центра – филиала ФБГНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (протокол № 141 от 15.10.2018). Перед включением в исследование все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании и использовании его результатов в научных целях.

Критерии невключения в регистр: отказ от участия в исследовании, СОАС без сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), возраст старше 75 лет, острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения, наличие транзиторной ишемической атаки за предшествующие 6 месяцев, хроническая обструк-

тивная болезнь легких, острые и хронические воспалительные заболевания в стадии обострения, клинически значимое нарушение функции почек и печени, гемодинамически значимые пороки сердца, фракция выброса левого желудочка < 50%, прием снотворных и психотропных лекарственных препаратов. Критерии включения: наличие ССЗ и тяжелой степени СОАС. Критерии исключения: отказ от участия в проспективном этапе исследования по разным причинам, невозможность пройти повторное обследование в назначенный срок.

Анализ нозологий осуществлялся по историям болезни пациентов и включал АГ, ХСН, ишемическую болезнь сердца, нарушения сердечного ритма и проводимости, нарушения функции щитовидной железы, нарушение гликемического профиля (нарушение теста толерантности к глюкозе, нарушение гликемии натощак), сахарный диабет 2-го типа, хроническую болезнь почек.

Из 138 пациентов регистра были отобраны 52 с тяжелой степенью СОАС (индекс апноэ/гипопноэ (ИАГ) >30 событий в час), преимущественно мужчины (82,7%), среднего возраста – 55,6±8,8 года. Клиническая характеристика включенных в исследование пациентов представлена в табл. 1.

Таблица 1

Клиническая характеристика общей группы пациентов с тяжелым СОАС (%)

Характеристика	Пациенты с тяжелым СОАС (n=52)	
АГ, n (%)		50 (96,1)
Степень артериальной гипертензии, n (%)	1	1 (2)
	2	15 (30)
	3	34 (68)
Риск артериальной гипертензии, n (%)	2	1 (2)
	3	15 (30)
	4	34 (68)
ИБС, n (%)		22 (42,3)
ФК стенокардии, n (%)	I	4 (22,2)
	II	13 (72,2)
	III	1 (5,6)
ИМ в анамнезе, n (%)		7 (13,4)
ХСН, n (%)		45 (86,5)
ХСН по NYHA, n (%)	I ФК	13 (28,8)
	II ФК	25 (55,6)
	III ФК	7 (15,6)
Нарушения сердечного ритма, n (%)		35 (67,3)
Нарушение функции щитовидной железы, n (%)		17 (32,7)
Гипотиреоз, n (%)		5 (29,4)
Гипертиреоз, n (%)		0 (0)
Эутиреоз, n (%)		16 (70,6)
Нарушения гликемического профиля, n (%)		26 (50)
Впервые выявленный сахарный диабет, n (%)		4 (15,4)
Сахарный диабет 2 типа, n (%)		14 (53,8)
Нарушение теста толерантности к глюкозе, n (%)		5 (19,2)
Нарушение гликемии натощак, n (%)		3 (11,6)
ХБП, n (%)		8 (15,3)

Примечание. АГ – артериальная гипертензия; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ФК – функциональный класс; ИМ – инфаркт миокарда; ХСН – хроническая сердечная недостаточность; NYHA – Нью-Йоркская ассоциация сердца; ХБП – хроническая болезнь почек.

Практически у всех пациентов исследования была зарегистрирована АГ (96,1%), причем у 68% пациентов АГ была 3-й степени с очень высоким сердечно-сосудистым риском. ХСН по классификации Нью-Йоркской ассоциации сердца (NYHA) зарегистрирована у большинства пациентов (86,5%).

Расчет индекса массы тела (ИМТ) осуществлялся по формуле Кетле: средний ИМТ пациентов соответствовал ожирению III степени. С целью верификации СОАС проводили скрининговую ночную пульсоксиметрию (НПО) прибором PulseOx 7500 (SPO Medical, Израиль), запрограммированную с помощью компьютерного обеспечения в программе «VITABASE». При индексе десатурации более 15 в час выполнялся кардиореспираторный мониторинг (КРМ) ночного сна. Для проведения КРМ использовали аппарат полифункционального холтер-монитор диагностической системы КТ-07-АД-3/12Р («Инкар», Россия) с оценкой ИАГ в ночной период сна с целью определения степени тяжести СОАС. Обструктивное апноэ сна легкой степени тяжести определяли при ИАГ 5,0–14 событий в час, средней степени – при ИАГ 15–30 событий в час, тяжелой – при ИАГ  $\geq 30$  событий в час и более [13].

Проводилось лабораторное исследование биообразца крови: оценивали параметры общего анализа крови импедансным методом с технологиями проточной цитометрии на аппарате 5Diff анализатор «Mindray BC 5800» (Китай); из биохимических параметров исследовали креатинин (мкмоль/л), печеночные ферменты (аспартатаминотрансфераза ед/л, аланинаминотрансфераза, ед/л), общий холестерин и другие показатели липидного профиля (холестерин липопротеидов высокой плотности, холестерин липопротеидов низкой плотности, холестерин липопротеидов очень низкой плотности и триглицериды) - ммоль/л, глюкозу натощак (ммоль/л), скорость клубочковой фильтрации MDRD (Modification of Diet in Renal Disease Study) (мл/мин), мочевины (ммоль/л), калий (ммоль/л), натрий (ммоль/л) – анализатор «Mindray BS-480» (Германия), реактивы фирмы Mindray; N – концевой промозговой натрийуретический пептид (NT-pro BNP) (пг/мл) определяли фотометром «Stat Fax – 4200» (США), реактивы Вектор Бест (Россия).

Всем пациентам в стационаре была выполнена пробная СИПАП терапия в автоматическом режиме. Подбор СИПАП терапии осуществлялся на аппаратах Somnolance E и Prisma 25 S Loewenstein Medical (Weinmann), Германия. Длительность пробной СИПАП терапии составила от 2-3 дней. Эффективность терапии оценивали при достижении остаточного ИАГ  $< 5$  эпизодов в час, либо при уменьшении количества эпизодов апноэ на  $\geq 50\%$  от исходного значения.

Из 52 пациентов 8 (15,4%) использовали СИПАП терапию согласно рекомендациям (более 4-х часов за ночь в течение 5 дней в неделю – не менее 70% ночей) [14], период лечения составил  $12,3 \pm 7,0$  месяцев. Сравнивали параметры клинического, лабораторного и инструментального обследования пациентов, находившихся на СИПАП терапии (группа с СИПАП,  $n=8$ ) с параметрами сопоставимых по полу и возрасту пациентов, имевших показания для проведения СИПАП-терапии, но не получавших её (группа без СИПАП,  $n=44$ ), также оценивали внутригрупповую динамику исследу-

емых параметров. Средний интервал между точками обследования (визит 1 и 2) составил  $13,0 [11,0; 20,5]$  месяцев.

Группы без СИПАП и с СИПАП на обоих визитах статистически значимо не различались: по ИМТ (на 1-м визите  $40,6 \pm 7,3$  против  $40,7 \pm 5,7$ ,  $p=0,526$ ; на 2-м визите  $40,7 \pm 8,3$  против  $40,6 \pm 5,8$ ,  $p=0,510$ ), частоте АГ (на 1-м и 2-м визитах соответственно 95,5% против 100%,  $p=0,539$ ), ишемической болезни сердца (на 1-м визите 40,9% против 50%,  $p=0,632$ ; на 2-м визите 52,3% против 50,0%,  $p=0,906$ ), ХСН (на 1-м визите 100% против 100%,  $p=0,301$ ; на 2-м визите 100% против 100%,  $p=0,373$ ), нарушению сердечного ритма (на 1-м визите 65,9% против 75,0%,  $p=1,000$ ; на 2-м визите 72,7% против 75,0%;  $p=1,000$ ), нарушению гликемического профиля (на 1-м визите 52,2% против 37,5%,  $p=0,564$ ; на 2-м визите 54,6% против 37,5%,  $p=0,646$ ), нарушению функции щитовидной железы (на 1-м визите 31,8% против 37,5%,  $p=0,937$ ; на 2-м визите 34,1% против 50,0%,  $p=0,119$ ).

Проводимая терапия ССЗ была сопоставимой в обеих группах. Исключение составили 2 класса препаратов - бета-блокаторы и блокаторы ангиотензиновых рецепторов (БРА): в группе с СИПАП на 1-м визите применение этих двух групп препаратов было более частым (100% против 59,1%,  $p=0,039$  – бета-блокаторы и БРА - 87,5% против 47,7%,  $p=0,056$ ), на 2-м визите прием БРА оказался наиболее значимо частым (100% против 56,8%,  $p=0,021$ ).

**Статистический анализ.** Статистическая обработка проводилась с использованием программ SPSS 21 и Statistica 12.0. Распределение количественных данных проверяли критерием Колмогорова-Смирнова, и в зависимости от распределения данные представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение ( $M \pm SD$ ) или медиана ( $Me$ ) и интерквартильный размах [ $Q1; Q3$ ]. Сравнение показателей проводили, в зависимости от распределения данных, критерием Стьюдента для независимых выборок и зависимых выборок или критерием Манн-Уитни и критерием Вилкоксона. Для сравнения качественных переменных использовали критерий хи-квадрат или точный критерий Фишера и критерий Мак Немара. Использовались методы корреляционного анализа Спирмена и Пирсона в зависимости от типа распределения данных. Результаты оценивались как статистически значимые при уровне  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Анализ лабораторных параметров крови в исследуемых группах пациентов представлен в табл. 2.

Анализ данных табл. 2 показал, что за время наблюдения в группе без СИПАП ряд эритроцитарных параметров: уровень гемоглобина, средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах значимо выросли, а уровень гематокрита, средний объем эритроцита и стандартное отклонение ширины распределения эритроцитов значимо снизились. В группе с СИПАП в динамике отмечали значимое снижение уровня среднего объема эритроцита, тенденцию к снижению уровня стандартного отклонения ширины распределения эритроцитов и значимое повышение уровня средней концентрации гемоглобина в эритроцитах. Показатель среднего содержания гемоглобина в эритроците исходно между группами не различался, но на 2-м визите отмечалась

тенденция к меньшему его значению в группе с СиПАП. Важно отметить, что в группе с СиПАП средний уровень эритроцитов не достиг статистически значимых различий тем не менее на 1-м визите был выше нормы, а на 2-м визите соответствовал референсным значениям, что, вероятно, обусловлено положительным влиянием СиПАП терапии. В исследовании А. Feliciano и соавт. [15] показали, что уровень эритроцитов можно использовать в качестве маркера ответа на

СиПАП терапию. Повышение уровня показателей эритроцитарного ряда в обеих группах является компенсаторным ответом на эпизоды выраженной десатурации при циклически повторяющихся остановках дыхания во сне [16]. В ряде исследований продемонстрирована значимая корреляция между уровнем стандартного отклонения ширины распределения эритроцитов, степенью тяжести СОАС, ИАГ и десатурацией во время сна [17], что соответствует нашим результатам.

Таблица 2

Сравнительная характеристика и динамика лабораторных параметров крови пациентов кардиологического профиля с тяжелым течением СОАС в зависимости от наличия СиПАП-терапии

Параметры/единицы измерения/референсные значения		Без СиПАП (n=44)	С СиПАП (n=8)	p*
Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л (норма: муж. – 4,0-5,2, жен. – 3,9-4,7)	Визит 1	5,2±0,6	5,3±0,5	0,548
	Визит 2	5,2±0,5	5,2±0,7	0,870
	p	0,686	0,539	
Гемоглобин, г/л (норма: муж. – 130-166, жен. – 117-140)	Визит 1	146,9±13,6	146,0±11,6	0,908
	Визит 2	150,0±13,4	141,8±16,5	0,131
	p	<b>0,039</b>	0,411	
Гематокрит, % (норма: муж. - 39-49, жен. – 35-43)	Визит 1	46,9±4,6	47,2±4,2	0,822
	Визит 2	44,9±3,6	43,6±6,3	0,430
	p	<b>0,002</b>	0,103	
Средний объем эритроцита, фл (норма: 80-95)	Визит 1	91,1±5,3	90,1±7,9	0,570
	Визит 2	86,9±4,1	84,9±6,1	0,197
	p	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,029</b>	
Стандартное отклонение ширины распределения эритроцитов, фл (норма: 35-56)	Визит 1	49,2±5,0	49,3±6,6	0,989
	Визит 2	44,4±5,6	46,1±5,4	0,812
	p	<b>&lt;0,001</b>	0,093	
Коэффициент вариации ширины распределения эритроцитов, % (норма: 11,5-14,5)	Визит 1	13,1 [12,5; 13,8]	13,7 [12,9; 13,9]	0,373
	Визит 2	12,8 [12,3; 13,6]	13,5 [12,3; 14,7]	0,347
	p	0,168	0,790	
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг (норма: 27-31)	Визит 1	28,6±2,0	28,0±1,9	0,294
	Визит 2	29,1±2,0	27,9±2,8	0,071
	p	0,151	0,862	
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/дл (норма: 31-37)	Визит 1	31,5±1,6	31,0±1,8	0,715
	Визит 2	33,4±1,5	32,9±2,2	0,371
	p	<b>&lt;0,001</b>	0,027	
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л (норма: 4,0-8,8)	Визит 1	6,8±1,5	6,9±1,5	0,822
	Визит 2	6,7±1,6	6,1±1,3	0,254
	p	0,615	0,071	
Нейтрофилы, 10 <sup>9</sup> /л (норма: 1,8-7,7)	Визит 1	3,8±1,2	3,9±0,9	0,833
	Визит 2	3,8±1,2	3,4±1,1	0,382
	p	0,703	0,120	
Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л (норма: 1,4-8)	Визит 1	2,2 ±0,8	2,2±0,5	0,956
	Визит 2	2,1±0,6	2,0±0,4	0,244
	p	0,980	0,175	
СОЭ мм/ч (норма: 0-15)	Визит 1	10,0 [5,0; 14,0]	7,5 [14,0; 18,8]	0,591
	Визит 2	13,0 [8,5; 20,0]	22,0 [15,8; 23,8]	<b>0,041</b>
	p	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,018</b>	
Тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л (норма: 150-400)	Визит 1	208,5 [187,5; 264,3]	257,0 [206,0; 265,0]	0,280
	Визит 2	213,5 [167,3; 240,3]	212,0 [194,0; 251,0]	0,880
	p	<b>0,027</b>	<b>0,034</b>	
Тромбокрит, % (норма: 0,15-0,4)	Визит 1	0,20±0,06	0,19±0,04	0,464
	Визит 2	0,18±0,04	0,18±0,05	0,707
	p	0,275	<b>0,042</b>	
Относительная ширина распределения тромбоцитов, % (норма: 10-20)	Визит 1	15,8±0,4	15,7±0,2	0,365
	Визит 2	15,6±1,4	15,6±0,3	0,473
	p	0,924	0,578	

Параметры/единицы измерения/референсные значения	Без СиПАП (n=44)	С СиПАП (n=8)	p*	
Средний объем тромбоцитов, фл (норма: 3,6-9,4)	Визит 1	8,4±0,8	8,2±0,7	0,539
	Визит 2	8,6±1,1	8,2±0,8	0,605
	<i>p</i>	0,066	0,772	
Мочевина, ммоль/л (норма: 2,8-7,2)	Визит 1	5,9±1,4	6,0±1,4	0,887
	Визит 2	6,1±1,5	5,5±0,7	0,779
	<i>p</i>	0,572	0,715	
Креатинин, мкмоль/л (норма: муж. – 70-115, жен. – 44-80)	Визит 1	85,0 [75,7;93,8]	83,0 [71,0; 114,9]	0,939
	Визит 2	82,5 [75,5; 91,5]	82,5 [72,7; 86,1]	0,587
	<i>p</i>	0,291	0,866	
АсАТ, ед/л (норма: муж. J)	Визит 1	23,7 [18,7; 27,9]	19,5 [15,9; 34,8]	0,780
	визит 2	21,6 [18,7; 28,5]	25,4 [21,3; 28,6]	0,432
	<i>p</i>	0,544	0,848	
АлАТ, ед/л (норма: муж. J)	Визит 1	28,8 [21,4; 40,9]	29,5 [13,4; 63,8]	0,742
	Визит 2	26,3 [21,6; 35,8]	35,1 [23,2; 46,6]	0,417
	<i>p</i>	0,151	0,719	
Натрий, ммоль/л (норма: 135-155)	Визит 1	142,2±2,7	144,1±4,1	0,345
	Визит 2	144,8±3,3	141,7±2,5	0,065
	<i>p</i>	<b>0,004</b>	0,231	
Калий, ммоль/л (норма: 3,6-5,5)	Визит 1	4,4±0,4	4,6±0,5	0,248
	Визит 2	4,4±0,3	4,7±0,5	0,207
	<i>p</i>	0,540	0,821	
Общий холестерин, ммоль/л (норма: 0-4,5)	Визит 1	4,8±1,4	4,9±1,7	0,924
	Визит 2	4,7±1,1	4,3±1,4	0,331
	<i>p</i>	0,306	0,175	
ХСЛПВП, ммоль/л (норма: муж. ≥1,0, жен. i)	Визит 1	1,1±0,2	1,3±0,6	0,960
	Визит 2	1,1±0,3	1,4±0,4	0,073
	<i>p</i>	0,706	0,446	
ХСЛПНП, ммоль/л (норма: 0-2,5)	Визит 1	3,0±1,1	2,9±1,2	0,825
	Визит 2	2,8±0,7	2,5±1,0	0,330
	<i>p</i>	0,123	0,261	
ХСОНП, ммоль/л (норма: 0,25-0,65)	Визит 1	0,9±0,6	0,8±0,6	0,454
	Визит 2	0,9±0,6	0,6±0,2	0,106
	<i>p</i>	0,368	0,238	
Триглицериды, ммоль/л (норма: 0-1,7)	Визит 1	1,9±1,2	1,8±1,2	0,447
	Визит 2	2,1±1,3	1,3±0,5	0,091
	<i>p</i>	0,288	0,237	
Глюкоза натощак, ммоль/л (норма: 3,3-6,1)	Визит 1	7,0±2,3	6,7±2,6	0,978
	Визит 2	6,4±1,9	6,9±2,7	0,646
	<i>p</i>	0,177	0,789	
NT-pro BNP, пг/мл (норма: до 75 лет <125, старше 75 лет <400)	Визит 1	124,2 [57,4; 238,5]	156,0 [105,3; 462,7]	0,273
	Визит 2	101,6 [45,9; 300,2]	159,3 [83,4; 427,8]	0,273
	<i>p</i>	0,617	0,249	
СКФ, мл/мин (норма: >60)	Визит 1	80,9 [74,1; 96,6]	86,3 [60,6; 89,4]	0,864
	Визит 2	86,1 [71,2; 97,6]	92,6 [85,5; 102,0]	0,576
	<i>p</i>	0,898	0,380	

Примечание. Здесь и в табл. 3, 4: данные представлены в виде Me [Q1; Q3], M±SD, n (%) – число пациентов; *p* – различия между параметрами в одной и той же группе в динамике; *p*\* – различия между группами. СОЭ – скорость оседания эритроцитов; АсАТ – аспаратаминотрансфераза; АлАТ – аланинаминотрансфераза; ХСЛПВП – холестерин липопротеиды высокой плотности; ХСЛПНП – холестерин липопротеиды низкой плотности; ХСЛПОНП – холестерин липопротеиды очень низкой плотности; СКФ – скорость клубочковой фильтрации; NT-pro BNP (Brain Natriuretic Peptide) – N-концевой пропептид натрийуретического пептида В-типа. Жирным шрифтом выделена значимая достоверность различий показателей в группах и между группами.

В группе пациентов с СиПАП на 2-м визите выявлена тенденция к снижению уровня лейкоцитов, что является закономерным, так как СиПАП терапия снижает уровень медиаторов воспаления у пациентов с СОАС на фоне персистирующего вялотекущего воспалительного процесса [18]. По данным метаанализа 17 исследований (4518 случаев) выявлена связь между СОАС и

гематологическими показателями, в частности и с повышенным уровнем лейкоцитов [19], что соответствует полученным нами результатам. В отношении скорости оседания эритроцитов в группе без СиПАП на 2-м визите средние показатели значимо выросли при этом оставались на уровне референсных значений. В группе с СиПАП в динамике средние значения скорости



оседания эритроцитов оказались выше нормативных параметров и достигли значимых различий как внутри группы, так и между группами пациентов, что ассоциировано с тяжестью СОАС и гипоксией во сне.

Выявлено статистически значимое повышение уровня тромбоцитов и тенденция к повышению среднего объема тромбоцитов в группе без СИПАП. Напротив, в группе СИПАП отмечено значимое снижение уровня тромбоцитов и тромбокрита. В настоящее время доказано, что тромбоциты при СОАС под воздействием перемежающейся гипоксии подвергаются повышенной агрегации и активации [20]. По данным Т. Ога и соавт. [21] активация тромбоцитов коррелировала с тяжестью десатурации. Установлено, что у здоровых людей в период ночного сна отмечается самая низкая активность тромбоцитов, а у пациентов с СОАС наблюдается прямо противоположная реакция [22]. Данное наблюдение является важным, поскольку пик сердечной смерти у пациентов с СОАС приходится на ранние утренние часы. Эффективная СИПАП терапия положительно влияет на уровень тромбоцитов, что может способствовать снижению тромботических рисков, ассоциированных с СОАС [23].

Обращает внимание, что в группе без СИПАП уровень натрия за время наблюдения значимо вырос и на 2-м визите показал тенденцию к большим значениям, чем в группе с СИПАП. Как известно, натрий является провоспалительным агентом и напрямую влияет на процессы поляризации, активации и дифференцировки Т-лимфоцитов [24], а значит может принимать опосредованное участие в поддержании хронического системного воспаления на фоне гипоксемии у пациентов с СОАС.

Средние значения уровня триглицеридов исходно в обеих группах были выше нормы, однако в динамике в группе с СИПАП он снизился до референсных значений, а в группе без СИПАП повысился. И хотя динамика по этому показателю внутри групп не показала статистической значимости, на 2-м визите появилась тенденция к более низкому уровню триглицеридов в группе пациентов с СИПАП. Доказано, что у больных с метаболическим синдромом СОАС ассоциирован с повышенным уровнем триглицеридов, а также атеросклерозом [25]. Наши результаты коррелируют с результатами метаанализа рандомизированных контролируемых исследований, продемонстрировавших значительное снижение уровня триглицеридов после 4 недель – 12 месяцев эффективной СИПАП терапии [26]. Закономерным выглядит и появление тенденции к более высокому уровню холестерина липопротеинов высокой плотности в группе с СИПАП. Следует отметить, что статистически значимых различий по уровню NT-pro BNP между группами и динамики внутри групп на обоих визитах не выявлено. Однако, средние значения уровня NT-pro BNP у пациентов с СИПАП превышали референсные значения (для возраста не старше 75 лет – критерий включения в исследование) на 1-м и 2-м визитах, что подтверждает тяжесть СОАС, косвенно может указывать на недостаточную эффективность СИПАП терапии и необходимость ее коррекции. Высокие значения NT-pro BNP у пациентов с СОАС связывают с циклически повторяющимися эпизодами гипоксии, изменениями АД, приводящими к повреждению

и растяжению желудочков миокарда [27]. Ранее проведенные исследования показали положительную связь между степенью тяжести СОАС и уровнем NT-pro BNP [28], а СИПАП терапия снижала уровень данного биомаркера [29].

Анализ респираторных данных представлен показателями НПО (табл. 3) и КРМ (табл. 4).

По результатам анализа НПО на 2-м визите появилась тенденция к различию между группами по показателю индекса десатурации – он стал ниже у пациентов с СИПАП, что обусловлено положительным влиянием СИПАП терапии. В группе пациентов без СИПАП в динамике появилась тенденция к увеличению минимальной сатурации – насыщение кислородом гемоглобина артериальной крови (SpO<sub>2</sub>) во сне. У пациентов с СИПАП на обоих визитах уровень средней сатурации за период ночного сна был выше 90%, тогда как у пациентов без СИПАП – ниже уровня 90%, что соответствует клинически значимой гипоксемии. В группе пациентов с СИПАП на 2-м визите в ночной период прослеживалась тенденция к урежению минимальной частоты пульса. Показатель общего количества эпизодов десатурации между группами не достиг значимых различий на обоих визитах, однако исходно в группе с СИПАП был выше и в динамике оказался ниже значений группы без СИПАП.

Со стороны показателей КРМ у пациентов без СИПАП на 2-м визите отмечено в динамике снижение следующих показателей: количества эпизодов гипопноэ за время мониторинга, ИАГ, количества эпизодов апноэ/гипопноэ, сопровождающихся храпом, числа апноэ центрального характера, а также выявлена тенденция к снижению количества эпизодов апноэ за время мониторинга. В этой группе обнаружено значимое увеличение числа апноэ обструктивного характера. У пациентов с СИПАП отмечена тенденция к увеличению количества эпизодов гипопноэ за время мониторинга. На 2-м визите появились тенденции к большему в группе с СИПАП количеству эпизодов апноэ за время мониторинга и эпизодов апноэ/гипопноэ, сопровождающихся храпом. Значимо больше в этой группе стало количество эпизодов апноэ/гипопноэ, сопровождающихся десатурацией, а также выше стало соотношение количества эпизодов апноэ/гипопноэ, сопровождающихся десатурацией, к общему количеству эпизодов апноэ/гипопноэ. За время наблюдения максимальная сатурация за период ночного сна значимо снизилась в группе без СИПАП, а минимальная – значимо выросла в обеих группах. На обоих визитах отмечалась тенденция к более высокому индексу десатурации в группе с СИПАП, но средние его значения в обеих группах на обоих визитах соответствовали тяжелому течению СОАС. На 2-м визите появилась тенденция к более высокому показателю общей длительности эпизодов десатурации в группе пациентов с СИПАП. Исходно в группе пациентов с СИПАП суммарное время сатурации ниже SpO<sub>2</sub> 80%, было более чем в 4 раза выше в отличие от группы без СИПАП. На 2-м визите суммарное время сатурации ниже SpO<sub>2</sub> 80% уменьшилось более чем в 8 раз и стало сопоставимо с полученным в группе без СИПАП. В обеих группах на 2-м визите зафиксирована тенденция к снижению суммарного времени сатурации ниже SpO<sub>2</sub> 85%.

Сравнительная характеристика и динамика параметров ночной компьютерной пульсоксиметрии пациентов кардиологического профиля с тяжелым течением СОАС в зависимости от наличия СИПАП-терапии

Параметры		Без СИПАП (n=44)	С СИПАП (n=8)	p*	
Общее время записи, мин	Визит 1	428,0 [333,3; 536,0]	490,5 [335,3; 567,3]	0,599	
	Визит 2	420,0 [330,5; 512,5]	411,0 [361,5; 508,3]	0,929	
	p	0,961	0,779		
Сатурация SpO <sub>2</sub> , %	Максимальная	Визит 1	98,8±0,4	99,0±0,0	0,141
		Визит 2	98,7±0,9	98,9±0,4	0,777
	p	0,967	0,317		
	Средняя	Визит 1	89,4±4,6	91,4±2,8	0,361
		Визит 2	89,8±6,0	93,1±3,0	0,171
	p	0,253	0,161		
	Минимальная	Визит 1	65,3±10,7	68,6±11,2	0,446
Визит 2		69,0±11,2	74,5±9,2	0,223	
p	0,072	0,351			
Частота пульса, ударов в минуту	Максимальная	Визит 1	100,1±19,2	110,8±23,8	0,150
		Визит 2	100,2±22,1	99,4±10,8	0,621
	p	0,775	0,123		
	Средняя	Визит 1	65,6±10,6	64,8±13,2	1,000
		Визит 2	63,2±9,1	65,7±11,2	0,621
	p	0,177	0,866		
	Минимальная	Визит 1	42,5±7,9	42,0±5,9	0,901
Визит 2		40,8±8,9	38,5±6,7	0,585	
p	0,255	0,051			
Общее количество эпизодов десатурации, n	Визит 1	218,5 [130,0; 356,5]	254,5 [69,0; 310,3]	0,678	
	Визит 2	212,0 [129,3; 336,3]	156,0 [96,3; 231,5]	0,287	
	p	0,405	0,327		
Индекс десатурации, событий в час	Визит 1	42,4 [22,0; 54,6]	37,0 [29,1; 41,4]	0,268	
	Визит 2	37,2 [24,5; 47,2]	25,6 [13,7; 34,1]	0,080	
	p	0,136	0,123		
Исходная сатурация SpO <sub>2</sub> , %	Визит 1	92,2±4,1	94,3±2,3	0,203	
	Визит 2	93,0±3,9	94,5±2,4	0,432	
	p	0,262	0,889		
Общая продолжительность эпизодов снижения сатурации SpO <sub>2</sub> <89%, минут	Визит 1	97,0 [32,3; 209,3]	44,0 [34,8; 183,3]	0,354	
	Визит 2	89,0 [38,0; 191,5]	81,0 [32,3; 166,0]	0,722	
	p	0,882	0,499		
Максимальный постоянный период снижения сатурации SpO <sub>2</sub> <89%, минут	Визит 1	14,5 [5,5; 37,3]	7,0 [2,2; 15,7]	0,174	
	Визит 2	14,3 [5,8; 26,8]	9,6 [2,1; 24,2]	0,522	
	p	0,902	0,208		

Примечание. Здесь и табл. 4: SpO<sub>2</sub> – насыщение кислородом гемоглобина артериальной крови; p – различия между параметрами в одной и той же группе в динамике; p\* - различия между группами.

В соответствии с полученными нами результатами у пациентов с СИПАП по результатам КРМ исходно респираторные показатели, такие как индекс десатурации, средняя десатурация, суммарное время сатурации ниже SpO<sub>2</sub> 80% были хуже в сравнении с пациентами без СИПАП, что говорит о более тяжелом течении СОАС в группе с СИПАП на 1-м визите. По нашим данным, параметры десатурации (индекс десатурации, общая длительность эпизодов десатурации) и суммарное время сатурации ниже SpO<sub>2</sub> 80% являются более чувствительными для динамической оценки эффективности СИПАП терапии. На фоне высокой приверженности (100%) и низкой удовлетворенности (25,0%) пациентов к СИПАП терапии - показатели НПО и КРМ на 2-м визите оставались в пределах высоких значений, что свидетельствует о недостаточной эффективности

СИПАП терапии требующей как ее коррекции, так и более сложного режима терапии – БиПАП (от англ. Bi-level Positive Airway Pressure).

Обобщая результаты лабораторных параметров следует отметить, что влияние СИПАП терапии проявилось в повышении уровня холестерина липопротеинов высокой плотности, снижении уровней триглицеридов, натрия, лейкоцитов, среднего объема эритроцита, стандартного отклонения ширины распределения эритроцитов, среднего объемного содержания гемоглобина в эритроците, тромбоцитов и тромбокрит. Отсутствие положительной динамики после СИПАП терапии по остальным лабораторным параметрам объясняется тяжелым течением СОАС и низкой приемлемостью (удовлетворенностью) к лечению.

Взаимосвязь гематологических параметров с по-

Таблица 4

Сравнительная характеристика и динамика параметров кардиореспираторного мониторинрования пациентов кардиологического профиля с тяжелым течением СОАС в зависимости от наличия СИПАП-терапии

Параметры		Без СИПАП (n=44)	С СИПАП (n=8)	p*	
Общее время сна, мин	Визит 1	376,0 [316,3; 412,0]	369,5 [294,3; 387,0]	0,790	
	Визит 2	366,5 [288,8; 426,0]	420,0 [318,5; 446,5]	0,368	
	p	0,966	0,484		
Количество эпизодов апноэ за время мониторинрования, n	Визит 1	256,0 [179,3; 352,0]	317,0 [203,8; 417,8]	0,462	
	Визит 2	218,5 [161,8; 290,5]	390,0 [222,0; 515,8]	0,051	
	p	0,066	0,484		
Количество эпизодов гипопноэ за время мониторинрования, n	Визит 1	10,5 [3,0; 28,8]	7,0 [1,3; 10,5]	0,204	
	Визит 2	5,0 [1,0; 13,8]	22,0 [1,5; 36,5]	0,212	
	p	<b>0,024</b>	0,068		
Индекс апноэ/гипопноэ (ИАГ), событий в час	Визит 1	49,5 [38,0; 61,0]	51,5 [37,5; 71,0]	0,603	
	Визит 2	43,0 [29,0; 61,8]	57,5 [51,3; 71,5]	0,131	
	p	<b>0,028</b>	0,398		
Число апноэ обструктивного характера, %	Визит 1	73,0 [49,0; 86,0]	59,0 [54,0; 80,8]	0,746	
	Визит 2	86,0 [64,0; 96,0]	79,0 [67,3; 92,3]	0,501	
	p	<b>0,007</b>	0,352		
Число апноэ центрального характера, %	Визит 1	19,0 [9,0; 41,0]	27,0 [18,8; 45,5]	0,351	
	Визит 2	11,0 [2,0; 26,0]	21,0 [7,8; 32,8]	0,195	
	p	<b>0,007</b>	0,398		
Количество эпизодов апноэ/гипопноэ, сопровождающихся храпом, n	Визит 1	193,0 [134,0; 261,0]	195,0 [126,3; 287,0]	0,948	
	Визит 2	182,0 [95,0; 210,0]	245,0 [147,0; 413,8]	0,057	
	p	<b>0,033</b>	0,128		
Количество эпизодов апноэ/гипопноэ, сопровождающихся храпом, от общего количества эпизодов апноэ, %	Визит 1	72,0 [57,0; 83,0]	65,0 [57,8; 71,8]	0,311	
	Визит 2	73,0 [59,0; 79,0]	69,0 [42,5; 91,8]	0,800	
	p	0,659	0,612		
Количество эпизодов апноэ/гипопноэ, сопровождающихся десатурацией, n	Визит 1	206,0 [127,0; 301,0]	260,5 [171,3; 397,3]	0,422	
	Визит 2	202,0 [117,0; 274,0]	387,0 [228,5; 500,8]	<b>0,015</b>	
	p	0,246	0,123		
Количество эпизодов апноэ/гипопноэ, сопровождающихся десатурацией, от общего количества эпизодов апноэ/гипопноэ, %	Визит 1	88,0 [55,0; 93,0]	93,0 [82,5; 95,0]	0,259	
	Визит 2	84,0 [75,0; 94,0]	95,0 [90,3; 97,8]	<b>0,026</b>	
	p	0,260	0,553		
Уровень SpO <sub>2</sub> за период сна, %	максимальный	Визит 1	92,8±3,8	90,7±5,3	0,344
		Визит 2	90,1±4,4	88,9±4,4	0,378
		p	<b>0,001</b>	0,441	
	минимальный	Визит 1	65,8±9,9	60,6±11,5	0,126
		Визит 2	67,9±9,6	68,3±10,4	0,736
p	<b>0,016</b>	<b>0,012</b>			
Средняя десатурация, %	Визит 1	7,7 [5,2; 8,9]	14,2 [7,5; 21,1]	0,088	
	Визит 2	8,2 [6,2; 10,1]	11,2 [7,6; 18,7]	0,223	
	p	0,670	0,144		
Индекс десатурации, событий в час	Визит 1	47,0 [30,8; 62,3]	59,0 [53,8; 70,3]	0,076	
	Визит 2	48,0 [36,8; 62,8]	58,0 [58,0; 70,5]	0,097	
	p	0,776	1,000		
Максимальная длительность эпизода (10 секунд и более) десатурации, секунд	Визит 1	179,0 [129,8; 482,3]	171,0 [126,0; 302,0]	0,643	
	Визит 2	180,0 [139,8; 550,5]	177,0 [96,8; 197,3]	0,560	
	p	0,618	0,575		
Общая длительность эпизодов десатурации, мин	Визит 1	159,0 [96,8; 269,5]	230,5 [143,8; 267,5]	0,315	
	Визит 2	159,5 [103,0; 206,8]	225,5 [183,0; 323,5]	0,062	
	p	0,180	0,575		
Непрерывный максимальный эпизод (10 секунд и более) снижения сатурации SpO <sub>2</sub> <89%, секунд	Визит 1	166,0 [83,0; 503,5]	144,0 [72,8; 292,8]	0,551	
	Визит 2	147,0 [69,0; 615,0]	103,5 [52,8; 165,0]	0,290	
	p	0,595	0,161		
Общая длительность эпизодов снижения сатурации SpO <sub>2</sub> <89%, мин	Визит 1	98,0 [54,0; 190,0]	140,5 [43,08; 217,3]	0,551	
	Визит 2	98,0 [52,0; 167,5]	132,0 [77,8; 270,8]	0,195	
	p	0,586	1,000		

Суммарное время, при котором сатурация SpO <sub>2</sub> <90%, мин	Визит 1	140,0 [65,0; 225,3]	218,0 [101,8; 245,5]	0,233
	Визит 2	129,0 [79,0; 214,5]	185,0 [106,5; 288,5]	0,300
	<i>p</i>	0,574	0,735	
Суммарное время, при котором сатурация SpO <sub>2</sub> <85%, мин	Визит 1	44,0 [16,0; 81,0]	105,0 [44,8; 207,3]	0,105
	Визит 2	27,0 [15,0; 114,0]	45,0 [26,5; 185,8]	0,199
	<i>p</i>	0,091	0,058	
Суммарное время, при котором сатурация SpO <sub>2</sub> <80%, мин	Визит 1	17,0 [5,0; 35,0]	69,0 [20,0; 169,0]	<b>0,031</b>
	Визит 2	11,0 [4,0; 50,0]	8,0 [5,0; 133,0]	0,344
	<i>p</i>	0,155	<b>0,018</b>	

Примечание. *p* – различия между параметрами в одной и той же группе в динамике; *p*\* - различия между группами. Жирным шрифтом выделена значимая достоверность различий показателей в группах и между группами.

казателями КРМ ночного сна в группе с СИПАП представлена результатами корреляционного анализа. На 1-м визите обнаружена прямая зависимость между уровнем лейкоцитов и суммарным временем сатурации ниже SpO<sub>2</sub> 85% ( $r=0,893$ ;  $p=0,007$ ), а также отрицательная связь между уровнем лейкоцитов и минимальным уровнем сатурации за период ночного сна ( $r=-0,778$ ;  $p=0,039$ ); на 2-м визите сохранялась прямая корреляционная взаимосвязь между уровнем лейкоцитов и суммарным временем сатурации ниже SpO<sub>2</sub> 85% ( $r=0,786$ ;  $p=0,021$ ).

**Обсуждение.** Проводимое исследование показало, что полученные нами результаты согласуются с рядом опубликованных данных в исследовании лабораторных гематологических и биохимических параметров у пациентов с тяжелым течением СОАС. Помимо этого, проспективное наблюдение позволило нам выявить ассоциации суммарного времени сатурации ниже SpO<sub>2</sub> 85% и минимального уровня сатурации за период ночного сна (показатели определяют тяжесть ночной гипоксемии, а значит и тяжесть СОАС) с уровнем лейкоцитов – маркером воспаления, что подтверждает неотъемлемую связь СОАС с системным воспалением. Имеющиеся научные данные свидетельствуют о том, что СОАС следует рассматривать с позиции хронического системного воспалительного заболевания с низкой степенью активности. Механизм активации воспаления при СОАС является многофакторным и до конца не изучен. Доказано, что снижение оксигенации является триггером хронического воспаления - способствует развитию эндотелиальной дисфункции, участвует в развитии и ускорении атеросклероза и тромботических осложнений [30]. Следовательно, клиническое выявление маркеров воспаления необходимо для оценки ночной гипоксемии с целью прогнозирования у пациентов с СОАС осложнений ССЗ.

Проведенный метаанализ 11 исследований показал, что СОАС был связан с высоким уровнем лейкоцитов (объединенное отношение рисков 0,58; 95% доверительный интервал 0,31-0,850;  $p<0,0001$ ). Выявлена положительная корреляция между уровнем лейкоцитов и тяжестью СОАС: чем выше ИАГ, тем выше отклонения лейкоцитов [19].

В исследовании М.С. Рау и соавт. [31] были продемонстрированы корреляционные связи не только между уровнем маркеров воспаления и ИАГ, но и с уровнем сатурации в период ночного сна.

Установлено, что адекватная СИПАП терапия значительно снижает маркеры системного воспаления [32], а значит снижает кардиоваскулярные риски.

**Заключение.** У пациентов кардиологического про-

филя с СИПАП терапией определена взаимосвязь повышенного уровня гипоксемии с большим количеством лейкоцитов, что указывает на риск развития системного воспаления в данной группе.

**Ограничения исследования.** Необходимо отметить, что малый объем выборки в нашем исследовании мог повлиять на полученные результаты. В связи с этим требуются дальнейшие исследования для подтверждения настоящих выводов.

#### ЛИТЕРАТУРА (П.П. 2 - 9, 11 - 15, 17 - 32 СМ. REFERENCES)

1. Полуэктов М.Г., ред. Сомнология и медицина сна: национальное руководство памяти А.М. Вейна и Я.И. Левина. 2-е изд. дополненное и переработанное. М.: Медконгресс; 2020.
10. Елфимова Е.М., Михайлова О.О., Хачатрян Н.Т., Литвин А.Ю., Чазова И.Е., Лайович Л.Ю. и др. Приверженность и эффективность длительной ПАП-терапии у пациентов с нарушениями дыхания во время сна, ассоциированными с нарушениями проводимости сердца. *Терапевтический архив*. 2020; 92(9):39–43. DOI: 10.26442/00403660.2020.09.000730.
16. Бугаев Т.Д., Елфимова Е.М., Агеева Н.В., Добровольский А.Б., Литвин А.Ю. Маркеры активации системы гемостаза у больных с синдромом обструктивного апноэ сна, возможности краткосрочной СИПАП-терапии. *Системные гипертензии*. 2016; 3(4):41–6. DOI:10.26442/2075-082X\_13.4.41-46.

#### REFERENCES

1. Poluektov M.G., ed. Somnology and sleep medicine: national guide in memory of A.M. Vein and Ya.I. Levina. 2<sup>nd</sup> ed. Moscow: Medkongress; 2020. (in Russian)
2. Costa L.E., Uchôa C.H., Harmon R.R., Bortolotto L.A., Lorenzi-Filho G., Drager L.F. Potential underdiagnosis of obstructive sleep apnoea in the cardiology outpatient setting. *Heart*. 2015; 101(16):1288–92. DOI: 10.1136/heartjnl-2014-307276.
3. Peng Y.H., Liao W.C., Chung W.S., Muo C.H., Chu C.C., Liu C.J. et al. Association between obstructive sleep apnea and deep vein thrombosis / pulmonary embolism: a population-based retrospective cohort study. *Thromb. Res*. 2014; 134(2):340-5. DOI: 10.1016/j.thromres.2014.06.009.
4. Shahar E., Whitney C.W., Redline S., Lee E.T., Newman A.B., Nieto F.J. et al. Sleep-disordered breathing and cardiovascular disease: cross-sectional results of the Sleep Heart Health Study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2001; 163(1):19-25. DOI: 10.1164/ajrccm.163.1.2001008.
5. Çelikhisar H., Daşdemir İlkhān G. Comparison of erythrocyte distribution width, mean platelet volume and platelet distribution width in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *J. Surgery and Medicine*. 2019; 3(10):734-739. DOI: 10.28982/josam.622377.
6. Rha M.S., Kim C.H., Yoon J.H., Cho H.J. Association between the neutrophil-to-lymphocyte ratio and obstructive sleep apnea: a meta-analysis. *Scientific Reports*. 2020;10(1):10862. DOI: 10.1038/s41598-

- 020-67708-w.
7. Zeng J., He J., Chen M., Li J. Association between mean platelet volume and obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome: A systemic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2024;19(2):e0297815. DOI: 10.1371/journal.pone.0297815.
  8. Labarca G., Schmidt A., Dreysse J., Jorquera J., Enos D., Torres G. et al. Efficacy of continuous positive airway pressure (CPAP) in patients with obstructive sleep apnea (OSA) and resistant hypertension (RH): Systematic review and meta-analysis. *Sleep Med. Rev.* 2021; 58(AUG):101446. DOI: 10.1016/j.smrv.2021.101446.
  9. Piccirillo F., Crispino S.P., Buzzelli L., Segreti A., Incalzi R.A., Grigioni F. A. State-of-the-art review on sleep apnea syndrome and heart failure. *Am. J. Cardiol.* 2023; 15(195):57-69. DOI: 10.1016/j.amjcard.2023.02.020.
  10. Elfimova E.M., Mikhaylova O.O., Khachatryan N.T., Litvin A.Yu., Chazova I.E., Laiovich L.Y. et al. Adherence and efficacy of long-term PAP therapy in patients with sleep-related breathing disorders associated with cardiac conduction disorders. *Terapevticheskiy Arkhiv*. 2020; 92(9):39-43. DOI: 10.26442/00403660.2020.09.000730. (in Russian)
  11. Zhou Y., Yan M., Yuan J., Wang Y., Qiao S. Continuous positive airway pressure treatment decreases the risk of atrial fibrillation recurrence in patients with obstructive sleep apnea after radiofrequency ablation. *Int. Heart J.* 2022; 63(4):716-21. DOI: 10.1536/ihj.22-129.
  12. Timkova V., Nagyova I., Reijneveld S.A., Tkacova R., Dijk J.P., Bultmann U. Quality of life of obstructive sleep apnoea patients receiving continuous positive airway pressure treatment: A systematic review and meta-analysis. *Hear Lung*. 2020; 49(1):10-24. DOI: 10.1016/J.HRTLNG.2019.10.004.
  13. Kapur V.K., Auckley D.H., Chowdhuri S., Kuhlmann D.C., Mehra R., Ramar K. et al. Clinical practice guideline for diagnostic testing for adult obstructive sleep apnea: an American Academy of sleep medicine clinical practice guideline. *J. Clin. Sleep Med.* 2017;13(3):479-504. DOI:10.5664/jcs.6506.
  14. Sawyer A.M., Gooneratne N.S., Marcus C.L., Ofer D., Richards K.C., Weaver T.E. A systematic review of CPAP adherence across age groups: clinical and empiric insights for developing CPAP adherence interventions. *Sleep Med. Rev.* 2011;15(6):343-56. DOI: 10.1016/j.smrv.2011.01.003.
  15. Feliciano A., Linhas R., Marçôa R., Cysneiros A., Martinho C., Reis R.P. et al. Hematological evaluation in males with obstructive sleep apnea before and after positive airway pressure. *Rev. Port. Pneumol.* (2006). 2017; 23(2):71-8. DOI: 10.1016/j.rppnen.2016.12.001.
  16. Bugaev T.D., Elfimova E.M., Ageeva N.V., Dobrovolsky A.B., Litvin A.Yu. Coagulation markers in patients with obstructive sleep apnea syndrome and effects of continuous positive airway pressure. *Sistemnye gipertenzii*. 2016; 13(4):41-6. DOI:10.26442/2075-082X\_13.4.41-46. (in Russian)
  17. Kivanc T., Kulaksizoglu S., Lakadamyali H., Eyuboglu F. Importance of laboratory parameters in patients with obstructive sleep apnea and their relationship with cardiovascular diseases. *J. Clin. Lab. Anal.* 2018; 32(1):e22199. DOI: 10.1002/jcla.22199.
  18. Ning Y., Zhang T.S., Wen W.W., Li K., Yang Y.X., Qin Y.W. et al. Effects of continuous positive airway pressure on cardiovascular biomarkers in patients with obstructive sleep apnea: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Sleep Breath.* 2019; 23(1):77-86. DOI: 10.1007/s11325-018-1662-2.
  19. Wu M., Zhou L., Zhu D., Lai T., Chen Z., Shen H. Hematological indices as simple, inexpensive and practical severity markers of obstructive sleep apnea syndrome: a meta-analysis. *J. Thorac. Dis.* 2018; 10(12):6509-21. DOI: 10.21037/jtd.2018.10.105.
  20. Gabryelska A., Lukasiak Z.M., Makowska J.S., Bialasiewicz P. Obstructive sleep apnea: from intermittent hypoxia to cardiovascular complications via blood platelets. *Front. Neurol.* 2018; 9(AUG):1-10. DOI: 10.3389/fneur.2018.00635.
  21. Oga T., Chin K., Tabuchi A., Kawato M., Morimoto T., Takahashi K. et al. Effects of obstructive sleep apnea with intermittent hypoxia on platelet aggregability. *J. Atheroscler. Thromb.* 2009; 16(6):862-9. DOI: 10.5551/jat.2188.
  22. Barcelo A., Pierola J., de la Peña M., Frontera G., Yañez A., Alonso-Fernandez A. et al. Impaired circadian variation of platelet activity in patients with sleep apnea. *Sleep Breath.* 2012; 16(2):355-60. DOI: 10.1007/s11325-011-0501-5.
  23. Özdemir C., Sökücü S., Aydın Ş., Öner S.T., Kara K. Response of blood parameters to CPAP treatment in patients with obstructive sleep apnea. *Noro Psikiyat. Ars.* 2018; 56(3):182-5. DOI: 10.29399/npa.23011.
  24. Kirabo A. A new paradigm of sodium regulation in inflammation and hypertension. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2017; 313(6):706-10. DOI: 10.1152/ajpregu.00250.2017.
  25. Drager L.F., Togeiro S.M., Polotsky V.Y., Lorenzi-Filho G. Obstructive sleep apnea: a cardiometabolic risk in obesity and the metabolic syndrome. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013; 62(7):569-76. DOI: 10.1016/j.jacc.2013.05.045.
  26. Liu J., Xu J., Guan S., Wang W. Effects of different treatments on metabolic syndrome in patients with obstructive sleep apnea: a meta-analysis. *Front. Med. (Lausanne)*. 2024; (11):1354489. DOI: 10.3389/fmed.2024.1354489.
  27. Wu Q., Ma X., Wang Y., Jin J., Li J., Guo S. Efficacy of continuous positive airway pressure on NT-pro-BNP in obstructive sleep apnea patients: a meta-analysis. *BMC Pulm. Med.* 2023; 23(1):260. DOI: 10.1186/s12890-023-02539-9.
  28. Ljunggren M., Lindahl B., Theorell-Haglöw J., Lindberg E. Association between obstructive sleep apnea and elevated levels of type B natriuretic peptide in a community-based sample of women. *Sleep*. 2012; 35(11):1521-7. DOI: 10.5665/sleep.2202.
  29. Güngördü N., Börekçi Ş., Çulpan H.C., Coşkun E., Ayan F., Mutlu B. Effect of continuous positive airway pressure therapy on pro-brain natriuretic peptide, C-reactive protein, homocysteine, and cardiac marker in patients with obstructive sleep apnea. *Thorac. Res. Pract.* 2023; 24(2):76-84. DOI: 10.5152/ThoracResPract.2023.22130.
  30. O'Donnell C., O'Mahony A.M., McNicholas W.T., Ryan S. Cardiovascular manifestations in obstructive sleep apnea: current evidence and potential mechanisms. *Pol. Arch. Intern. Med.* 2021; 131(6):550-60. DOI: 10.20452/pamw.16041.
  31. Pau M.C., Zinellu A., Mangoni A.A., Paliogiannis P., Lacana M.R., Fois S.S. Evaluation of inflammation and oxidative stress markers in patients with obstructive sleep apnea (OSA). *J. Clin. Med.* 2023; 12(12):3935. DOI: 10.3390/jcm12123935.
  32. Al-Halawani M., Kyung C., Liang F., Kalpan I., Moon J., Clerger G. et al. Treatment of obstructive sleep apnea with CPAP improves chronic inflammation measured by neutrophil-to-lymphocyte ratio. *J. Clin. Sleep Med.* 2020; 16(2):251-7. DOI: 10.5664/jcs.8176.

## ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Костинов М.П.<sup>1,2</sup>, Тюкавкина С.Ю.<sup>3</sup>, Харсеева Г.Г.<sup>3</sup>, Миронов А.Ю.<sup>4,5</sup>, Каушанская Л.В.<sup>3</sup>, Муслимова З.А.<sup>6</sup>

### КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА, ИММУНОПАТОГЕНЕЗ, ИММУНОКОРРЕКЦИЯ ПРИ COVID-19 (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Минздрава РФ (Сеченовский Университет), 119991, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 344022, Ростов-на-Дону, Россия;

<sup>4</sup>ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, 125212, Москва, Россия;

<sup>5</sup>ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, 125212, Москва, Россия;

<sup>6</sup>ГБУ ЦРБ Урус-Мартановского района им. М. М. Ахтаханова, 366500, Урус-Мартан, Чеченская Республика, Россия

*Несмотря на окончание пандемии, COVID-19 по-прежнему остается признанной серьезной проблемой здравоохранения. Рассмотрены принципы клинической лабораторной диагностики COVID-19, позволяющие интерпретировать наличие различных форм и стадий болезни с целью назначения адекватного лечения, обеспечивающие возможность контроля эпидемиологического распространения COVID-19. Представлены особенности иммунопатогенеза COVID-19, приводящего к дисбалансу уровней различных цитокинов, в частности, подавлению вирусом SARS-CoV-2 продукции интерферонов на ранних этапах болезни, роль которых чрезвычайно важна в противовирусной защите. Показана возможность иммунокоррекции пациентов с COVID-19 и иммунореабилитации постковидного синдрома с помощью современных препаратов с высокой клинико-иммунологической эффективностью и безопасностью, восполняющих дефицит эндогенных интерферонов, таких как рекомбинантный интерферон альфа-2b в форме назальных капель или спрея.*

**Ключевые слова:** клиническая лабораторная диагностика COVID-19; иммунопатогенез COVID-19; интерфероны

**Для цитирования:** Костинов М.П., Тюкавкина С.Ю., Харсеева Г.Г., Миронов А.Ю., Каушанская Л.В., Муслимова З.А.

Клиническая лабораторная диагностика, иммунопатогенез, иммунокоррекция при COVID-19 (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика. 2024; 69 (9): 456-467.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-9-456-467>

**Для корреспонденции:** Харсеева Галина Георгиевна, д-р мед наук, проф., зав. кафедрой микробиологии и вирусологии № 2; e-mail: [galinagh@bk.ru](mailto:galinagh@bk.ru)

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.06.2024

Принята к печати 05.07.2024

Опубликовано 00.09.2024

*Kostinov M.P.<sup>1,2</sup>, Tyukavkina S.Y.<sup>3</sup>, Kharseeva G.G.<sup>3</sup>, Mironov A.Yu.<sup>4,5</sup>, Kaushanskaya L.V.<sup>3</sup>, Muslimova Z.A.<sup>6</sup>*

### CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS, IMMUNOPATHOGENESIS, IMMUNOCORRECTION IN COVID-19 (REVIEW OF LITERATURE)

<sup>1</sup>I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Sechenov University), 119991, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Rostov State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Rostov-on-Don, 344022, Russia;

<sup>4</sup>G. N. Gabrichevsky research institute for epidemiology and microbiology, 125212, Moscow, Russia;

<sup>5</sup>Federal research and clinical center of specialized medical care and medical technologies FMBA of Russia, 125212, Moscow, Russia;

<sup>6</sup>GBU CRH of the Urus-Martansky district named after M.M. Akhtakhanov, 366,500, Urus-Martan, Chechen Republic, Russia

*Despite the end of the pandemic, COVID-19 remains a recognized serious health problem. The review presents the features of the immunopathogenesis of a new coronavirus infection, which leads to an imbalance in the levels of various cytokines, in particular, the suppression of interferon production by the SARS-CoV-2 virus in the early stages of the disease, the role of which is extremely*

important in antiviral protection. The possibility of using immunocorrection of patients with COVID-19 and immunorehabilitation of postcovid syndrome with the help of modern drugs that compensate for the deficiency of endogenous interferons has been shown. The results of large-scale studies have been demonstrated, confirming the high clinical and immunological efficacy and safety of recombinant interferon alpha-2b in the form of nasal drops or spray. The principles of etiotropic laboratory diagnostics of COVID-19 are considered, which make it possible to interpret the presence of various forms and stages of the disease in order to prescribe adequate treatment, as well as providing the possibility of controlling the epidemic spread of COVID-19.

**Key words:** laboratory diagnostics of COVID-19; COVID-19 immunopathogenesis; interferons

**For citation:** Kostinov M.P., Tyukavkina S.Y., Kharseeva G.G., Mironov A.Yu., Kaushanskaya L.V., Muslimova Z.A. Clinical laboratory diagnostics, immunopathogenesis, immunocorrection in COVID-19 (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (9): 456-467 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-9-456-467>

**For correspondence:** Kharseeva Galina G., Dr. Sci. (medical); Professor, Head of the Department of Microbiology and Virology № 2 of Federal State Budget Educational Establishment of Rostov State Medical University of the Ministry of Health of Russia; e-mail: galinagh@bk.ru

**Information about authors:**

Kostinov M.P., <https://orcid.org/0000-0002-1382-9403>;

Kharseeva G. G., <https://orcid.org/0000-0002-6226-2183>;

Tyukavkina S.Yu., <https://orcid.org/0000-0001-9291-2012>;

Mironov A. Yu., <https://orcid.org/0000-0002-8544-5230>;

Kaushanskaya L.V., <https://orcid.org/0000-0001-8574-6394>;

Muslimova Z.A., <https://orcid.org/0009-0000-9954-366X>.

**Funding.** The study had no sponsor support.

**Conflict of interest.** The authors declare absence of conflict of interest.

Received 25.06.2024

Accepted 05.07.2024

Published 00.09.2024

Устойчивая тенденция к снижению смертности от COVID-19, снижение числа госпитализаций в стационары и отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), высокий уровень популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 позволили ВОЗ в мае 2023 г. объявить об окончании пандемии COVID-19, длившейся более 3 лет. Для перехода к её долгосрочному управлению составлен стратегический план на период 2023-2033 гг для обеспечения готовности и реагирования в изменяющейся эпидемической ситуации. COVID-19, по-прежнему, остается **признанной** серьезной проблемой здравоохранения, поскольку циркуляция вируса продолжается (8,4% населения Земли инфицировано им), обстановка по заболеваемости COVID-19 в ряде стран остается напряжённой, каждый десятый случай протекает тяжело и требует госпитализации, представляя особую опасность для групп риска - пожилых людей и лиц с хроническими заболеваниями; усугубились проблемы лонгковида. Сохраняется возможность эволюции SARS-CoV-2 с появлением новых антигенных вариантов, способных «прорвать» популяционный иммунитет, *сформировавшийся в результате контакта с предыдущими антигенными вариантами SARS-CoV-2 [1,2].*

Чрезвычайная изменчивость SARS-CoV-2, отличающая его от других возбудителей острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ), обусловлена изменениями аминокислотной последовательности спайкового белка (SP) вируса, который после связывания с рецептором ангиотензинпревращающего фермента 2 (АПФ2) определяет проникновение вируса в клетки-мишени организма человека. Результатом этого процесса явилось появление множества геновариантов SARS-CoV-2, преобладавших в определённые эпидемические периоды, отличавшихся контагиозностью, патогенным потенциалом, способностью к отклонению

от иммунного ответа и последовательно сменявших друг друга. Они определили возможность как повторного заражения SARS-CoV-2 после перенесенной коронавирусной инфекции, вызванной иным антигенным вариантом, так и развитие заболевания у привитых [3].

Вариантами вируса, вызвавшими беспокойство и требующими особого внимания (variants of concern), по критериям ВОЗ, стали (в порядке их появления) Альфа («британский»), Гамма («бразильский»), Дельта («индийский») и в настоящее время - Омикрон, имеющий более 50 мутаций. До сентября 2020 г., когда население было наиболее восприимчиво к SARS-CoV-2 (серопревалентность не превышала 10,0%), господствовал вариант Альфа с высоким патогенным потенциалом, находивший благоприятные условия в организме человека. Увеличение числа больных, интраназальных форм инфекции, масштабная вакцинопрофилактика обусловили в 2021 г. увеличение серопревалентности к варианту Альфа до 56% и как следствие - появление штамма Дельта. Сочетанная циркуляция вариантов Альфа и Дельта в дальнейшем сменилась доминированием Дельта, характеризовавшегося наиболее выраженными патогенным потенциалом, трансмиссивностью, самым высоким уровнем смертности (в 3,8 раза выше, чем средний за весь период наблюдения), господствовавшим на протяжении 6 мес. Дальнейшее увеличение доли невосприимчивых лиц до 60% более к августу 2021 г. не позволило штамму Дельта комфортно существовать в организме человека и обеспечило селективный целенаправленный отбор в сторону формирования геноварианта, обладающего более высокой трансмиссивностью и свойствами отклонения от иммунного ответа - Омикрона, вытеснившего другие варианты гораздо быстрее, чем Дельта (5 и 12 нед. соответственно) [4,5].

Сохранение возбудителя как биологического вида

невозможно без генетической эволюции и адаптации к своим хозяевам, прежде всего к повышению уровня популяционного иммунитета, препятствующего распространению вируса и возможности вызвать болезнь при инфицировании.

**Клиническая лабораторная диагностика COVID-19.** ОРВИ - самая распространённая группа инфекционных заболеваний, поражающая все возрастные группы. Схожесть симптоматики COVID-19 с клиническими проявлениями ОРВИ вирусной (грипп, парагрипп, аденовирусы, риновирусы, респираторно-синтициальный вирус, коронавирусы, метапневмовирус, бокавирус) и бактериальной природы (*Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydothyla pneumoniae* и др.), особенно при одновременной циркуляции различных видов, требует своевременную и качественную верификацию патогена, прежде всего, с целью своевременного назначения этиотропной терапии [6,7]. Лабораторные тесты позволяют установить не только этиологию возникшей инфекции, но и выявить случаи бессимптомного носительства SARS-CoV-2, при котором вирусная нагрузка не отличается от манифестированных форм. Это обеспечивает возможность контроля эпидемического распространения COVID-19 и разработки стратегии проведения противоэпидемических мероприятий. Хорошо зарекомендовавшие себя молекулярно-генетические и иммуноферментные мето-

ды клинической лабораторной диагностики явились важным инструментом в достижении успехов в ликвидации пандемии COVID-19 [8,9].

Методы этиологической диагностики COVID-19 разделяются на: 1) прямые методы, направленные на выявление присутствия возбудителя в исследуемых образцах; 2) косвенные, позволяющие регистрировать уровень и класс специфических антител, синтезирующихся в динамике болезни (серодиагностика), которые рассматриваются как вспомогательный метод (рис. 1).

**Прямые методы этиологической диагностики.** В настоящее время всем лицам с признаками ОРВИ рекомендуется проводить лабораторное исследование мазков из носо- и ротоглотки, образцов слюны с применением прямых методов этиологической диагностики. Исследования выполняют во всех лабораториях РФ (клинико-диагностических, микробиологических, молекулярно-генетических (ПЦР-лабораторий)), имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека III-IV патогенности. Мазки со слизистой оболочки носоглотки (из двух носовых ходов) и ротоглотки собирают в одну пробирку для большей концентрации вируса. У пациентов заболеваниями нижних дыхательных путей дополнительно может быть отобрана мокрота, бронхоальвеолярный лаваж, трахеальный аспират и др. [10].



Рис. 1. Методы этиологической диагностики COVID-19.

Прямые методы направлены на обнаружение:

1. РНК SARS-CoV-2 методом амплификации нуклеиновых кислот (МАНК) без накопления возбудителя: полимеразной цепной реакции (ПЦР) или изотермальной амплификации (LAMP);

2. антигенов коронавируса иммунохимическими методами (иммуноферментного анализа (ИФА), иммунохемилюминесценции (ИХЛ), иммунохроматографии (ИХ)).

Молекулярно-генетические методы, обладая наиболее высокой специфичностью и чувствительностью, являются более предпочтительными и позволяют увеличить процент идентификации возбудителя в 2,5 раза. Срок выполнения исследования на детекцию РНК SARS-CoV-2 МАНК составляет не более 24 часов с момента поступления биологического материала до выдачи результата. Положительный или сомнительный



результат передается лечащему врачу и в ближайший территориальный орган Роспотребнадзора. Этот же материал может быть направлен для повторного подтверждающего тестирования в референс-лаборатории, где он оценивается не более 48 часов с момента доставки.

ИХ-тесты могут применяться для экспресс-диагностики COVID-19 в ситуациях, когда проведение молекулярно-генетического тестирования МАНК невозможно, в том числе в удалённых и малонаселённых регионах. Для определения антигенов затрачивается 10-30 мин, что даёт возможность ещё на амбулаторном этапе выявить и изолировать пациентов, предупредить смешивание потоков ОРВИ различной этиологии в момент госпитализации (в том числе из группы риска тяжёлого течения ОРВИ). Эффективность ИХ зависит от стадии инфекционного процесса (его применение оправдано в первые дни болезни), иммунного статуса пациента, характеристик применяемых диагностических наборов. Положительные результаты тестов на антиген SARS-CoV-2 могут ожидать в тот же период развития заболевания, что и выявление РНК вируса: за 2 дня до и на протяжении 5-7 дней после появления симптомов.

Диагностическая чувствительность и специфичность ИХ-тестов ниже, чем у тестов на основе МАНК, они имеют более низкую прогностическую ценность. Положительный результат ИХ-тестов может рассматриваться как подтверждение диагноза COVID-19, отрицательный результат не позволяет исключить COVID-19.

#### **Непрямые методы этиологической диагностики.**

Поскольку для диагностики текущей инфекции выявление антител к SARS-CoV-2 имеет вспомогательное значение, его используют при невозможности исследования мазков МАНК, в том числе при госпитализации в стационар по поводу соматической патологии. Для установления факта перенесенной ранее инфекции или иммунного ответа на вакцинацию от COVID-19, отбора потенциальных доноров иммунной плазмы серологические исследования являются приоритетными.

Выявление антител к SARS-CoV-2 проводится с помощью ИФА, ИХЛ, ИХ. ИФА и ИХЛ позволяют получать качественные, полуколичественные (коэффициент позитивности) и количественные результаты и установить уровень суммарных антител, содержание иммуноглобулинов классов IgA, IgM, IgG к SARS-CoV-2, в том числе, к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S. ИХ-тесты являются качественными, позволяют определить наличие специфических IgM, IgG, суммарные антитела, являются быстрыми («у постели больного», время получения результата – 10-30 мин) [10, 11].

С целью диагностики COVID-19 и уточнения фазы инфекционного процесса необходимо использовать наборы реагентов для количественного определения антител, результаты исследований представлять с использованием условных единиц измерения ВАУ/мл<sup>1</sup>, принятых ВОЗ в качестве международного стандарта<sup>2</sup>. Рекомендовано проведение раздельного тестирования на антитела класса IgM/IgA и IgG, мониторинг появления антител в динамике (детекция сероконверсии) -

повторное тестирование в неясных случаях через 5-7 суток. IgA к SARS-CoV-2 начинают формироваться и доступны для детекции примерно со 2-го дня от начала заболевания, достигают пика через 2 недели и сохраняются длительное время, IgM - на 7-е сутки, достигают пика через неделю и могут сохраняться в течение 2-х месяцев и более. С 3-й недели или ранее определяются антитела класса IgG. Особенностью гуморального иммунного ответа является небольшой временной промежуток между появлением антител IgM и IgG, а иногда и одновременное их формирование [12].

Результаты серодиагностики интерпретируются следующим образом:

- серонегативная фаза - антитела могут не выявляться в первичном образце, но выявляются во взятых через несколько дней образцах;

- активная фаза - при определении диагностически значимого уровня IgA и/или IgM в одном образце или значимого нарастания уровня IgG в парных сыворотках, взятых с интервалом в 2-4 недели;

- фаза реконвалесценции - концентрация IgA и IgM, как правило, существенно снижается (падение титра в 2-4 раза) во время выздоровления при сохраняющихся IgG через 2 недели после курса лечения и позднее;

- перенесенная инфекция - персистенция IgG без роста его уровня в парных сыворотках и отсутствие IgA и IgM.

Определение IgG к SARS-CoV-2 через 4 недели после вакцинации позволяет подтвердить наличие поствакцинального иммунитета. Длительность периода детектируемого наличия антител не установлена, но рассматривается как период не менее 3 месяцев.

Наибольшую достоверность о форме инфекции и её стадии позволяет получить сочетанное использование прямых и непрямых методов клинической лабораторной диагностики (табл. 1) [10].

**Иммуннопатогенез COVID-19.** Патогены, в том числе вирусы, попавшие в организм хозяина, распознаются клетками и гуморальными факторами врождённого иммунитета с помощью рецепторов, специализированных на узнавании PAMP (pathogen-associated molecular patterns) - патогенассоциированных молекулярных паттернов, которые не являются индивидуальными и однотипны для разных групп микроорганизмов. Основной группой паттернраспознающих рецепторов в организме человека являются Толл-подобные рецепторы (TLR), располагающиеся в наибольшей концентрации на иммунокомпетентных клетках миелоидного ряда и эпителиальных клетках, присутствующие в секреторной форме (компоненты системы комплемента, С-реактивный белок и др.). В результате распознавания PAMP в очаге, куда проник возбудитель, происходит активация местных дендритных клеток (ДК), макрофагов (Мф), мастоцитов, системы комплемента, цитокинов, заканчивающаяся формированием базовой реакции инфекционного воспаления. Она направлена на привлечение в очаг из кровотока лейкоцитов и элиминацию опознанных чужеродных объектов из организма, является «первой линией обороны». На эти процессы затрачивается в среднем 2-3 часа, длительность защитного действия составляет 96 часов - время, в течение которого происходит инициация адаптивного иммунитета - «второй линии» защиты [13].

<sup>1</sup> ВАУ/мл - binding antibody units - единицы связывающих антител.

<sup>2</sup> First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 Immunoglobulin (Human) NIBSC code: 20/136.

Интерпретация результатов исследований МАНК и иммунохимическими методами

Результаты исследования SARS-CoV-2				Интерпретация
РНК	Антиген	IgM/IgA	IgG	
-	-	-	-	Отсутствие текущей и ранее перенесенной инфекции COVID-19
+	+	-	-	Острая фаза инфекции. Серонегативный период. Результат может предшествовать появлению симптомов COVID-19
+	+	+	-	Острая фаза инфекции. Начало развития иммунного ответа
+	+	+	+	Острая фаза инфекции, выраженный иммунный ответ на инфекцию COVID-19
-	-	+	+	Поздняя фаза заболевания или выздоровление, выраженный иммунный ответ
-	-	-	+	Наличие инфекции COVID-19 в прошлом или период выздоровления. Сформирован иммунитет к SARS-CoV-2

После внедрения в организм человека основной мишенью для SARS-CoV-2 становится АПФ2, экспрессируемый на мембранах эпителиальных клеток (альвеолоцитов, энтероцитов, эндотелиальных клеток сосудов, эпителиоцитов глаза, почек мочевого пузыря, нервной ткани и др.), гладкомышечных клеток большинства органов. Наличие трансмембранной сериновой протеазы на мембране клеток обеспечивает связывание SP SARS-CoV-2 с АПФ2 и его проникновение в клетку. За вход в клетку отвечает уникальная фуриновая вставка, находящаяся на участке S<sub>1</sub>/S<sub>2</sub>-субъединиц, составляющих спайковый протеин. Одновременно спайковый протеин, являющийся PAMP, опознается и связывается с мембранными TLR-4/TLR-2 эпителиоцитов, ДК, Мф. После ферментативной деградации вируса в протеосомах эпителиоцитов или лизосомах ДК и Мф, поглотивших вирус, одноцепочечная РНК вируса взаимодействует с цитозольными TLR<sub>7</sub>, TLR<sub>8</sub>, TLR<sub>9</sub> эндосомально-лизосомального компартмента. Обнаружение вируса запускает сигнальный каскад: в передаче сигнала от TLR к ядерному фактору каппа В (NF-κB) последовательно участвуют белок MyD<sub>88</sub> и внутриклеточные киназы, что обеспечивает активацию транскрипционных факторов, экспрессию генов иммунного ответа, секрецию разнообразных цитокинов [14,15].

Цитокины - универсальная система низкомолекулярных белков организма, регулирующих межклеточные взаимодействия при воспалении и адаптивном иммунном ответе, гемопоэзе, лишённых специфичности в отношении антигенов. По структурно-функциональным свойствам цитокины подразделены на семейства интерферонов (IFN), интерлейкинов (IL), фактора некроза опухолей (TNF), хемокинов, факторов роста гемопоэтических клеток и др. В условиях физиологического «покоя» организма спектр и количество цитокинов в сыворотке крови скудные и недостаточны для проявления их биологических эффектов. При активации иммунокомпетентных клеток различными агентами их уровень резко возрастает в очаге, одновременно происходит усиление экспрессии рецепторов к цитокинам на клетках-мишенях. Цитокины функционируют по типу цитокиновой сети, включая локальность и близкое действие, избыточность (перекрывание и дублирование спектров действия разных цитокинов), плейотропность (возможность действия на различные мишени), способность

вызывать различные эффекты и взаимодействие, проявляющееся как в усилении, так и ослаблении выработки и активности других цитокинов [16,17].

Интерфероны открыты и описаны как факторы, опосредующие интерференцию вирусов - индуцируемую вирусами резистентность клеток хозяина к ним.

Функционирование системы интерферонов складывается из строго следующих друг за другом этапов: индукция-продукция-действие-эффекты. Индукция - быстрый (30-40 минут) этап взаимодействия внешних сигналов с клеткой, во время которого происходит дерепрессия генов IFN, транскрипция их информационных РНК с последующей трансляцией. Продукция - синтез клетками IFN и их секреция в окружающую среду; действие подразумевает контакт IFN с клетками, экспрессирующими соответствующие рецепторы, заканчивающееся развитием биологических эффектов, например, блокада репродукции вирусов [18].

Выделяют три самостоятельных семейства IFN.

IFN семейства I типа (IFN-α, β, δ, κ, τ, ω) продуцируются преимущественно плазмоцитоидными предшественниками ДК, моноцитами/Мф, в меньшей степени - эпителиальными клетками, фибробластами, при вирусной инфекции - всеми инфицированными ядродержащими клетками. Основными разновидностями являются IFN-α (18 субтипов) и IFN-β (2 субтипа); основной индуктор их синтеза - вирусы. Процесс синтеза начинается через 30-40 минут после попадания вирусов на слизистую оболочку, достигает максимума в течение 2 часов, эффект их воздействия сохраняется 1-2 дня. Они оказывают прямое противовирусное действие, усиливают защиту от внутриклеточных патогенов путём повышения фагоцитарной и микробицидной активности Мф, стимуляции выработки провоспалительных цитокинов и усиления дифференцировки Т-клеток по Th<sub>1</sub>-пути; обладают антипролиферативным действием (табл. 2) [19].

IFN II типа (IFN-γ) образуется в основном лимфоидными клетками (натуральными киллерами (NK), Th<sub>1</sub>), обладает мощной иммуномодулирующей и слабовыраженной противовирусной активностями. Занимает одну из ключевых позиций в регуляции адаптивного иммунитета, действует на стыке врождённых и адаптивных механизмов защиты [20].

Таблица 2

Типы интерферонов

Семейство	Кодирующие гены	Рецепторы к IFN	Основные эффекты
IFN I типа	На хромосомах 2, 5, 9	CD <sub>118</sub> (IFNAR1 и IFNAR2) - почти на всех ядерных клетках	<i>Противовирусный:</i> деградации вирусной РНК, подавление репликации вирусов, запуск апоптоза инфицированных клеток, резистентность здоровых клеток к инфицированию вирусом; активация Мф, синтез провоспалительных цитокинов; дифференцировка по Th <sub>1</sub> -пути;
IFN II типа	На хромосоме 12	CD <sub>119</sub> (на клетках миелоидного ряда, Лф)	<i>Антипролиферативный иммуномодулирующий:</i> активация Нф, NK, CD <sub>8</sub> <sup>+</sup> цитотоксических лимфоцитов (CTL); усиление экспрессии молекул МНС I и II классов на антигенпредставляющих клетках, стимуляция процессинга и презентации антигена, фагоцитарной и микробицидной активности Мф в отношении внутриклеточных паразитов
IFN III типа	На хромосоме 19	Комплекс IL10RB и IFNLR1 в эпителии барьерных тканей	<i>Аналогичны IFN I типа</i> , но выражены меньше, развиваются медленнее, ограничены действием на эпителиальные ткани (ЖКТ, ДП, УГТ, глаза, гематоэнцефалический и плацентарный барьеры и в печени), на Нф, Дк, В-Лф

IFN III типа (IFN-λ-1,2,3 - соответственно IL-29, IL-28A и IL-28B; IFN-λ4), вырабатываются теми же группами клеток, что и IFN I типа, имеют сходные с ним противовирусные эффекты, которые реализуются в основном в барьерных тканях, поскольку специфические для них рецепторы располагаются на клетках эпителиального происхождения (желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), респираторного, урогенитального трактов (УГТ), глаза), на уровне гематоэнцефалического и плацентарного барьеров, клеток печени, в то время как IFN I типа являют системное действие. Другие важные отличия от IFN I состоят в локализации генов, кодирующих эти типы интерферонов, и степени чувствительности к ним различных вирусов, так вирусы гриппа, SARS-CoV-2, метапневмовирусы более чувствительны к IFN I, а ротавирусы, адено- и герпесвирусы - к IFN-λ [21, 22].

Будучи плейотропными цитокинами, IFN, кроме противовирусного эффекта на уровне отдельно взятой клетки, обеспечивают иммунный ответ на вирусную инфекцию на уровне всего организма, усиливая работу многих факторов врождённого и адаптивного иммунитета. Результатом этих процессов являются:

- синтез эндогенных ИФН-α и ИФН-β Мф и ДК в ответ на вирусные РАРМ;
- активация цитотоксических клеток - во-первых, NK, которые при распознавании стрессорных молекул, появляющихся на мембранах инфицированных вирусами клеток, обуславливают их антигеннеспецифический лизис; во-вторых, вирусспецифических CTL, обеспечивающих антигенспецифический лизис клеток-мишеней;
- усиление экспрессии молекул МНС I класса на инфицированных клетках;
- стимуляция созревания ДК и экспрессии ими молекул МНС-I и II, ко-стимулирующих молекул (CD<sub>80</sub>, CD<sub>86</sub>, CD<sub>40</sub>) и как следствие - повышение эффективности представления вирусных антигенов соответственно CD<sub>8</sub><sup>+</sup> и CD<sub>4</sub><sup>+</sup> лимфоцитам с формированием цитотоксического и антителозависимого иммунного ответа [23, 24].

Отличительной особенностью воздействия SARS-CoV-2 является возникающий дисбаланс уровней различных групп цитокинов. Отсроченная и субоптимальная активация сигнального пути IFN I и III типов ведёт

к недостаточности этих важнейших компонентов противовирусной защиты на фоне длительной активации NF-κB и соответственно гиперпродукции провоспалительных цитокинов: IL-1β, IL-6, IL-12, IL-18, IL-33, IP-10, TNF, хемокинов и др. Непропорциональная, избыточная продукция цитокинов, прежде всего IL-6 и TNF, и низкие уровни IFN-α, IFN-γ, IL-2 (ростового фактора лимфоцитов) ведут к раннему началу воспаления и «цитокиновому шторму», характеризующемуся привлечением в очаг из кровотока сегментоядерных лейкоцитов, моноцитов, активацией и пролиферацией лёгочных ДК и Мф. Рекрутированные нейтрофилы (Нф) при дегрануляции выделяют во внеклеточное пространство широкий спектр ферментов, вызывающих деструкцию тканей, воспалительную клеточную инфильтрацию. Возникает неадекватное локальное воспаление с тяжёлым повреждением тканей, недостаточной ограничительной функцией воспаления, чрезмерным образованием и массивным выходом в системный кровоток медиаторов этого процесса - цитокинов, компонентов системы комплемента, фактора активации тромбоцитов, гистамина, свободных кислородных радикалов, компонентов калликреин-кининовой системы и многих других. Опосредованная цитокиновым штормом реакция может привести к развитию пневмонии, острому респираторному дистресс-синдрому, полиорганной недостаточности и летальному исходу [25, 26].

У лиц старше 60 лет отмечается физиологическое снижение выработки IFN ДК, и, напротив, повышение продукции провоспалительных цитокинов, что ещё больше извращает иммунный ответ и усугубляет течение заболевания [27]. Со сниженной реакцией системы интерферонов при COVID-19 связывают более тяжёлое течение заболевания и у пациентов с избыточным весом. Дефицит IFN I является отличительной особенностью тяжёлого течения COVID-19 с прямой корреляцией между уровнями сывороточного интерферона и степенью тяжести болезни. У пациентов с крайне тяжёлым течением интерфероны в крови могут вообще не определяться [28].

Опаздывающий на фоне поляризованной секреции цитокинов адаптивный иммунный ответ связан с неполноценностью его T-лимфоцитзависимого звена.

Наблюдается стойкое снижение количества и угнетение функций  $CD_4^+$  и  $CD_8^+$  субпопуляций лимфоцитов, уменьшение чувствительности оставшихся лимфоцитов к активации Т-клеточного рецептора, подавление экспрессии молекул МНС (продуктов генов главного комплекса гистосовместимости) на антигенпредставляющих клетках и, соответственно, нарушение презентации вирусных антигенов Т-лимфоцитам. Это способствует формированию глубокой иммуносупрессии и неконтролируемой диссеминации вируса [29, 30].

**Иммунотропная коррекция при COVID-19.** Учитывая наличие у SARS-CoV-2 определённых механизмов, с помощью которых он подавляет продукцию и секрецию IFN I и III типов, роль которых чрезвычайно важна в противовирусной защите, особенно на ранних этапах болезни, использование иммуностимулирующих препаратов (ИТП), восполняющих дефицит эндогенных интерферонов, может лежать в основе восстановления функций иммунной системы и формирования адекватного иммунного ответа при COVID-19 и постковидном синдроме (ПКС) [31]. Такими ИТП являются IFN I и II поколения. Преимущество IFN заключается в вовлечении всех возможных противовирусных механизмов в отношении практически любых ДНК- и РНК-вирусов. На клеточном уровне это ингибирование репродукции вирусов, активация транскрипции IFN-связанных генов и запуск программы синтеза антивирусных белков, контактный цитоллиз инфицированных вирусом клеток NK и CTL, индукция апоптоза инфицированных клеток, защита от заражения окружающих здоровых клеток; на системном уровне - активация противовирусного иммунитета. Применение IFN позволяет быстро снизить вирусную нагрузку у пациентов и препятствует дальнейшему распространению инфекции, кроме того, IFN не вызывают формирования резистентных форм вирусов [32].

Для восполнения недостатка эндогенных интерферонов наиболее часто используются рекомбинантные интерфероны (rIFN). Это препараты II поколения, получаемые из культур клеток бактерий или грибов, в которые специально встраивают участок человеческого гена INF альфа-2a/-2b или IFN- $\gamma$ -1b. По сравнению с природными интерферонами (I поколение), источником которых являются линии лимфобластоидных клеток и лейкоцитов донорской крови, rIFN имеют более высокую степень очистки, безопасны с точки зрения заражения патогенами гемоконтактных инфекций, в них полностью отсутствуют вирусы-контаминанты. Вирусингибирующий эффект rIFN- $\alpha$ -2b со стабильным положительным результатом доказан на экспериментальной модели в разных культурах клеток и опытах на лабораторных животных по отношению к вирусам гриппа птиц типа A( $H_5N_1$  и  $H_5N_2$ ), гриппа типа A( $H_1N_1$ ) pdm 2009, краснухи, парамиксовирусов (парагриппа), пневмовирусов (рино-синтициального), адено- и коронавирусов, в том числе по отношению к SARS-CoV-2 (вариант B) [33]. В начале пандемии COVID-19 эффективность использования препаратов IFN I, в частности IFN- $\alpha$ -2b, показана в крупномасштабных клинических исследованиях, демонстрирующих снижение летальности и тяжести течения инфекции (динамики стабилизации жизненно важных показателей в сочетании с сокращением длительности лихорадки, продолжительности госпитализации, предотвращения развития ды-

хательной недостаточности и необходимости перевода в ОРИТ) [34, 35]. Иммунотропная коррекция с помощью препаратов на основе IFN- $\alpha$  эффективна на ранних этапах COVID-19, пока вирус не достиг нижних отделов дыхательных путей, то есть она должна быть упреждающей и проводиться до развития полного симптомокомплекса жизнеугрожающих состояний. Хорошо зарекомендовал себя IFN- $\gamma$ -1b, который, напротив, важен на поздних этапах, сопровождаемых «цитокиновым штормом» и осложнённых пневмонией [36, 37].

Одним из вариантов получения новых эффектов у rIFN является изменение их стереохимической структуры путём присоединения молекул ПЭГ - реакция пегилирования [38]. Другое направление - создание топических форм rIFN, дополненных компонентами, усиливающими действие основного вещества и обладающими иммуномодулирующей и противовоспалительной активностями. Такие препараты действуют в области входных ворот респираторных патогенов (эпителиальных клеток слизистой оболочки носа), обеспечивают быструю доставку активного вещества к очагу поражения и обладают высоким профилем безопасности. Их получают с использованием биотехнологии на основе биомассы бактерий *Escherichia coli*, в геном которой встроены гены человеческого IFN- $\alpha$ -2b. Это, Виферон с высокоактивными антиоксидантами (витаминами E и C) в виде суппозиторий или мази/геля; Грипферон, имеющий оптимальный интраназальный способ введения в виде капель и спрея, содержащий в 1 мл не менее 10 тыс. МЕ интерферона, а в качестве вспомогательных веществ - антиоксидант трилон-В и биологически совместимый полимер повидон [39]. Трилон-В является водорастворимым органическим соединением (динатриевая соль этилендиамина тетрауксусной кислоты). Помимо ингибирования в клетках организма окислительных процессов, вызванных свободными радикалами, он обладает рядом важных свойств, таких, как восстановление мукозального иммунитета и биоценоза слизистых оболочек, улучшение микроциркуляции, купирование воспалительных реакций и стимуляция репаративных процессов в тканях. Трилон-В обеспечивает высокую терапевтическую активность основного средства и устранение необходимости введения в композицию консерванта, раздражающе действующего на слизистую оболочку. Повидон способствует фиксации препарата на слизистой оболочке и восстановлению проходимости носовых ходов, стимулирует продукцию интерферона, оказывает дезинтоксикационное действие (рис. 2) [40, 41]. Клинические исследования эффективности назальных капель/спрея показали, что его введение в ранние сроки у пациентов с ОРВИ способствует более быстрому исчезновению всех симптомов (снижение температуры и выраженности интоксикации уже на следующий день) и сокращению периода выведения вирусов из носовых ходов [42].

Следует отметить выраженное влияние назального rIFN- $\alpha$ -2b на организм детей, в том числе детей первого года жизни, что объясняется несовершенством функционирования системы IFN у них. У новорожденных способность к продукции интерферонов клетками периферической крови снижена в 9 раз, в возрасте от 1 года до 3 лет - в 6 раз по сравнению с взрослыми. Наиболее выраженная недостаточность синтеза IFN- $\alpha$



Рис. 2. Свойства препарата рекомбинантного интерферона альфа-2b в виде назальных капель и спрея.

наблюдается у детей с ОРВИ и бронхиальной астмой [43]. Обладая местным иммуномодулирующим действием, препарат rIFN-α-2b способствует увеличению локально образующихся антител, особенно секреторных sIgA, препятствующих фиксации и размножению патогенов на слизистых оболочках дыхательных путей, предотвращают опосредованные воспалительные эффекты комплемента, активируют антимикробные пептиды. Клинические исследования продемонстрировали, что введение назальных капель или спрея rIFN-α-2b в начале заболевания на фоне базисного лечения сопровождается у большинства детей с ОРВИ, в том числе COVID-19, восстановлением сниженного уровня sIgA в носовом секрете, независимо от величины показателей у них сывороточного IFN-α и IFN-продуцирующей активности соответствующих иммунокомпетентных клеток *in vitro*. Напротив, у каждого второго обследованного ребёнка группы сравнения, в которой препараты rIFN-α-2b не использовались, величина этого показателя продолжала снижаться. Ещё одним важным эффектом заместительной иммунокоррекции интерферонами явилось снижение у пациентов основной группы высокого содержания цитокинов IL-1β и IL-8 в носоглотке за счёт уменьшения вирусной нагрузки на организм, что приводило к сокращению продолжительности катаральных симптомов заболевания и интоксикации, в том числе у часто болеющих детей, ВИЧ-инфицированных и детей с перинатальным контактом по ВИЧ-инфекции [44, 45].

Представляют интерес результаты исследования, в которое были включены 200 беременных с новой коронавирусной инфекции в I, II, III триместрах, получавшие интраназальный препарат rIFN-α-2b 5 раз в сутки в течение 5 дней. У этих пациенток инфекция в большинстве случаев протекала в лёгкой форме, при этом

наиболее уязвимой группой стали женщины на II триместре [46].

Хорошую эффективность показали отечественные препараты rIFN-α-2b и в комплексной реабилитации пациентов с «долгим ковидом» (long COVID), постковидным синдромом (ПКС) - мультисистемным заболеванием, развивающимся у пациентов после COVID-19 соответственно в течение 4-12 недель или трёх и более месяцев после начала болезни, не объяснимым альтернативными диагнозами. Сохранение повреждения тканей на фоне вялотекущего воспаления вследствие дисфункции иммунного ответа на действие вируса и его длительной репликации с вторичным системным повреждением, возможность повторного инфицирования SARS-CoV-2 может привести к инвалидности. Риск развития разнообразного спектра стойких проявлений ПКС с поражением одного или нескольких органов существует как у пациентов с тяжёлым течением инфекции, так и в случаях, когда заболевание протекает в лёгкой форме. Своевременное включение интерферонов с учётом иммунопатогенеза COVID-19 может привести к нормализации последствий, открывая возможности усовершенствования методов реабилитации пациентов с ПКС.

Доказана профилактическая эффективность использования интраназального препарата интерферона альфа-2b у различных групп населения. При экстренной неспецифической медикаментозной профилактике у врачей и медицинских сестер, работающих в красных зонах инфекционных отделений, удалось снизить риски инфицирования на 67%, заболеваемость COVID-19 - в 3 раза по сравнению с группой сотрудников, не использовавших IFN. Показано полное отсутствие инфицирования SARS-CoV-2 у медицинского персонала красной зоны на фоне двух курсов интраназального приема rIFN-α-2b на протяжении 3-х месяцев [47, 48].

Опыт практического применения топических интерферонов позволил ввести интраназальные формы рекомбинантного IFN- $\alpha$ -2b в рекомендованный Минздравом России перечень ИТП для иммунокоррекции при COVID-19. Это обеспечило его широкое амбулаторное и стационарное применение как в период пандемии COVID-19, так и настоящее время [9, 49].

**Заключение.** Несмотря на отмену ВОЗ в мае 2023 г. статуса пандемии, COVID-19 по-прежнему остается серьезной проблемой здравоохранения, поскольку циркуляция вируса продолжается, с августа количество заболевших вновь стало возрастать, сохраняется возможность эволюции вируса с появлением новых вариантов SARS-CoV-2, способных «прорвать» популяционный иммунитет, усугубляются проблемы ПКС.

От качества проведения достоверной клинической лабораторной диагностики, позволяющей установить инфицирование SARS-CoV-2 и/или наличия специфических антител, зависит возможность назначения адекватной комбинированной терапии и иммунореабилитации при COVID-19, контроля эпидемического распространения SARS-CoV-2, разработки стратегии проведения противоэпидемических мероприятий. Мировой опыт этиологической диагностики COVID-19 доказывает необходимость сочетания молекулярно-генетических (детекция вирусной РНК) и иммунологических лабораторных тестов (обнаружение антигенов SARS-CoV-2, содержания суммарных антител к SARS-CoV-2, в том числе, к рецептор-связывающему домену поверхностного гликопротеина S, определение классов специфических IgA, IgM, IgG). ИХ-тесты при необходимости могут применяться для экспресс-обнаружения вирусных антигенов вне лабораторий, в том числе в полевых условиях и у постели больного. Интерпретация результатов исследований МАНК и иммунохимическими методами позволяет установить наличие, форму и фазу инфекции.

Учитывая иммунопатогенез COVID-19, характеризующийся развитием дисбаланса продукции цитокинов, в частности, поздний синтез и низкие уровни IFN I и II на фоне чрезмерного воспалительного ответа с нарастанием количества широкого спектра ИЛ и хемокинов, целесообразно использовать ИТП для иммунокоррекции инфекции и ПКС. Недостаточность IFN I, необходимого для прекращения репликации вируса и модуляции иммунитета, особенно на ранних этапах болезни, обусловила использование при COVID-19 и ПКС препаратов рекомбинантного IFN- $\alpha$ -2b, в том числе топических форм, для восполнения дефицита эндогенных интерферонов. Такие препараты характеризуются эффективностью, высоким профилем безопасности, не вызывают привыкания, избыточной стимуляции и истощения иммунной системы.

Л И Т Е Р А Т У Р А ( п п . 3, 12, 14-15, 17, 19-22, 25, 28-29, 31-32, 34-35, 37-38 см .  
R E F E R E N C E S )

5. Акимкин В.Г., Попова А.Ю., Хафизов К.Ф., Дубоделов Д.В., Углева С.В., Семенов Т.А. и др. COVID-19: эволюция пандемии в России. Сообщение II: динамика циркуляции геновариантов вируса SARS-CoV-2. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммуно-

- биологии. 2022; 99(4): 381–396. DOI: 10.36233/0372-9311-295
6. Никифоров В.В., Суранова Т.Г., Бондаренко Н.Л., Полежаева Н.А., Бурцева Е.И., Миронов А.Ю. и др. Грипп и другие ОРВИ в период продолжающейся пандемии COVID-19: профилактика и лечение: Методические рекомендации предназначены для врачей-терапевтов, врачей общей практики, врачей скорой медицинской помощи, врачей-инфекционистов, врачей-эпидемиологов, ординаторов, студентов медицинских вузов. М.: Издательство «Спецкнига», 2022. 56 с.
7. Никифоров В.В., Суранова Т.Г., Полежаева Н.А., Миронов А.Ю., Бурцева Е.И., Бондаренко Н.Л. и др. Грипп и другие ОРВИ в постпандемический период. Вакцинопрофилактика и лечение: Пособие для врачей. М.: Издательство «Спецкнига», 2023. 65 с.
8. Хайтович А.Б., Ткач В.В., Ткач А.В. Специфические лабораторные методы в диагностике инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2. Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. 2021;11(2): 88-105. DOI: 10.37279/2224-6444-2021-11-2-88-105
9. Никифоров В.В., Суранова Т.Г., Миронов А.Ю., Забозлаев Ф.Г. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19): этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика: Учебно-методическое пособие. М.: Академия постдипломного образования ФГБУ «ФНКЦ ФМБА России», 2020. 48 с.
10. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Временные методические рекомендации. Версия 26.10.23г.: утв. заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации А.Н. Плутичкиным. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2023. 250 с.
11. Понежева Ж.Б., Турапова А.Н., Маржохова А.Р., Яцышина С.Б., Хлыповка Ю.Н., Плоскирева А.А. Дифференциальная диагностика острых респираторных инфекций в условиях смешанной циркуляции. Лечащий Врач. 2023;4 (26): 57-63. DOI: 10.51793/OS.2023.26.4.008
13. Васильева Г.И., Иванова И.А., Тюкавкина С.Ю. Цитокины - общая система гомеостатической регуляции клеточных функций. Цитология. 2001; 43(12): 1101-1111. PMID: 11881147.
16. Тюкавкина С.Ю. Роль апоптоза в формировании иммунопатологических процессов, способствующих развитию инфекционных заболеваний. Иммунология. 2013; 34(1): 52-57
18. Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н. Теоретические и прикладные аспекты системы интерферонов: к 60-летию открытия интерферонов. Вопросы вирусологии. 2018;63(1):10-18. DOI: 10.18821/0507-4088-2018-63-1-10-18
23. Милованов А.П., Фокина Т.В. Определяющее значение конституциональных интерферонов в онтогенезе человека и животных. Архив патологии. 2018;80(6):68-72. DOI: 10.17116/0507-4088-2018-80-6-68-72
24. Кудрявцев И.В., Борисов А.Г., Васильева Е.В., Кробицев И.И., Савченко А.А., Серебрякова М.К. и др. Фенотипическая характеристика цитотоксических Т-лимфоцитов: регуляторные и эффекторные молекулы. Медицинская иммунология. 2018; 20(2):227-240. DOI: 10.15789/1563-0625-2018-2-227-240
26. Болевич С.Б., Болевич С.С. Комплексный механизм развития COVID-19. Сеченовский вестник. 2020;11(2):50–61. DOI: 10.47093/2218-7332.2020.11.2.50-61
27. Костинов М.П., Харсеева Г.Г., Тюкавкина С.Ю. Вакцинация людей с хронической патологией (материал для подготовки лекции). Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2021; 10(2): 99-108. DOI: 10.33029/2305-3496-2021-10-2-99-108.
30. Топтыгина А.П., Афридонова З.Э., Закиров Р.Ш., Семикина Е.Л. Поддержание иммунологической памяти к вирусу SARS-CoV-2 в условиях пандемии. Инфекция и иммунитет. 2023; 13(1): 55–66. DOI: 10.15789/2220-7619-MIM-2009
33. Осидак Л.В., Афанасьева О.И., Головачева Е.Г., Гончар В.В., Писарева М.М., Дондурей Е.А. и др. Рекомбинантный интерферон  $\alpha$ -2b в терапии и профилактике ОРВИ. Фарматека. 2020;27(1): 80–89. DOI: 10.18565/pharmateca.2020.1.80-91
36. Мясников А.Л., Бернс С.А., Талызин П.А., Ершов Ф.И. Интерферон-гамма в терапии пациентов с COVID-19 среднетяжелого течения. Вопросы вирусологии. 2021;66(1): 47–54. DOI: 10.36233/0507-4088-24
39. Костинов М.П., Лукачев И.В., Мещерякова А.К., Дмитриева Е.В., Ахматова Н.К., Хромова Е.А. и др. Индукция эффекторов врожденного и адаптивного иммунитета в процессе лечения топической формой рекомбинантного интерферона- $\alpha$ 2b при респираторных

инфекциях у беременных. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2017;2: 38–45. DOI: 10.36233/0372-9311-2017-2-38-45

40. Васильева Т.П., Чумаков А.С. Гриппферон: от экспериментальных исследований до практического использования. Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2013;2:124–131.
41. Мильянкova И.Е., Клевно Н.И., Аксенова В.А., Казаков А.В. Эффективность препарата Гриппферон® в профилактике и лечении острых респираторных вирусных инфекций у детей, больных туберкулезом. Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2017; 1: 65-69.
42. Краснов В.В. Эффективность рекомбинантного интерферона-альфа в лечении и профилактике ОРВИ. Вопросы практической педиатрии. 2016;11(4):44–52.
43. Кушнарева М.В., Виноградова Т.В., Кешишян Е.С., Парфенов В.В., Кольцов В.Д., Брагина Г.С. и др. Особенности иммунного статуса и системы интерферонов у детей раннего возраста. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2016;61(3): 12–21. DOI: 10.21508/1027-4065-2016-61-3-12-21
44. Феклисова Л.В., Горелов А.В., Дринеvский В.П., Плоскирева А.А., Целипанова Е.В., Швец Е.Ю. и др. Роль препаратов интерферона в терапии ОРВИ у детей грудного и раннего детского возраста (результаты многоцентрового сравнительного рандомизированного клинического исследования). Педиатрическая фармакология. 2011;8(5): 33–42.
45. Афанасьева О.И., Головачева Е.Г., Осидак Л.В., Тимонина В.С., Гончар В.В., Образцова Е.В. и др. Показатели цитокинового статуса у детей с ОРВИ на фоне терапии интраназальными препаратами интерферона. Детские инфекции. 2021;20(4):6–12. DOI:10.22627/2072-8107-2021-20-4-6-12
46. Романовская А.В., Малогина Т.Н., Михайлова Е.В., Малинина Н.В., Железников П.А., Чудакова Т.К. и др. Особенности течения новой коронавирусной инфекции и эффективность использования интраназального интерферона альфа у беременных с COVID-19 и новорожденных с перинатальным контактом. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2021;20(6): 65–71. DOI: 10.20953/1726-1678-2021-6-65-71.
47. Фельдблюм И.В., Девятков М.Ю., Гендлер А.А., Мальцева С.М., Репин Т.М., Николенко В.Н. Эффективность рекомбинантного интерферона альфа-2b при интраназальном применении для экстренной профилактики COVID-19 у медицинских работников. Инфекционные болезни. 2021; 19(1): 26–32. DOI: 10.20953/1729-9225-2021-1-26-32.
48. Хлынина Ю.О., Арова А.А., Невинский А.Б. Применение интерферона альфа-2b для профилактики новой коронавирусной инфекции у медицинских работников. Инфекционные болезни. 2021;19(2):65–69. DOI:10.20953/1729-9225-2021-2-65-69.
49. Костинов М.П., Свитич О.А., Маркелова Е.В. Потенциальная иммунопрофилактика COVID-19 у групп высокого риска инфицирования: Временное пособие для врачей. М.: МДВ, 2020. 64 с.
5. Akimkin V.G., Popova A.Yu., Khafizov K.F., Dubodelov D.V., Ugleva S.V., Semenenko T.A. et al. COVID-19: evolution of the pandemic in Russia. Report II: dynamics of the circulation of SARS-CoV-2 genetic variants. Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii. 2022; 99(4): 381–396. DOI: 10.36233/0372-9311-295. (In Russian)
6. Nikiforov V.V., Suranova T.G., Bondarenko N.L., Polezhaeva N.A., Burtseva E.I., Mironov A.YU. et al. Influenza and other acute respiratory infections during the ongoing COVID-19 pandemic: prevention and treatment: Methodological recommendations are intended for internists, general practitioners, emergency physicians, infectious disease doctors, epidemiologists, residents, students of medical universities. Moscow: Publishing house "Spetskniga", 2022. 56 p. (In Russian)
7. Nikiforov V.V., Suranova T.G., Polezhaeva N.A., Mironov A.YU., Burtseva E.I., Bondarenko N.L. et al. Influenza and other acute respiratory infections in the post-pandemic period. Vaccination and treatment: A guide for doctors. Moscow: Publishing house "Spetskniga", 2023. 65 p. (In Russian)
8. Khaitovich A.B., Tkach V.V., Tkach A.V. Specific laboratory methods in diagnostics of infection caused by the SARS-COV-2 virus. Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine. 2021;11(2): 88-105. DOI: 10.37279/2224-6444-2021-11-2-88-105. (In Russian)
9. Nikiforov V.V., Suranova T.G., Mironov A.YU., Zabozaev F.G. New coronavirus infection (COVID-19): etiology, epidemiology, clinic, diagnosis, treatment and prevention. Educational and methodical manual. M.: FMBA Academy of Graduate Education, 2020. 48 p. (In Russian)
10. Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID-19). Temporary methodological recommendations. Version 26.10.23: approved by the Deputy Minister of Health of the Russian Federation A.N. Plutnitsky. M.: Ministry of Health of the Russian Federation; 2023. 250 p.
11. Ponezheva Zh.B., Turapova A.N., Marzhokhova A.R., Yatsyshina S.B., Khlypovka Yu.N., Ploskireva A.A. Differential diagnosis of acute respiratory infections in mixed circulation. Lechaschi Vrach. 2023; 4 (26): 57-63. DOI: 10.51793/OS.2023.26.4.008. (In Russian)
12. Arons M.M., Hatfield K.M., Reddy S.C., Kimball A., James A., Jacobs J.R. et al. Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility. New England Journal of Medicine. 2020;382(22): 2081-2090. DOI: 10.1056/NEJMoa2008457
13. Vasilieva G.I., Ivanova I.A., Tyukavkina S.Yu. Cytokines as a general system of homeostatic regulation of cell functions. Tsitologiya. 2001; 43(12): 1101-1111. PMID: 11881147. (In Russian)
14. Wan Y., Shang J., Graham R., Baric R.S., Li F. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: an Analysis based on decade-long structural studies of SARS. J Virol. 2020;94(7): e00127–20. DOI: 10.1128/JVI.00127-20 PMID: 31996437
15. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S. et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. Cell. 2020; 181(2):271–280.e8. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.052
16. Tyukavkina S.U. Role of apoptosis in the formation of the immunopathologic processes that help to the development of infection diseases. Immunologiya. 2013; 34(1): 52-57. (In Russian)
17. Akdis M., Aab A., Altunbulakli C., Azkur K., Costa R.A., Cramer R. et al. Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor b, and TNF-a: receptors, functions, and roles in diseases. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2016;138(4): 984–1010. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.06.033
18. Ershov F.I., Narovlyansky A.N. Theoretical and applied aspects of the interferon system: to the 60th. Anniversary of the discovery of interferons. Questions of virology. 2018;63(1):10-18 DOI: 10.18821/0507-4088-2018-63-1-10-18. (In Russian)
19. Bedsaul J.R., Zaritsky L.A., Zoon K.C. Type I interferon-mediated induction of antiviral genes and proteins fails to protect cells from the cytopathic effects of sendai virus infection. J. Interferon Cytokine Res. 2016; 36(11): 652–65. DOI: 10.1089/jir.2016.0051
20. Alspach E., Lussier D.M., Schreiber R.D. Interferon  $\gamma$  and its important roles in promoting and inhibiting spontaneous and therapeutic cancer immunity. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 2019; 11(3): a028480. – DOI 10.1101/cshperspect.a028480
21. Park A., Iwasaki A. Type I and type III interferons – induction, signaling, evasion, and application to combat COVID-19. Cell Host & Microbe. 2020; 27(6): 870–878. DOI: 10.1016/j.chom.2020.05.008

## REFERENCES

1. Garafutdinov R.R., Mavzyutov A.R., Nikonov Yu.M., Chubukova O.V., Matniyazov R.T., Baymiev An.Kh. et al. Betacoronavirus SARS-CoV-2, its genome, variety of genotypes and molecular-biological approaches to combat it. Biomcs. 2020; 12(2): 242-271. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-15. (In Russian)
2. Statement on the fifteenth meeting of the IHR (2005) Emergency Committee on the COVID-19 pandemic. WHO, Geneva May 5th 2023. Available at: [https://www.who.int/ru/news/item/05-05-2023-statement-on-the-fifteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-\(covid-19\)-pandemic](https://www.who.int/ru/news/item/05-05-2023-statement-on-the-fifteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-(covid-19)-pandemic)
3. Giron C.C., Laaksonen A., Barroso da Silva F.L. Differences between Omicron SARS-CoV-2 RBD and other variants in their ability to interact with cell receptors and monoclonal antibodies. Biomol.Struct.Dyn. 2023; 41(12): 5707-5727. DOI: 10.1080/07391102.2022.2095305
4. Feldblum I.V., Devyatkov M.Y., Repin T.M., Subbotina K.A., Voldshmidt N.B., Shutova T.V. Variability of the SARS-CoV-2 Virus and the Susceptibility of the Population in the Dynamics of the Development of the Epidemic Process. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2023;22(5): 4-11. DOI: 10.31631/2073-3046-2023-22-5-4-11. (In Russian)

22. Madonov P.G., Sviatchenko V.A., Legostaev S.S., Kikhtenko N.A., Kotlyarova A.A., Oleinik L.A. et al. Evaluation of the antiviral activity of human recombinant interferon Lambda-1 against SARS-CoV-2. *Bull Exp Biol Med.* 2021;172(1):53-56. DOI: 10.1007/s10517-021-05330-0
23. Milovanov A.P., Fokina T.V. The decisive importance of constitutional interferons in human and animal ontogenesis. *Arkhiv Patologii.* 2018;80(6):68-72 DOI:10.17116/ptol20188006168. (In Russian)
24. Kudryavtsev I.V., Borisov A.G., Vasilyeva E.V., Krobins I.I., Savchenko A.A., Serebriakova M.K. et al. Phenotypic characterisation of peripheral blood cytotoxic T lymphocytes: regulatory and effector molecules. *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya.* 2018; 20(2):227-240. DOI: 10.15789/1563-0625-2018-2-227-240. (In Russian)
25. Li G., Fan Y., Lai Y., Han T., Li Z., Zhou P. et al. Coronavirus infections and immune responses. *J Med Virol.* 2020;92(4):424-32. DOI: 10.1002/jmv.25685.
26. Bolevich S.B., Bolevich S.S. Complex mechanism of COVID-19 development. *Sechenov Medical Journal.* 2020;11(2):50-61. DOI: 10.47093/2218-7332.2020.11.2.50-61. (In Russian)
27. Kostinov M.P., Kharseeva G.G., Tyukavkina S.Y. Vaccination of people with chronic pathology (material for preparing the lecture). *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie [Infectious Diseases: News, Opinions, Training].* 2021; 10(2): 99-108. DOI: 10.33029/2305-3496-2021-10-2-99-108. (In Russian)
28. Hadjadj J., Yatim N., Barnabei L., Corneau A., Boussier J., Smith N. et al. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science.* 2020; 369(6504): 718-724. DOI: 10.1126/science.abc6027
29. Fung S.Y., Yuen K.S., Ye Z.W., Chan C.P., Jin D.Y. A tug-of-war between severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 and host antiviral defence: lessons from other pathogenic viruses. *Emerg Microbes Infect.* 2020; 9(1): 558-570. DOI: 10.1080/22221751.2020.1736644
30. Toptygina A.P., Afridonova Z.E., Zakirov R.Sh., Semikina E.L. Maintaining immunological memory to the SARS-CoV-2 virus during COVID-19 pandemic. *Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet.* 2023; 13(1): 55-66. DOI: 10.15789/2220-7619-MIM-2009. (In Russian)
31. Marsili G., Perrotti E., Remoli A.L., Acchioni Ch., Sgarbanti M., Battistini A. IFN Regulatory Factors and Antiviral Innate Immunity: How Viruses Can Get Better. *J. Interferon Cytokine Res.* 2016; 36(7): 414-432. DOI: 10.1089/jir.2016.0002
32. Khorramdelazad H., Kazemi M.H., Azimi M., Aghamajidi A., Mehrabadi A.Z., Shahba F. et al. Type-I interferons in the immunopathogenesis and treatment of Coronavirus disease 2019. *Eur J Pharmacol.* 2022;927: 175051. DOI: 10.1016/j.ejphar.2022.175051
33. Osidak L.V., Afanasyeva O.I., Golovacheva E.G., Gonchar V.V., Pisareva M.M., Dondurey E.A., Obratsova E.V., Rozhkova E.G., Galkina S.N., Goncharova E.S. Recombinant interferon a-2b (Grippferon) in the treatment and prevention of acute respiratory viral infections. *Pharmateca.* 2020;27(1): 80-89. DOI: 10.18565/pharmateca.2020.1.80-91. (In Russian)
34. Baden L.R., Rubin E.J. COVID-19 – The Search for Effective Therapy. *N Engl J Med.* 2020; 382: 1851-2. DOI: 10.1056/NEJMe2005477
35. Wang N., Zhan Y., Zhu L., Hou Z., Liu F., Song P. et al. Retrospective multicenter cohort study shows early interferon therapy is associated with favorable clinical responses in COVID-19 patients. *Cell Host Microbe.* 2020;28(3): 455-464.e2. DOI: 10.1016/j.chom.2020.07.005
36. Myasnikov A.L., Berns S.A., Talyzin P.A., Ershov F.I. Interferon gamma in the treatment of patients with moderate COVID-19. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii).* 2021; 66(1): 47-54 (In Russ.). DOI: https://doi.org/10.36233/0507-4088-24. (In Russian)
37. Mosaddeghi P., Shahabinezhad F., Dehghani Z., Farahmandnejad M., Moghadami M., Nezafat N. et al. Therapeutic approaches for COVID-19 Based on the interferon-mediated immune responses. *Current Signal Transduction Therapy.* 2021;16:1. DOI: 10.2174/1574362416666210120104636
38. Pandit A., Bhalani N., Bhushan B.S., Koradia P., Gargiya S., Bhomia V. et al. Efficacy and safety of pegylated interferon alfa-2b in moderate COVID-19: A phase II, randomized, controlled, open-label study. *Int J Infect Dis.* 2021;105: 516-21. DOI: 10.1016/j.ijid.2021.03.015
39. Kostinov M.P., Lukachev I.V., Meshcheryakova A.K., Dmitrieva E.V., Akhmatova N.K., Khromova E.A. et al. Induction of effectors of innate and adaptive immunity in the process of therapy of topic form of recombinant interferon-a2b during respiratory infections in pregnant. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2017; (2): 38-45. DOI: 10.36233/0372-9311-2017-2-38-45. (in Russian)
40. Vasilyeva T.P., Chumakov A.S. Grippferon: from pilot studies to practical use. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie [Infectious Diseases: News, Opinions, Training].* 2013;2: 124-131. (in Russian)
41. Milyankova I.E., Klevno N.I., Aksenov V.A., Kazakov A.V. Efficacy of the medication Grippferon® for the prevention and treatment of acute respiratory viral infections in children with tuberculosis. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie [Infectious Diseases: News, Opinions, Training].* 2017; 1: 65-69.
42. Krasnov V.V. The efficacy of recombinant interferon-alpha in the treatment and prevention of ARVI. *Vopr. prakt. pediatri. (Clinical Practice in Pediatrics).* 2016; 11(4): 44-52. DOI: 10.20953/1817-7646-2016-4-44-52
43. Kushnareva M.V., Vinogradova T.V., Keshishian E.S., Parfenov V.V., Koltsov V.D., Bragina G.S. et al. Specific features of the immune status and interferon system of infants. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics).* 2016;61(3): 12-21. DOI: 10.21508/1027-4065-2016-61-3-12-21. (In Russian)
44. Feklisova L.V., Gorelov A.V., Drinevskiy V.P., Ploskireva A.A., Tselipanova E.V., Shvets E.J. et al. The role of interferon preparations in the treatment of acute viral respiratory infections in infants, babies and toddlers (results of a multicenter comparative randomized clinical trial). *Pediatric Pharmacology.* 2011;8(5): 33-42. (In Russian)
45. Afanasyeva O.I., Golovacheva E.G., Osidak L.V., Timonina V.S., Gonchar V.V., Obratsova E.V. et al. Cytokine status indicators in children with acute respiratory viral infections after treatment with intranasal interferon-based medicine. *Detskii Infektsii=Children's Infections.* 2021; 20(4):6-12. DOI: 10.22627/2072-8107-2021-20-4-6-1. (In Russian)
46. Romanovskaya A.V., Malyugina T.N., Mikhaylova E.V., Malinina N.V., Zheleznikov P.A., Chudakova T.K. et al. Clinical characteristics of novel coronavirus infection and efficacy of intranasal interferon alpha in pregnant women with COVID-19 and in newborns with perinatal exposure. *Vopr. ginekol. akus. perinatol. (Gynecology, Obstetrics and Perinatology).* 2021; 20(6): 65-71. DOI: 10.20953/1726-1678-2021-6-65-71. (In Russian)
47. Feldblum I.V., Devyatkov M.Yu., Gendler A.A., Maltseva S.M., Repin T.M., Nikolenko V.N. The efficacy of intranasal recombinant interferon alpha-2b for emergency prevention of COVID-19 in healthcare workers. *Infekc. bolezni (Infectious diseases).* 2021;19(1): 26-32. DOI: 10.20953/1729-9225-2021-1-26-32. (In Russian)
48. Khlynina Yu.O., Arova A.A., Nevinsky A.B. The use of interferon alpha-2b for prevention of novel coronavirus infection in healthcare workers. *Infekc. bolezni (Infectious diseases).* 2021;119(2): 65-69. DOI: 10.20953/1729-9225-2021-2-65-69. (In Russian)
49. Kostinov M.P., Svitich O.A., Markelova E.V. Potential immunoprophylaxis of COVID-19 in high-risk groups of infection: A temporary guide for doctors. *M.: MDV, 2020. 64 p. (In Russian)*



## МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Поспелова Ю.С.<sup>1</sup>, Каримова Н.В.<sup>1</sup>, Кузнецова М.В.<sup>2</sup>

### ВИРУЛЕНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ И ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ У ВЗРОСЛЫХ

<sup>1</sup>ООО «Централизованная клиничко-диагностическая лаборатория», 614025, Пермь, Россия;

<sup>2</sup>«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, 614081, Пермь, Россия

Разнообразие факторов вирулентности делает представителей патотипа уропатогенной *Escherichia coli* (UPEC) чрезвычайно гетерогенными с точки зрения патогенного потенциала и эпидемиологической значимости. Цель исследования - изучить распространенность детерминант вирулентности у штаммов *E. coli*, выделенных от пациентов с инфекциями мочевыводящих путей, во внутрибольничных ( $n=76$ ) и внебольничных ( $n=33$ ) условиях, оценить связь патогенного потенциала с филогруппой и антибиотикочувствительностью. Методом ПЦР штаммы проанализированы на присутствие 15 генов патогенности, кодирующих адгезины, инвазины, белки наружной мембраны (*fimH*, *papC*, *sfaDE*, *afa/draBC*, *ibeA*, *yqi*, *upaG*, *flu*, *iha*, *ompT*), токсины (*cnf1*, *hlyA*, *usp*) и факторы устойчивости к системам защиты организма (*kpsMTII*, *iroN*). Ряд генов, ассоциированных с вирулентностью (*fimH*, *papC*, *flu*, *iha*, *kpsMTII*), широко распространены в обеих группах UPEC, а множественные гены вирулентности (5 и более) несли 55,3% нозокомиальных и 45,5% штаммов из амбулаторий. Среди нозокомиальных культур чаще, чем в культурах от пациентов с внебольничными инфекциями, встречались гены *yqi*, *ibeA*, *usp*. Нозокомиальные культуры в 78,9% случаев принадлежали к филогруппе B2, а «поликлинические» – только в 36,4%. Не было различий между двумя группами по частоте встречаемости продуцентов бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС). У нозокомиальных «циркулирующих» UPEC чаще, чем в группе «индивидуальных», детектировали гены *fimH*, *afa/DraBC*, *usp*, *cnf1*, обнаруживались штаммы, продуцирующие БЛРС, а принадлежность к филогруппе B2 была 100%. В отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) 80% штаммов были носителями множественных генов вирулентности и продуцировали БЛРС. По сравнению с отделениями хирургии и терапии в отделениях ОРИТ штаммы с генотипом *usp<sup>+</sup>*, *yqi<sup>+</sup>*, *iha<sup>+</sup>* обнаруживались чаще.

**Ключевые слова:** уропатогенная *Escherichia coli* (UPEC); нозокомиальная и внегоспитальная инфекции; гены, ассоциированные с вирулентностью; филогруппа B2; бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС)

**Для цитирования:** Поспелова Ю.С., Каримова Н.В., Кузнецова М.В. Вирулентный потенциал штаммов *Escherichia coli*, выделенных при нозокомиальных и внебольничных инфекциях мочевыводящих путей у взрослых. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (9): 468-477.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-9-468-477>

**Для корреспонденции:** Кузнецова Марина Валентиновна, д-р мед. наук, доцент, вед. науч. сотр. лаборатории молекулярной биотехнологии; e-mail: [mar@iegm.ru](mailto:mar@iegm.ru), [mar19719@yandex.ru](mailto:mar19719@yandex.ru)

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания №124020500028-4.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 09.06.2024  
Принята к печати 26.06.2024  
Опубликовано 00.09.2024

*Pospelova J.S.<sup>1</sup>, Karimova N.V.<sup>1</sup>, Kuznetsova M.V.<sup>2</sup>*

### VIRULENCE POTENTIAL OF *ESCHERICHIA COLI* STRAINS ISOLATED FROM NOSOCOMIAL AND COMMUNITY HOSPITAL URINARY TRACT INFECTIONS IN ADULTS

<sup>1</sup>Centralized Clinical Diagnostic Laboratory LLC, Perm, Russia

<sup>2</sup>Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms Ural Branch Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

*Because of the diversity of virulence factors members of the uropathogenic *E. coli* (UPEC) pathotype are extremely heterogeneous in terms of pathogenic potential and epidemiological significance. The purpose of the study was to investigate the prevalence of virulence determinants of *E. coli* strains isolated from patients with urinary tract infections in nosocomial ( $n=76$ ) and community-acquired ( $n=33$ ) conditions and to assess the relationship of pathogenic potential with phylogroup and antibiotic sensitivity. We used PCR to check if the bacteria had 15 virulent genes. These genes code adhesins, invasins and outer membrane proteins (*fimH*, *papC*, *sfaDE*, *afa/draBC*, *ibeA*, *yqi*, *upaG*, *flu*, *iha*, *ompT*), toxins (*cnf1*, *hlyA*, *usp*) and factors of resistance to macroorganism defence systems (*kpsMTII*, *iroN*). Several virulent-associated genes (*fimH*, *papC*, *flu*, *iha*, *kpsMTII*) were prevalent in both UPEC groups*

and multiple virulent genes (5 or more) were found in 55.3% of nosocomial and 45.5% of outpatient strains. However, the *yqi*, *ibeA* and *usp* genes were found more often among nosocomial cultures than in cultures from patients with community-acquired infections. Nosocomial cultures in 78.9% of cases belonged to phylogroup B2 but "out hospital" cultures only in 36.4%. Interestingly, there were no differences between the two groups of cultures in the incidence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producers. In the group of nosocomial "circulating" UPECs more often than in the "individual" group genes *fimH*, *afa/DraBC*, *usp* and *cnf1* were detected also "circulating" strains more often were producers ESBLs and in 100% were members of phylogroup B2. In intensive care units (ICU) 80% of strains carried multiple virulence genes and produced ESBLs. In the ICU departments strains with the *usp*<sup>+</sup>, *yqi*<sup>+</sup> and *iha*<sup>+</sup> genotypes were detected more often compared to the departments of surgery and therapy.

**Key words:** uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC); nosocomial and community-acquired infections, genes associated with virulence, phylogroup B2, extended spectrum beta-lactamases (ESBLs)

**For citation:** Pospelova J.S., Karimova N.V., Kuznetsova M.V. Virulence potential of *Escherichia coli* strains isolated from nosocomial and community hospital urinary tract infections in adults. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (9): 468-477 (in Russ.).  
DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-9-468-477>

**For correspondence:** Kuznetsova M.V., Dr. Sci. Med., Lead researcher of the laboratory of molecular biotechnology of the Institute of Ecology and Genetic of Microorganisms Ural Branch Russian Academy of Sciences; e-mail: [mar@iegm.ru](mailto:mar@iegm.ru), [mar19719@yandex.ru](mailto:mar19719@yandex.ru)

**Information about authors:**

Pospelova J.S., <https://orcid.org/0000-0001-9625-1151>;

Kuznetsova M.V., <https://orcid.org/0000-0003-2448-4823>.

**Acknowledgment.** This work was fulfilled under the State assignment №124020500028-4.

**Conflict of interests.** The authors declare absence of conflict of interests.

Received 09.06.2024

Accepted 26.06.2024

Published 00.09.2024

Уропатогенные штаммы *Escherichia coli* (UPEC) являются причиной практически 50% внутрибольничных и до 90% внебольничных инфекций мочевыводящих путей (ИМВП) [1]. Согласно современной классификации, UPEC относят к группе экстраинтестинальных *E. coli* (ExPEC), способных вызывать заболевания вне кишечного тракта. Они часто представлены в кишечной микрофлоре многих здоровых людей, где сосуществуют с комменсальными *E. coli* [2]. При определенных условиях UPEC, обладающие различными факторами, которые патогенетически значимы в мочевыделительных путях, становятся причиной ИМВП. Специфические адгезины, токсины, сидерофоры, защитные полисахаридные капсулы, инвазины, белки, способствующие устойчивости к сыворотке крови, опосредуют у штаммов UPEC транслокацию, прикрепление, колонизацию и инвазию в биотопах хозяина [3]. Разнообразие факторов вирулентности делает представителей патотипа UPEC чрезвычайно гетерогенными с точки зрения патогенного потенциала, который реализуется при развитии инфекционного процесса.

ИМВП различаются по локализации (инфекции верхних и нижних мочевых путей), клинической картине (от бессимптомных и легких до тяжелых форм) длительности и течению заболевания (от острых до хронических), что обусловлено различными причинами, связанными как с биологическими особенностями возбудителя, так и с состоянием организма и условиями возникновения инфекции. В стационарах хирургического профиля иммунокомпрометированным пациентам выполняют инвазивные процедуры, катетеризацию мочевого пузыря, что способствует развитию урологических осложнений, в том числе, вызванных внутрибольничными полирезистентными штаммами. Одной из основных причин этого является формирование микробных биопленок на клетках эндотелия или поверхностях инородных тел (катетеры, камни). Существует мнение, что пациенты стационаров чаще

подвергаются риску развития инфекционного процесса штаммами *E. coli*, которые не относятся к «типичным» UPEC по филогенетической принадлежности и набору факторов патогенности [1]. Большинство амбулаторных пациентов имеют неосложненные нозологические формы ИМВП, вызванные эшерихиями с выраженным уропатогенным потенциалом [4, 5]. В последние годы количество нечувствительных к антимикробным препаратам (АМП), в том числе, к цефалоспорином, штаммов *E. coli*, опосредующих внебольничные ИМВП, увеличилось [5 - 7]. При этом лечение пациентов с внебольничными заболеваниями мочевыводящих путей в большинстве случаев проводится эмпирически и не включает выделение возбудителя из мочи для определения антибиотикоустойчивости или получения детальной молекулярной характеристики изолята.

Устойчивость к основным группам АМП, высокая частота горизонтального переноса генов вирулентности и антибиотикоустойчивости, наличие природных резервуаров (животные, птицы), возможность циркуляции штаммов *E. coli*, в первую очередь, в нозокомиальных условиях определяют их эпидемическую значимость. Для эффективной профилактики и контроля внутрибольничных и внебольничных ИМВП, вызванных *E. coli*, важно знать популяционную структуру возбудителя и понимать причины ее изменений. Ранее нами изучены филогенетическое разнообразие и фенотипические свойства UPEC, выделенных при ИМВП у пациентов различных медицинских организаций. Показано, что нозокомиальные и внегоспитальные изоляты существенно различались по частоте встречаемости представителей различных филогрупп. Гемолитическая и биопленкообразующая способности штаммов UPEC сходны в двух группах, и в той или иной степени биопленки формировали более 60% культур филогруппы B2, но у пациентов стационара гемолитические *E. coli* филогруппы B2 встречались достоверно чаще, чем в поликлинике. Отмечено снижение чувствитель-

ности к ципрофлоксацину и бета-лактамам АМП у UPEC, изолированных вне стационара, что характеризует сближение их фенотипа резистентности с нозокомиальными культурами.

Цель исследования – изучить распространенность детерминант вирулентности у штаммов *E. coli*, выделенных от пациентов с внутрибольничными и внебольничными инфекциями мочевыводящих путей, оценить связь патогенного потенциала с филогруппой и антибиотикочувствительностью.

**Материал и методы.** Объектами изучения служили клинические штаммы *E. coli* ( $n=76$ ), изолированные из материала (моча, катетеры) пациентов с ИМВП, находившихся на стационарном (9 медицинских организаций, 13 отделений) лечении в г. Перми в 2017 г., культуры ( $n=33$ ), выделенные из мочи пациентов, проходивших лечение в амбулаторных условиях (3 медицинских организации) за тот же период [8]. Для оценки распространенности детерминант вирулентности среди нозокомиальных культур анализировали все штам-

мы с индивидуальным генотипом ( $n=63$ ), и по одному представителю каждой геномгруппы ( $n=13$ ) «циркулирующих» UPEC, определенных в гер-ПЦР.

Штаммы *E. coli* проанализированы методом ПЦР по конечной точке на присутствие пятнадцати генов патогенности, кодирующих адгезины, инвазины, белки наружной мембраны (*fimH*, *papC*, *sfaDE*, *afa/draBC*, *ibeA*, *yqi*, *upaG*, *flu*, *iha*, *ompT*), токсины (*cnf1*, *hlyA*, *usp*), факторы устойчивости к системам защиты организма (*kpsMTII*, *iroN*). Детекцию генов вирулентности проводили с использованием праймеров и режимов амплификации, согласно рекомендациям авторов (табл. 1). Амплификацию ДНК выполняли с реагентами производства ООО «Синтол» (Россия) на термоциклере DNA Engine Dyad (Bio-Rad, США) в 25 мкл реакционной смеси. Олигонуклеотидные праймеры синтезированы ООО «Синтол» (Россия). Визуализацию полос и документирование данных осуществляли с помощью системы гель-документации Gel-Doc XR («Bio-Rad», США).

Таблица 1

Праймеры для детекции ряда генов в штаммах *E. coli*

Ген	Праймер	Нуклеотидная последовательность	п.н.	Источник
<i>fimH</i>	FimH1	CAGCGATGATTTCCAGTTTGTGTG	461	Guiral <i>et al.</i> , 2011
	FimH2	TGCGTACCAGCATTAGCAATGTCC		
<i>papC</i>	Pap1	GTGGCAGTATGAGTAATGACCGTTA	200	Yamamoto
	Pap2	ATATCCTTTCTGCAGGGATGCAATA		
<i>sfaDE</i>	SFA-1	CTCCGGAGAACTGGGTGCATCTTAC	410	<i>et al.</i> , 1995
	SFA-2	CGGAGGAGTAATTACAAACCTGGCA		
<i>afa/draBC</i>	afa/draBC-f	GCCAGAGGGCCGGCAACAGGC	592	Johnson, Stell, 2000
	afa/draBC-r	CCGTAACGCGCCAGCATCTC		
<i>ibeA</i>	lbe10_f	AGGCAGGTGTGCGCCGCGTAC	170	Johnson, Stell, 2000
	lbeA_r	TGGTGTCTCCGGCAAACCATGC		
<i>yqi</i>	IMT-P2512	ATGCAATGGCAGTACCCTTC	400	Antão <i>et al.</i> , 2009
	IMT-P2513	CTGGTGGCAACATCAAATTG		
<i>upaG</i>	upaG-F	GATAGGCAAGGACGCAAGA	1218	O'Hara <i>et al.</i> , 2019
	upaG-R	GGTCGCAATATCCGTAGT		
<i>flu</i>	flu-F	GGGTAAAGCTGATAATGTCTG	508	Ulett <i>et al.</i> , 2007
	flu-R	GTTGCTGACAGTGAGTGTGC		
<i>iha</i>	IHA-F	CTGGCGGAGGCTCTGAGATCA	827	Chapman <i>et al.</i> , 2006
	IHA-R	TCCTTAAGCTCCCGCGGCTGA		
<i>ompT</i>	ompT-F	TCATCCCAGGAAAGCCTCCCTCACTACTAT	496	Subedi <i>et al.</i> , 2018
	ompT-R	TAGCGTTTGTCTGCACTGGCTTCTGATAC		
<i>cnf1</i>	CNF1-1	CTGACTTGCCGTGGTTTAGTCCG	1295	Kuhar <i>et al.</i> , 1998
	CNF1-2	TACACTATTGACATGCTGCCCGGA		
<i>hlyA</i>	hlyA1	GTCTGCAAAGCAATCCGCTGCAAATAAAA	561	Kerényi <i>et al.</i> , 1998
	hlyA2	CTGTGTCCACGAGTTGGTTGATTA G		
<i>usp</i>	USPdeg1	ATGCTACTGTTTCCGGGTAGTSTGT	1017	Nakano <i>et al.</i> , 2001
	USPdeg2	CATCRTGTAGTCKGGGSGTAACAAT		
<i>kpsMTII</i>	kpsMT_IIf	GCGCATTTGTGATACTGTTG	270	Johnson, Stell, 2000
	kpsMT_IIr	CATCCAGACGATAAGCATGAGCA		
<i>iroN</i>	iroN f	AAGTCAAAGCAGGGGTTGCCCG	925	Johnson, Stell, 2000
	iroN r	GACGCCGACATTAAGACGCAG		

Биологические свойства – филогенетическую принадлежность, чувствительность к АМП и присутствие генов, кодирующих наиболее распространённые типы бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС), опреде-

ляли ранее.

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных пакетов компьютерных программ Microsoft Office XP Excel и STATISTICA 10.

Для выявления статистически значимых различий использовали  $\chi^2$  (с поправкой Йейтса) или точный критерий Фишера (*F*-test). Различия между группами данных считали достоверными при  $p < 0,05$ . Для оценки значимости признака вычисляли отношение шансов (OR) с определением 95% доверительного интервала.

**Результаты. Распространенность генов вирулентности среди *E. coli*, выделенных от пациентов стационара и поликлиники.** В группе нозокомиальных штаммов среди генов, кодирующих структуры, обеспечивающие адгезию бактерий на клетках уротелия, самым распространенным оказался ген фимбриального адгезина FimH, считающийся универсальным для всех групп *E. coli*, – 90,7% (табл. 2). Вторым по распространенности (60,5%) был ген *flu*, кодирующий поверхностный антиген Ag43a, обеспечивающий адгезию бактериальных клеток и играющий роль в формировании биопленки. У 39,4% изученных культур обнаружен ген *yqi*, кодирующий фимбриальный адгезин, ассоциированный с группой *E. coli*, патогенных для птиц (АРЕС). С одинаковой частотой (32,8%) встречались гены *ibeA* и *iha*, кодирующие белки-инвазины и более характерные для группы кишечных патогенных *E. coli*. Треть штаммов (30,2%) – носители Р-фимбрий (*papC*), являющихся критическими факторами вирулентности, обеспечивающими распознавание возбудителем тканей почки и прикрепление к ним в начале инфекционного процесса. Ген S-фимбрий (*sfaDE*), способствующих распространению бактерий в тканях хозяина, определен у 23,7% штаммов, 19,7% имели ген белка наружной мембраны с протеазной активностью *ompT*. Белок UраG (*uraG*), член семейства адгезинов, проявляющих родство к фибронектину и

ламинину, обеспечивающий прилипание УРЕС к эпителию мочевого пузыря и участвующий в создании биопленки на искусственных материалах, определен у 14,5% штаммов, и только 7,9% имели ген афимбриального адгезина *afa/draBC*, опосредующего маннозрезистентную гемагглютинацию и адгезию к уротелиальным клеткам. Более половины штаммов (64,5%) имели ген, ответственный за формирование капсулы II типа (*kpsMTII*). Ген *usp*, кодирующий уроспецифический протеин с функцией колицина, выявили у 44,7% штаммов. Цитотоксический некротический фактор (*cnfI*) обнаружен у 21,1%, а 18,4% культур несли ген альфа-гемолизина (*hlyA*). Ген *iroN* из группы генов системы захвата и переноса железа детектирован у 38,1% штаммов. Множественные гены вирулентности (5 и более одновременно) несли 55,3% нозокомиальных УРЕС, 1-4 гена определены у 42,1% и всего 2,6% штаммов не имели ни одного гена.

В группе штаммов, изолированных от пациентов амбулаторий, самой распространенной детерминантой адгезии был *fimH* (75,8%), следующими по частоте встречаемости оказались гены *flu* (66,7%), *iha* (39,4%), *papC* (33,3%), *sfaDE*, *afa/draBC*, *uraG*, *yqi* (по 18,2%), *ibeA* (3,0%). Из генов, косвенно обеспечивающих прикрепление бактериальных клеток на биотических и абиотических поверхностях, *kpsMTII* встречался в 64,5% штаммов, *ompT* – в 15,0%. Среди детерминант, определяющих токсическое воздействие на эукариотические клетки, чаще всего обнаруживался ген *iroN* (27,3%), далее – *cnfI* и *hlyA* (21,2%), *usp* (3,0%). Множественные гены вирулентности несли 45,5% штаммов, 1-4 гена – 48,5% и 6,1% (2 штамма) не имели ни одного гена.

Таблица 2

Факторы вирулентности *E. coli*, выделенных от пациентов стационара и поликлиники

Ген/признак	Госпитальные, %	Внегоспитальные, %	Уровень значимости, <i>p</i>
<i>fimH</i>	90,7	75,8	0,065
<i>papC</i>	30,2	33,3	0,458
<i>sfaDE</i>	23,7	18,2	0,312
<i>afa/draBC</i>	7,9	18,2	0,159
<i>ibeA</i>	<b>32,8</b>	<b>3,0</b>	<b>&lt;0,001</b>
<i>yqi</i>	<b>39,4</b>	<b>18,2</b>	<b>0,045</b>
<i>uraG</i>	14,5	18,2	0,785
<i>flu</i>	60,5	66,7	0,364
<i>iha</i>	32,8	39,4	0,396
<i>ompT</i>	19,7	15,0	0,391
<i>cnfI</i>	21,1	21,2	0,543
<i>hlyA</i>	18,4	21,2	0,476
<i>usp</i>	<b>44,7</b>	<b>3,0</b>	<b>&lt;0,001</b>
<i>kpsMTII</i>	64,5	48,5	0,118
<i>iroN</i>	38,1	27,3	0,195
5 и более генов	55,3	45,5	0,346
Фенотип БЛРС	26,3	33,3	0,456
Филогруппа B2	<b>78,9</b>	<b>36,4</b>	<b>0,021</b>

Примечание. Достоверность различий двух независимых выборок определяли с помощью критерия  $\chi^2$ ,  $\chi^2$  с поправкой Йейтса или точного критерия Фишера. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

**Сравнение вирулентного потенциала штаммов *E. coli*, выделенных от пациентов стационара**

**и поликлиники.** Сравнение в группах качественного состава генов, обеспечивающих адгезию бактери-

альных клеток на поверхности уротелия, показало, что среди нозокомиальных штаммов чаще, чем среди второй группы, встречаются гены *yqi* ( $p=0,045$ ) и *ibeA* ( $p=0,00045$ ) (табл. 2). Из других детерминант вирулентности среди нозокомиальных эшерихий значительно чаще выявляли ген *usp* ( $p<0,001$ ). В отношении количества генов, одновременно детектированных у одного штамма, нозокомиальные UPEC существенно не отличались частотой обнаружения 5 и более генов (55,3%) по сравнению со штаммами, выделенными от пациентов поликлиник (45,5%). Нозокомиальные культуры в 78,9% случаев принадлежали к филогруппе B2, «поликлинические» – только в 36,4% ( $p=0,021$ ). Между двумя группами не было различий по распространенности

БЛРС-продуцирующих штаммов.

**Связь генов вирулентности с филогруппой *E. coli*.** Анализ факторов вирулентности, связанных с адгезией бактерий, показал, что частота встречаемости генов *fimH* и *yqi* статистически достоверно отличалась у нозокомиальных штаммов, принадлежащих к филогенетической группе B2, подобная связь определена для гена *usp* (табл. 3). Нозокомиальные штаммы UPEC, принадлежащие к филогруппе B2, являлись БЛРС-продуцентами в 28,3% случаев, штаммы других филогрупп – в 18,7%. Множественные гены вирулентности несли 60,0% представителей B2, при этом только 37,5% UPEC других групп имели такой же уровень вирулентности.

Таблица 3

Факторы вирулентности *E. coli* филогруппы B2, выделенных от пациентов стационара и поликлиники

Ген/ признак	Госпитальные (n=76)			Внегоспитальные (n=33)		
	B2, %	не B2, %	Уровень значимости, p	B2, % (n=12)	не B2, % (n=21)	Уровень значимости, p
<i>fimH</i>	<b>93,3</b>	<b>81,3</b>	<b>0,036</b>	75,0	76,2	1,0
<i>papC</i>	31,7	25,0	0,763	50,0	23,8	0,119
<i>sfaDE</i>	28,3	6,3	0,097	<b>41,7</b>	<b>4,8</b>	<b>0,016</b>
<i>afa/draBC</i>	10,0	0	0,332	33,3	9,5	0,142
<i>ibeA</i>	26,7	56,3	0,158	8,3	0	0,363
<i>yqi</i>	<b>46,7</b>	<b>12,5</b>	<b>0,019</b>	<b>41,7</b>	<b>4,8</b>	<b>0,016</b>
<i>uraG</i>	13,3	18,8	0,690	33,3	9,5	0,159
<i>flu</i>	61,7	56,3	0,776	<b>91,7</b>	<b>52,4</b>	<b>0,027</b>
<i>iha</i>	36,7	18,8	0,076	58,3	28,6	0,142
<i>ompT</i>	20,0	18,8	0,332	8,3	19,0	0,630
<i>usp</i>	<b>51,7</b>	<b>18,8</b>	<b>0,023</b>	8,3	0	0,363
<i>cnfI</i>	25,0	6,3	0,167	41,7	9,5	0,071
<i>hlyA</i>	20,0	12,5	0,720	41,7	9,5	0,071
<i>kpsMTIII</i>	65,0	62,5	1,0	50,0	47,6	0,818
<i>iroN</i>	38,3	37,5	1,0	41,7	19,0	0,230
5 и более генов	60,0	37,5	0,185	<b>75</b>	<b>27,3</b>	<b>0,021</b>
Фенотип БЛРС	28,3	18,8	0,335	41,7	33,3	0,701

Примечание. Достоверность различий двух независимых выборок определяли с помощью  $\chi^2$ ,  $\chi^2$  с поправкой Йейтса или точного критерия Фишера (*F*-test). Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

В группе культур, изолированных при внебольничных ИМВП, частота встречаемости генов *sfaDE*, *yqi*, *flu* статистически достоверно выше у штаммов, принадлежащих к филогенетической группе B2, чем у представителей других филогрупп. В целом внегоспитальные UPEC филогруппы B2 несли множественные гены вирулентности в 75% случаев, представители других филогрупп – только в 27,3%. Связи между принадлежностью штамма к филогруппе B2 и продукцией БЛРС не обнаружено.

**Сравнение вирулентного потенциала «индивидуальных» и «циркулирующих» нозокомиальных штаммов UPEC.** Ранее на основании генотипирования нами показано, что большинство изолятов, выделенных от пациентов стационаров, имели уникальный генетический профиль (обозначены как «индивидуальные»), то есть с большой долей вероятности были эндогенного происхождения, а доля культур, попавших в одну из геномогрупп («циркулирующие»), составила 30%. Выявлено, что «циркулирующие» (возможно, го-

спитальные) культуры практически все принадлежали к филогруппе B2 и чаще продуцировали БЛРС, чем «индивидуальные» штаммы. В данном исследовании мы оценили распространенность генов, ассоциированных с вирулентностью, и сравнили их встречаемость в двух подгруппах нозокомиальных культур (рис. 1).

Встречаемость изучаемых генов в двух группах штаммов представлена на рис. 2. Среди генов адгезинов достоверно чаще в группе «циркулирующих» UPEC встречались *fimH* ( $p=0,001$ ), *afa/DraBC* ( $p=0,050$ ). Из генов, отвечающих за синтез токсинов, чаще обнаруживали *usp* ( $p=0,019$ ) и *cnfI* ( $p=0,047$ ). Ген *uraG* детектировали только в группе «индивидуальных» культур. Среди «циркулирующих» штаммов значительно чаще выявляли продуценты БЛРС, они в 100% являлись представителями группы B2. Среди них чаще (38,5% против 7,9% у «индивидуальных» культур) встречались продуценты БЛРС, несущие множественные гены вирулентности (5 и более) ( $p=0,011$ ).

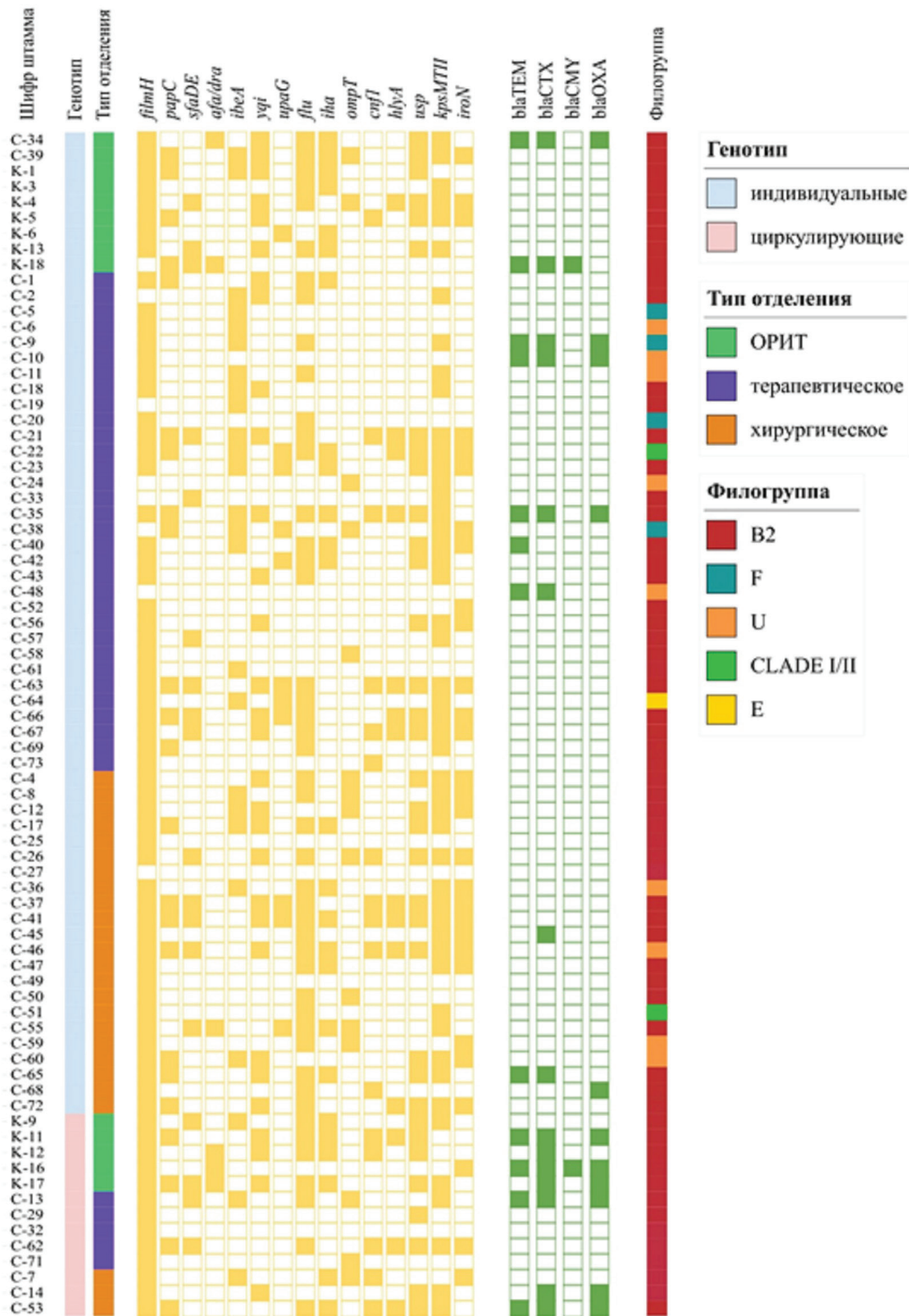


Рис. 1. Генотипическая характеристика нозокомиальных штаммов *E. coli* и их распределение с учетом генотипа, профиля отделения и филогруппы. 1 столбец: шифр штамма с учетом материала выделения, где: С – моча, стационар, К – катетер, стационар; 2 столбец: «индивидуальные», изоляты с уникальным генетическим профилем, «циркулирующие» – штаммы близкородственных групп; 3 столбец: тип отделения, где ОРИТ – отделения реанимации и интенсивной терапии ( $n=5$ ), терапевтическое – терапевтические отделения ( $n=11$ ), хирургическое – отделения общей хирургии, урологические, гинекологическое, отделение диализа ( $n=7$ ); 4-18 столбцы: гены, ассоциированные с вирулентностью, где желтый квадрат указывает на присутствие гена; 19-22 столбцы: гены бета-лактамаза, где зеленый квадрат указывает на присутствие гена; 23 столбец: филогруппа, определенная согласно quadruplex Clermont PCR. Графическое изображение было создано с использованием программы Interactive Tree Of Life (iTOL); версия 1.0 [9].

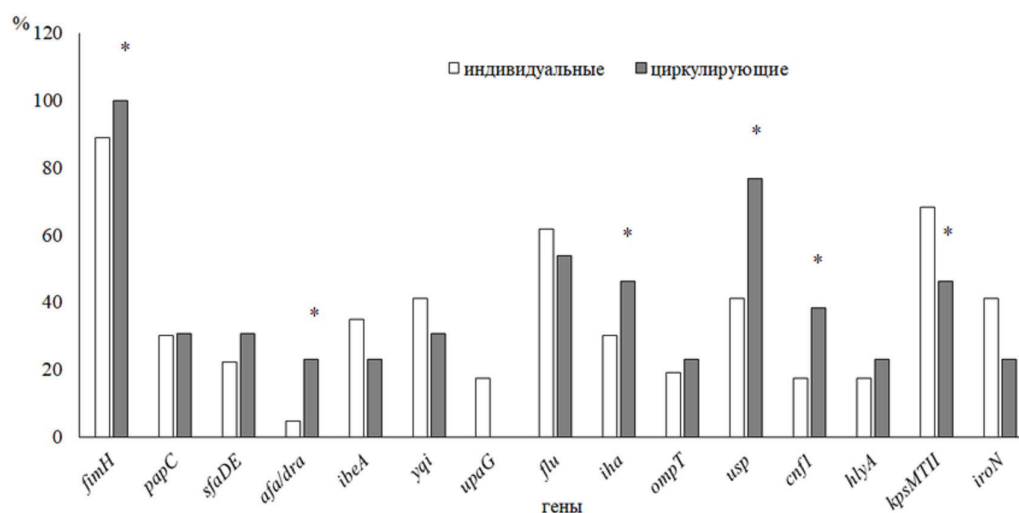


Рис. 2. Частота встречаемости носителей генов вирулентности среди нозокомиальных штаммов УРЕС. \* – различия были статистически значимыми.

**Обсуждение.** ИМВП являются одними из наиболее распространенных бактериальных инфекций человека. Появление множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) среди *E. coli* – доминантного этиопатогена ИМВП, стало проблемой здравоохранения во всем мире. В связи с этим активно изучают механизмы антибиотикоустойчивости, филогенетическое разнообразие и факторы вирулентности возбудителей, циркулирующих на определенной территории, с учетом типа медицинской организации, нозологической формы ИМВП, гендерных и возрастных параметров пациентов. Существенные различия в популяционной структуре УРЕС, в первую очередь, обусловлены источником/происхождением штаммов. Появились исследования, указывающие на то, что и госпитальные, и внегоспитальные штаммы *E. coli* обладают большим генетическим разнообразием в отношении детерминант вирулентности, включая различные патотипы ExPEC или диареогенные культуры, и принадлежности к филогруппе [4, 10]. Данный факт определяет целесообразность сравнительного изучения эшерихий, вызывающих заболевания в условиях стационара, либо вне его, в том числе, для улучшения качества лечения пациентов обеих групп [11]. В настоящем исследовании мы оценили встречаемость генов, ассоциированных с вирулентностью, их корреляцию с филогруппой и продукцией БЛРС среди штаммов *E. coli* (индивидуальных геномовариантов), связанных с внутрибольничными и внебольничными ИМВП у взрослых.

Среди представленной выборки нозокомиальных штаммов наиболее распространенными генами адгезинов оказались *fimH* (90,7%), *flu* (60,5%), токсинообразования - *usp* (44,7%), персистенции - *kpsMIII* (64,5%). В исследовании [12] получены сходные данные: у УРЕС, выделенных из мочи пациентов крупного стационара г. Саратова, преобладали гены *fimH* (99,0%), *ompT* (76,5%), *kpsMIII* (69,6%), *usp* (58,8%), *iha* (57,8%). Фимбрии 1 типа являются универсальными прикрепительными структурами бактерий *E. coli* и с высокой ча-

стотой определяются у штаммов разных групп, в связи с чем они часто используются при скрининге для эпидемиологического типирования УРЕС [13]. Капсульный белок, участвующий в формировании биопленки (*kpsMIII*), действует как фактор защиты от фагоцитоза и фактор персистенции, что объясняет его большую представленность среди уринарных штаммов, в том числе и при нозокомиальных инфекциях [14]. Уропатогенный специфический белок *E. coli* (*Usp*) является генотоксином, активным в отношении клеток млекопитающих, и ассоциирован со штаммами, провоцирующими простатит, пиелонефрит, бактериемию [15]. Выявлено, что он широко распространен среди штаммов, выделенных при рецидивирующей неосложненной инфекции нижних мочевых путей [16]. Наличие в геноме *usp* увеличивало инфекционность *E. coli* при моделировании инфекции мочевыводящих путей у мышей [17]. Поверхностный антиген Ag43a (*agn43(flu)*) принимает участие в формировании биопленки, однако данный адгезин является менее значимым для развития ИМВП. Интересным представляется тот факт, что среди изученных нами нозокомиальных штаммов значительная часть (почти 40%) являлись носителями гена *yqi*. Адгезин ExPEC I, кодируемый данным геном, в настоящее время недостаточно подробно охарактеризован, но показано, что делеция гена *yqi* ведёт к снижению способности колонизации штаммом как *in vitro*, так и *in vivo* [18].

Во многих исследованиях сообщается о расширении генетического разнообразия штаммов *E. coli*, выделенных при внебольничных ИМВП, обладающих одновременно высокой вирулентностью и МЛУ. Обнаружен широкий спектр генов вирулентности среди внегоспитальных штаммов УРЕС: *fimH*, *papG*, *sfaS*, *focG*, *afa/draBC*, *csgA*, *iroN*, *fyuA*, *iutA*, *ompT*, *traT*, *hlyA*, *cnf1*, *usp*, *kpsMIII* [5]. При этом 45% культур имели МЛУ. Основными генами БЛРС были *bla*<sub>TEM</sub> и *bla*<sub>CTX-M</sub>. Показано наличие в общей сложности 29 генов, кодирующих белки, связанные с различными функциями в патогене-

незе UPEC, изолированных от пациентов, проходящих амбулаторное лечение, при этом только 9,8% штаммов классифицированы как БЛРС-продуцирующие *E. coli*, большинство (72,7%) несли ген *bla*<sub>CTX-M-15</sub> [19]. Проведенное нами исследование демонстрирует большое разнообразие генов вирулентности, как из группы адгезинов, так и других факторов вирулентности, среди штаммов внегоспитальных UPEC. Почти половина (45,4%) изученных культур - носители множественных генов вирулентности (5 и более), 33,3% - продуценты БЛРС. Основными генами ферментов резистентности были *bla*<sub>CTX-M</sub> и *bla*<sub>TEM</sub>.

При сравнении госпитальных и внегоспитальных UPEC выявлено, что у штаммов обеих групп самыми распространенными оказались гены адгезинов *fimH*, который является универсальным для вида *E. coli*, и *flu*, что может быть объяснено его основной функцией – аутоагрегацией бактериальных клеток. Экспрессия гена *flu* ведёт к формированию бактериальных комплексов/кластеров на поверхности уротелия, что способствует развитию прикрепленных сообществ, персистенции возбудителя и хронизации инфекции. С практически равной частотой в группах встречались гены *papC* (~30%), *iha* (33-39%), *upaG* (15-18%). У нозокомиальных штаммов чаще, чем у внегоспитальных определялись гены *ibeA*, *yqi*, *usp*. Среди последних не выявлено статистически значимого преобладания ни одного из исследованных генов. Обнаружено, что *papAH* чаще связан с внебольничными случаями ИМВП, *kpsMIII* и *hlyD* - с нозокомиальной инфекцией [14]. Проанализировав встречаемость генов вирулентности среди госпитальных и внегоспитальных изолятов UPEC, выявили, что *kpsMIII* чаще обнаруживались среди последних [20]. Отмечен более высокий вирулентный потенциал у изолятов, выделенных во внебольничных условиях, однако, в нашем исследовании, нозокомиальные штаммы выступают как «более агрессивные».

О высоком вирулентном потенциале нозокомиальных штаммов исследуемой выборки свидетельствует большая доля представителей филогруппы B2. С данной филогруппой связаны многие факторы вирулентности, а также устойчивость к АМП [21, 22, 23]. Уропатогенные *E. coli* филогруппы B2 характеризовались статистически достоверно более высокой частотой встречаемости семи (*pap*, *iha*, *kpsMT*, *ompT*, *hlyA*, *usp*, *vat*) из шестнадцати исследованных генов, отвечающих за вирулентность возбудителя [12]. Ранее мы показали, что в поликлинике встречались представители всех восьми распознаваемых филогрупп, семь из которых принадлежат к *E. coli sensu stricto* (A, B1, B2, C, D, E, F), а одна соответствует скрытой группе I (cryptic clade I), тогда как в стационаре доминировали представители филогруппы B2 [8]. В данном исследовании выявлена связь между принадлежностью нозокомиальных штаммов к филогруппе B2 и присутствием генов *fimH*, *yqi*, *usp*. Представители филогруппы B2 чаще были носителями множественных генов вирулентности и продуцентами БЛРС, что может свидетельствовать о наибольшей значимости этой филогруппы в развитии различных ИМВП. Для поликлинических изолятов обнаружена связь принадлежности к филогруппе B2 и наличия генов *sfaDE*, *flu*, *yqi*. По-видимому, белок IMT (*yqi*) обладает повышенным тропизмом к уротелию и

играет существенную роль в развитии ИМВП [24], несмотря на то что изначально его описывали как белок APES.

В проведенном ранее исследовании мы определили «индивидуальные» и «циркулирующие» группы нозокомиальных штаммов, и показали, что последние в 100% случаев являются представителями филогруппы B2 и чаще несут гены БЛРС [25]. Интересным представлялось сравнить распространенность генов вирулентности не только среди внегоспитальных и госпитальных культур, но и среди штаммов, предположительно, обуславливающих экзогенную и эндогенную внутрибольничную инфекцию. «Циркулирующие» UPEC формируются в условиях постоянного давления факторов внешней среды и, вероятно, быстрее наращивают резистентный потенциал по сравнению со штаммами, вызывающими случаи внебольничных ИМВП. Действительно, высокая частота встречаемости гена *afa/draBC* среди «циркулирующих» штаммов подтверждает более высокий уровень вирулентного потенциала последних. В экспериментах по оценке роли Dr-фимбрий в патогенезе внекишечной патогенной *E. coli* показано, что *E. coli* с Dr-фимбриями длительно персистировали в ткани почек и вызывали выраженный тубулоинтерстициальный нефрит, тогда как мутант *E. coli* без Dr-фимбрий постепенно элиминировал из почечной ткани, а интенсивность патологического процесса снижалась [26]. Среди «циркулирующих» штаммов нами отмечен более высокий процент встречаемости генов токсинов *usp*, *cnfI*. Многочисленные клинические исследования подтверждают высокую распространенность *cnfI*, кодирующего цитотоксический некротизирующий фактор 1 (CNF1), в штаммах UPEC, принадлежащих к группе ExPEC. Ген *cnfI* сопряжен с островом патогенности (PAI) II, который содержит опероны, кодирующие альфа-гемолизин (HlyA) и Р-пили (*pap*, включая *PapGII*), связанные с пиелонефритом [27]. В нашем исследовании все внегоспитальные штаммы *cnfI* несли гены *hlyA* и *papC* и были связаны преимущественно с филогруппой B2. CNF1 относится к бактериальным токсинам, активирующим Rho GTPases, он блокирует фагоцитарную способность макрофагов и ингибирует апоптоз [28, 29]. В экспериментах на мышинной модели инфекции мочевыводящих путей – пиелонефрите, показано, что наличие фактора CNF1 у штаммов UPEC не дает последним преимуществ в развитии восходящих ИМВП. CNF1 способствует увеличению количества нейтрофилов и бактерий в инфицированных тканях мочевого пузыря и почек, что опосредует последующее развитие воспаления и повреждение тканей [30]. На модели крыс острого простатита также показано, что UPEC, экспрессирующие CNF1, вызывают обширное выраженное воспаление предстательной железы в дополнение к более выраженной клеточной инфильтрации полиморфноядерными лейкоцитами, чем соответствующий изогенный мутант [31].

Наши данные в основном совпадают с результатами исследований других авторов о вирулентном потенциале UPEC, тем не менее, есть некоторые отличия. Мы полагаем, что это связано с различными подходами при формировании коллекций культур. В нашем случае исследовались все штаммы от пациентов стационаров, независимо от анамнеза по уроинфекции. Учитывая



высокую долю нозокомиальных штаммов с индивидуальным генотипом, можно предположить, что в эту группу вошли штаммы - представители комменсальной кишечной микробиоты самого пациента, персистирующие в организме, в том числе и в уринарном биотопе, то есть возбудители внебольничных ИМВП. С другой стороны, с большой долей вероятности возбудителями экзогенной урологической инфекции в стационаре являются госпитальные штаммы, патогенный потенциал которых может различаться.

**Заключение.** ИМВП широко распространены в амбулаторной и в госпитальной практике. В основе патогенеза заболеваний лежат взаимоотношения между макро- и микроорганизмом, характер которых зависит как от состояния иммунной реактивности (восприимчивости) хозяина, так и вирулентного потенциала (уропатогенности) инфекционных агентов. Несмотря на значительное представительство уропатогенных бактерий, основными возбудителями ИМВП остаются *E. coli*, разнообразие биологических свойств которых позволяет успешно колонизировать мочеполовой тракт пациентов. Большинство госпитальных и внегоспитальных UPEC характеризуются как носители множественных детерминант вирулентности, ассоциированных с адгезией и токсинообразованием. Среди нозокомиальных штаммов чаще, чем в культурах от пациентов с внебольничными инфекциями, обнаружены гены *uqi*, *ibeA*, *usp*. Нозокомиальные культуры в 78,9% случаев принадлежат к филогруппе B2, внегоспитальные - только в 36,4%. Между двумя группами отсутствуют различия по частоте встречаемости БЛРС-продуцирующих штаммов. В группе нозокомиальных «циркулирующих» UPEC чаще, чем в группе «индивидуальных», детектируют гены *fimH*, *afa/DraBC*, *usp*, *cnf1*, встречаются продуценты БЛРС, они в 100% являются представителями филогруппы B2. Полученные данные расширяют знания о популяционной структуре UPEC, вызывающих внебольничные и госпитальные ИМВП.

ЛИТЕРАТУРА (П.П. 1, 2, 4, 6, 7, 9-11, 13-24, 26-31 СМ. REFERENCES)

3. Бухарин О.В., Гриценко В.А., Вялкова А.А. Факторы уропатогенности бактерий: роль в патогенезе и значение в диагностике пиелонефрита. *Нефрология и диализ*. 2001; 3 (4): 469-75.
5. Слукин П.В., Асташкин Е.И., Асланян Е.М., Ершова М.Г., Поletaeva Е.Д., Светоч Э.А. и др. Характеристика вирулентных штаммов *Escherichia coli*, выделенных от пациентов с урологической инфекцией. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98: 671-84.
8. Кузнецова М.В., Проворова С.В., Кубарев О.Г., Юдин Д.С., Каримова Н.В., Баяндина Н.В. и др. Сравнительная характеристика штаммов уропатогенной *Escherichia coli*, выделенных в условиях поликлиники и стационара. *Урология*. 2018; 6: 37-44.
12. Казанцев А.В., Осина Н.А., Глинская Т.О., Кошелева О.Н., Максимов Ю.В., Девдариани З.Л. и др. Факторы вирулентности и филогенетическая характеристика уропатогенных штаммов *Escherichia coli*, выделенных на территории г. Саратова. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 4: 56-60.
25. Кузнецова М.В., Гизатуллина Ю.С. Характеристика уропатогенных изолятов *Escherichia coli*, выделенных в условиях стационара. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66(4): 248-56. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-4-248-256.

REFERENCES

1. Radera S., Srivastava S., Agarwal J. Virulence genotyping and multi-drug resistance pattern of *Escherichia coli* isolated from community-acquired and hospital-acquired urinary tract infections. *Cureus*. 2022; 14(9): e29404. DOI:10.7759/cureus.29404.
2. Johnson J.R., Russo T.A. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic (uropathogenic) *Escherichia coli*. *Int. J. Med. Microbiol.* 2005; 295(6-7): 383-404. DOI: 10.1016/j.ijmm.2005.07.005.
3. Bukharin O.V., Gritsenko V.A., Vyalkova A.A. Factors of uropathogenicity of bacteria: role in pathogenesis and significance in the diagnosis of pyelonephritis. *Nefrologiya i dializ*. 2001; 3(4): 469-75. (in Russian)
4. Toval F., Köhler C.D., Vogel U., Wagenlehner F., Mellmann A., Fruth A. et al. Characterization of *Escherichia coli* isolates from hospital inpatients or outpatients with urinary tract infection. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(2): 407-18. DOI: 10.1128/JCM.02069-13.
5. Slukin P.V., Astashkin E.I., Aslanyan E.M., Ershova M.G., Poletaeva E.D., Svetoch E.A. et al. Characteristics of virulent strains of *Escherichia coli* isolated from patients with urological infection. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2021; 98: 671-84. DOI: 10.36233/0372-9311-134. (in Russian)
6. Gonçalves L.F., de Oliveira Martins-Júnior P., de Melo A.B.F., da Silva R.C.R.M., de Paulo Martins V., Pitondo-Silva A., de Campos T.A. Multidrug resistance dissemination by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* causing community-acquired urinary tract infection in the Central-Western Region, Brazil. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2016; 6: 1-4. DOI: 10.1016/j.jgar.2016.02.003.
7. Ballesteros-Monreal M.G., Mendez-Pfeiffer P., Barrios-Villa E., Arenas-Hernández M.M.P., Enciso-Martínez Y., Sepúlveda-Moreno C.O. et al. Uropathogenic *Escherichia coli* in Mexico, an Overview of Virulence and Resistance Determinants: Systematic Review and Meta-analysis. *Arch. Med. Res.* 2023; 54(3): 247-60. DOI: 10.1016/j.arcmed.2023.01.001.
8. Kuznetsova M.V., Provorova S.V., Kubarev O.G., Yudin D.C., Karimova N.V., Bayandina N.V. et al. Comparative characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated in a clinic and hospital. *Urologiya*. 2018; 6: 37-44. DOI: 10.18565/urology.2018.6.37-44. (in Russian)
9. Ciccarelli F.D., Doerks T., von Mering C., Creevey C.J., Snel B., Bork P. Toward automatic reconstruction of a highly resolved tree of life. *Science*. 2006; 311(5765):1283-7. DOI: 10.1126/science.1123061.
10. Yousefpour M., Rezatofghi S.E., Ardakani M.R. Detection and characterization of hybrid uropathogenic *Escherichia coli* strains among *E. coli* isolates causing community-acquired urinary tract infection. *J. Med. Microbiol.* 2023; 72(2). DOI: 10.1099/jmm.0.001660.
11. Whelan S., Lucey B., Finn K. Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC)-associated urinary tract infections: the molecular basis for challenges to effective treatment. *Microorganisms*. 2023; 11(9): 2169. DOI: 10.3390/microorganisms11092169.
12. Kazantsev A.V., Osina N.A., Glinkaya T.O., Kosheleva O.N., Maksimov Yu.V., Devdariani Z.L. et al. Virulence factors and phylogenetic characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated in the city of Saratov. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2019; 4: 56-60. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-56-60. (in Russian)
13. Dias R.C., Moreira B.M., Riley L.W. Use of *fimH* single-nucleotide polymorphisms for strain typing of clinical isolates of *Escherichia coli* for epidemiologic investigation. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(2): 483-8. DOI: 10.1128/JCM.01858-09.
14. Skjot-Rasmussen L., Ejrnæs K., Lundgren B., Hammerum A.M., Frimodt-Møller N. Virulence factors and phylogenetic grouping of *Escherichia coli* isolates from patients with bacteraemia of urinary tract origin relate to sex and hospital- vs. community-acquired origin. *Int. J. Med. Microbiol.* 2012; 302(3): 129-34. DOI: 10.1016/j.ijmm.2012.03.002.
15. Nipič D., Podlessek Z., Budič M., Črnigoj M., Žgur-Bertok D. *Escherichia coli* – uropathogenic-specific protein, Usp, is a bacteriocin-like genotoxin. *J. Infect. Dis.* 2013; 208(10):1545-52. DOI: 10.1093/infdis/jit480.

16. Naboka Y.L., Mavzyutov A.R., Kogan M.I., Gudima I.A., Dzhalaoniya K.T., Ivanov S.N., Naber K.G. The gene profile of *Enterobacteriaceae* virulence factors in relation to bacteriuria levels between the acute episodes of recurrent uncomplicated lower urinary tract infection. *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.* 2021; 19(8):1061-6. DOI: 10.1080/14787210.2021.1866986.
17. Yamamoto S., Nakano M., Terai A., Yuri K., Nakata K., Nair G.B. et al. The presence of the virulence island containing the *usp* gene in uropathogenic *Escherichia coli* is associated with urinary tract infection in an experimental mouse model. *J. Urol.* 2001; 165(4): 1347-51.
18. Antão E.M., Wieler L.H., Ewers C. Adhesive threads of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Gut Pathog.* 2009; 1(1): 1-22. DOI: 10.1186/1757-4749-1-22.
19. Tanabe R.H.S., Dias R.C.B., Orsi H., de Lira D.R.P., Vieira M.A., dos Santos L.F. et al. Haracterization of uropathogenic *Escherichia coli* reveals hybrid isolates of uropathogenic and diarrheagenic (UPEC/DEC) *E. coli*. *Microorganisms*. 2022; 10(3): 645. DOI: 10.3390/microorganisms10030645.
20. De Souza G.M., Neto E.R.D.S., da Silva A.M., Iacia M.V.M.S., Rodrigues M.V.P., Cataneli Pereira V. et al. Comparative study of genetic diversity, virulence genotype, biofilm formation and antimicrobial resistance of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) isolated from nosocomial and community acquired urinary tract infections. *Infect. Drug Resist.* 2019; 12: 3595-3606. DOI: 10.2147/IDR.S228612.
21. Lavigne J.P., Bruyère F., Bernard L., Combescure C., Ronco E., Lanotte P. et al. Resistance and virulence potential of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from patients hospitalized in urology departments: a French prospective multicentre study. *J. Med. Microbiol.* 2016; 65(6): 530-7. DOI: 10.1099/jmm.0.000247.
22. Najafi A., Hasanpour M., Askary A., Aziemzadeh M., Hashemi N. Distribution of pathogenicity island markers and virulence factors in new phylogenetic groups of uropathogenic *Escherichia coli* isolates. *Folia Microbiol.* 2017; 63(3): 335-43. DOI: 10.1007/s12223-017-0570-3.
23. Sheikh A.F., Goodarzi H., Yadyad M.J., Aslani S., Amin M., Jomehzadeh N. et al. Virulence-associated genes and drug susceptibility patterns of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection. *Infect. Drug Resist.* 2019; 12: 2039-47. DOI: 10.2147/IDR.S199764.
24. Qin X., Hu F., Wu S., Ye X., Zhu D., Zhang Y. et al. Comparison of adhesin genes and antimicrobial susceptibilities between uropathogenic and intestinal commensal *Escherichia coli* strains. *PLoS One.* 2013; 8(4): e61169. DOI: 10.1371/journal.pone.0061169.
25. Kuznetsova M.V., Gizatullina Yu.S. Characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* isolates isolated in a hospital setting. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2021; 66(4): 248-56. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-4-248-256. (in Russian)
26. Goluszko P., Moseley S.L., Truong L.D., Kaul A., Williford J.R., Selvarangan R. et al. Development of experimental model of chronic pyelonephritis with *Escherichia coli* O75:K5:H-bearing Dr fimbriae: mutation in the dra region prevented tubulointerstitial nephritis. *J. Clin Invest.* 1997; 99(7): 1662-72. DOI: 10.1172/JCI119329.
27. Blum G., Falbo V., Caprioli A., Hacker J. Gene clusters encoding the cytotoxic necrotizing factor type 1, Prs-fimbriae and alpha-hemolysin form the pathogenicity island II of the uropathogenic *Escherichia coli* strain J96. *FEMS Microbiol Lett.* 1995; 126(2): 189-95. DOI:10.1111/j.1574-6968.1995.tb07415.x.
28. Flatau G., Lemichez E., Gauthier M., Chardin P., Paris S., Fiorentini C. et al. Toxin-induced activation of the G protein p21 Rho by deamidation of glutamine. *Nature.* 1997; 387(6634): 729-33. DOI:10.1038/42743.
29. Tsoumts Meda L.L., Landraud L., Petracchini S., Descorps-Declere S., Perthame E., Nahori M.-A. et al. The *cnf1* gene is associated with an expanding *Escherichia coli* ST131 H30Rx/C2 subclade and confers a competitive advantage for gut colonization. *Gut Microbes.* 2022; 14(1): 1. DOI: 10.1080/19490976.2022.2121577.
30. Rippere-Lampe K.E., Lang M., Ceri H., Olson M., Lockman H.A., O'Brien A.D. Cytotoxic necrotizing factor type 1-positive *Escherichia coli* causes increased inflammation and tissue damage to the prostate in a rat prostatitis model. *Infect. Immun.* 2001; 69(10): 6515-9. DOI: 10.1128/IAI.69.10.6515-6519.2001.
31. Rippere-Lampe K.E., O'Brien A.D., Conran R., Lockman H.A. Mutation of the gene encoding cytotoxic necrotizing factor type 1 (*cnf1*) attenuates the virulence of uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 2001; 69(6): 3954-64. DOI: 10.1128/IAI.69.6.3954-3964.2001.



Экспресс-диагностика антибиотикорезистентности  
бактериальных штаммов

# ИХА-CARBA-5

Быстрый мультиплексный иммуноанализ  
для фенотипического обнаружения  
и дифференциации пяти распространенных  
семейств карбапенемаз с целью выявления  
устойчивости колоний микроорганизмов  
к антибиотикам группы карбапенемов

**Выявление и дифференциация карбапенемаз типов KPC, OXA, VIM, IMP и NDM**  
— мультирезультат на одной тест-полоске

**Исследуемый образец — суточная бактериальная культура, выделенная из биологического материала человека (кровь, моча, фекалии, гной и др.).**

**Помощь в выборе противомикробной терапии**

- своевременного назначения антибиотикотерапии
- коррекция антибиотикотерапии в отсутствие эффекта

**Легко внедрить в любые лабораторные условия**

- Необходимо только стандартное оснащение микробиологической лаборатории

**Удобная комплектация**

- для исследования 1 и 20 образцов

**Быстрый результат**

- определение карбапенемаз через 10 минут
- сокращение преаналитического этапа по сравнению со стандартными методами определения антибиотикорезистентности



г. Электрогорск,  
ул. Буденного, д. 1



8-800-333-33-47



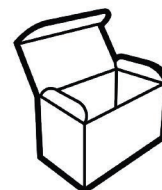
[www.ekolab.ru](http://www.ekolab.ru)



[ekolab-sbyt@mail.ru](mailto:ekolab-sbyt@mail.ru)

# ИНОЗИТОЛ МЕТИЛФОЛАТ

- Улучшает гормональный фон
- Регулирует работу репродуктивной системы
- Восстанавливает подвижность сперматозоидов
- Корректирует метаболические нарушения



на курс

Покупайте  
на маркетплейсах

БАД. Не является лекарственным средством

# Точный диагноз не выходя из дома



Экспресс-тест  
для диагностики  
АНГИНЫ  
«ИХА-СтрептоА»



Исследуемый  
материал:  
Мазок

Экспресс-тест  
для определения  
уровня Витамина Д  
«ИХА-Витамин D»



Исследуемый  
материал:  
Капля крови  
из пальца

Экспресс-тест  
для диагностики  
Гриппа А и В  
«ИХА-Грипп А и В»



Исследуемый  
материал:  
Мазок

Экспресс-тест  
для диагностики  
COVID-19  
«ИХА-SARS-CoV-2-Ag»



Исследуемый  
материал:  
Мазок

Экспресс-тест  
для диагностики  
кишечных паразитов  
«ИХА-Лямблии»



Исследуемый  
материал:  
Образцы кала

WILDBERRIES

OZON



г. Электрогорск,  
ул. Буденного, д. 1



8-800-333-33-47



[www.ekolab.ru](http://www.ekolab.ru)



[ekolab-sbyt@mail.ru](mailto:ekolab-sbyt@mail.ru)

# ЭКОФРИН

Средство для слизистой оболочки носа



Увлажняет



Защищает



Заживляет

Витамин

**E**

эфирное  
масло  
лимона

гиалуро-  
новая  
кислота



Не имеет  
побочных  
эффектов

Выгодный  
объем 50 мл

Без привыкания

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

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

## АРХИТЕКТОНИКА МИКРОБИОТЫ ЭНДОМЕТРИЯ У ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», 199034, г.  
Санкт-Петербург, Россия

**Введение.** Данные литературы указывают на изменения микробиоты влагалища и эндометрия у пациенток с бесплодием. Цель исследования – определить состав и количественные характеристики микрофлоры полости матки и влагалища у пациенток с разными формами бесплодия.

**Материал и методы.** В исследовании приняли участие 102 женщины репродуктивного возраста, страдающие бесплодием различного генеза. На основе анамнестических данных женщины разделены на 3 группы: I группа – женщины с внутриматочными синехиями (n=12); II группа – женщины с полипами эндометрия (n=17), III группа – женщины, страдающие другими формами бесплодия (n=73). От каждой женщины получены по два образца: 1) отделяемое влагалища, 2) аспират эндометрия, с использованием метода пайпель-биопсии. Исследование состава микрофлоры эндометрия и влагалища, типирование лактобактерий проводилось с использованием полимеразной цепной реакции в реальном времени.

**Результаты.** Бактериальная ДНК выявлена во всех образцах отделяемого влагалища, и в 98% образцов из полости матки. Закономерно чаще и в большей концентрации различные группы микроорганизмов определялись во влагалище относительно полости матки. *Lactobacillus spp.* обнаружены в большинстве образцов – у 79 (77,5%) из 102 женщин в полости матки и у 97 (95,1%) из 102 во влагалище. Наиболее часто и во влагалище, и в полости матки женщин с бесплодием выявлялись *Lactobacillus crispatus* с частотой 77,42% и 70,97%, соответственно. При разных формах бесплодия (наличие синехий или полипов в полости матки), при идиопатическом бесплодии микрофлора влагалища и эндометрия, видовой состав лактобацилл достаточно сходны по составу и количественным характеристикам.

**Заключение.** Состав микробиоты эндометрия и влагалища у женщин с бесплодием различного генеза достаточно схожи. Необходимы дальнейшие исследования для установления роли микробиома женских половых путей в репродукции человека.

**Ключевые слова:** микробиота эндометрия; микробиота влагалища; бесплодие; синехии; полипы эндометрия

Для цитирования: Крысанова А.А., Сторожева К.В., Будилковская О.В., Хуснутдинова Т.А., Шалепо К.В., Тапильская Н.И., Савичева А.М., Беспалова О.Н. Архитектоника микробиоты эндометрия у женщин с бесплодием различного генеза. Клиническая лабораторная диагностика. 2024; 69 (9): 478–486.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-9-478-486>

**Для корреспонденции:** Крысанова Анна Александровна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. группы экспериментальной микробиологии; e-mail: [krusanova.anna@mail.ru](mailto:krusanova.anna@mail.ru).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Поступила 30.05.2024  
Принята к печати 16.07.2024  
Опубликовано 00.09.2024

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

## ARCHITECTONICS OF ENDOMETRIAL MICROBIOTA IN WOMEN WITH INFERTILITY OF VARIOUS GENESIS

D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology, 199034, St. Petersburg, Russia

**Introduction.** Data from literature sources indicate changes in the microbiota of the vagina and endometrium in patients with infertility. The purpose of the study is to determine the composition and quantitative characteristics of the microflora of the uterine cavity and vagina in patients with different forms of infertility.

**Material and methods.** The study involved 102 women of reproductive age suffering from infertility of various origins. Based on anamnestic data, all women were divided into 3 groups: Group I - women with intrauterine synechiae (n=12); Group II - women with endometrial polyps (n=17) and Group III - women suffering from other forms of infertility (n=73). Two samples were obtained from each woman: 1) vaginal discharge and 2) endometrial aspirate using the pipell biopsy method. The study of the composition of the microflora of the endometrium and vagina, as well as typing of lactobacilli, was carried out using real-time polymerase chain reaction.

**Results.** Bacterial DNA was detected in all vaginal discharge samples and in 98% of uterine cavity samples. Naturally, various groups of microorganisms were detected more often and in higher concentrations in the vagina relative to the uterine cavity. *Lactobacillus spp.* were found in the majority of samples - in 79 (77.5%) of 102 women in the uterine cavity and in 97 (95.1%) of 102 in the vagina. *Lactobacillus crispatus* was most often detected in both the vagina and uterine cavity of women with infertility with a frequency of 77.42% and 70.97%, respectively. In different forms of infertility (the presence of synechiae or polyps in the uterine cavity), as well as in idiopathic infertility, the microflora of the vagina and endometrium, as well as the species composition of lactobacilli, were quite similar in composition and quantitative characteristics.

**Conclusion.** The composition of the endometrial and vaginal microbiota in women with infertility of various origins is quite similar.

*Further research is needed to establish the role of the female genital tract microbiome in human reproduction.*

**Key words:** Endometrial microbiota; vaginal microbiota; infertility; synechiae; endometrial polyps

**For citation:** Krysanova A.A., Storozheva K.V., Budilovskaya O.V., Khusnutdinova T.A., Shalepo K.V., Tapilskaya N.I., Savicheva A.M., Bepalova O.N. Architectonics of endometrial microbiota in women with infertility of various genesis. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (9): 478-486 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-9-478-486>

**For correspondence:** Krysanova A.A., PhD, MD, Senior Researcher, Experimental Microbiology Group; e-mail: [krusanova.anna@mail.ru](mailto:krusanova.anna@mail.ru).

**Information about authors:**

Krysanova A.A., <https://orcid.org/0000-0003-4798-1881>;  
Storozheva K.V., <https://orcid.org/0009-0005-8954-0234>;  
Budilovskaya O.V., <https://orcid.org/0000-0001-7673-6274>;  
Khusnutdinova T.A., <https://orcid.org/0000-0002-2742-2655>;  
Shalepo K.V., <https://orcid.org/0000-0002-3002-3874>;  
Tapilskaya N.I., <https://orcid.org/0000-0001-5309-0087>;  
Savicheva A.M., <https://orcid.org/0000-0003-3870-5930>;  
Bepalova O.N., <https://orcid.org/0000-0002-6542-5953>.

**Conflict of interests.** *The authors declare absence of conflict of interests.*

**Acknowledgment.** *The study was conducted within the framework of the FSR theme "Development of diagnostic criteria for predicting and overcoming reproductive losses" (FSR № 1021062512052-5-3.2.2).*

Received 30.05.2024

Accepted 16.07.2024

Published 00.09.2024

**Актуальность.** Проблема репродуктивного здоровья населения в современном мире остается одной из самых острых несмотря на пристальное внимание к этому вопросу со стороны мирового медицинского сообщества. И хотя на сегодняшний день достигнуты большие успехи в улучшении здоровья в целом, проблема бесплодия по-прежнему затрагивает миллионы людей и оказывает влияние на их семьи. Согласно данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), бесплодием страдает около 17,5% взрослого населения, то есть примерно каждый шестой человек в мире [1]. Для России частота бесплодных супружеских пар составляет от 8% до 21%, и в ближайшее время тенденции к снижению не предвидится [2].

Примерно у 85% бесплодных пар причина бесплодия ясна, часто это овуляторная дисфункция, анатомические особенности матки, бесплодие по мужскому фактору и непроходимость маточных труб. Образ жизни и факторы окружающей среды, такие как курение и ожирение, могут отрицательно влиять на фертильность. У оставшихся 15% бесплодных пар наблюдается идиопатическое или «необъяснимое бесплодие» [3].

Задача, поставленная перед исследователями, заключается в поиске скрытых причин бесплодия. Одно из возможных направлений - изучение корреляции микробиоты репродуктивного тракта и бесплодия. В литературе встречаются данные об отличии состава микробиоты женщин с бесплодием как в нижних, так и верхних отделах урогенитального тракта по сравнению со здоровыми женщинами.

Не вызывает сомнения, что микроорганизмы играют важную роль в здоровье и благополучии человека. За счёт производства биоактивных молекул они формируют здоровую микробиоту (совокупность микроорганизмов в определённом локусе), и тем самым образуют синергетическое взаимодействие с клетками организма, регулируя метаболизм, физиологию, иммунные функции ор-

ганизма-хозяина [4]. Эпителиальные клетки влагалища и вагинальные выделения обеспечивают благоприятные условия для размножения и поддержания роста бактерий [5]. Вагинальный микробиом, представляющий собой динамическую экосистему, играет ключевую роль в охране здоровья матери и новорожденного [6]. Основой физиологического микробиоценоза влагалища здоровых женщин репродуктивного возраста является преобладание видов рода *Lactobacillus* spp. Они обладают противомикробными свойствами, поддерживающими стабильность вагинального микробиома за счет контроля над урогенитальными патогенными и условно-патогенными микроорганизмами (УПИМ) [7]. Существенное изменение баланса микроорганизмов вагинального биотопа, сопровождающееся уменьшением количества лактобацилл и размножением факультативных и облигатных анаэробов (*Gardnerella* spp., *Fannyhessea* (*Atopobium*) *vaginae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Prevotella*, *Peptoniphilus*, *Megasphaera*, *Mobiluncus*) ассоциировано с развитием ряда заболеваний. Наиболее распространённое среди них - бактериальный вагиноз [8]. Такое патологическое изменение микробных ассоциаций связано с повышенным риском воспалительных заболеваний органов малого таза, неблагоприятными исходами беременности, увеличением риска заражения возбудителями инфекций, передаваемых половым путем, в том числе вирусом иммунодефицита человека и вирусом папилломы человека [7,8].

Долгое время считалось, что верхние отделы генитального тракта являются стерильными, поскольку цервикальная слизь, обладающая высокой концентрацией провоспалительных цитокинов, иммуноглобулинов, антимикробных пептидов, обеспечивает барьерный эффект [9]. В исследованиях с использованием секвенирования нового поколения (NGS) обнаружено, что полость матки имеет свой уникальный микробиом. Ряд исследований продемонстрировали, что в полости мат-



ки у здоровых женщин обнаруживаются комменсальные микробные сообщества, в то время как микробиом полости матки изменен у женщин, страдающих гинекологическими заболеваниями, такими как рак эндометрия, эндометриоз, аномальные маточные кровотечения, полипы эндометрия, внутриматочные синехии, гиперплазия эндометрия, бесплодие [10].

Патологические изменения при бесплодии различного генеза неизбежно влияют на физиологию и метаболические процессы в полости матки, что вызывает изменения в прилегающих тканях, влияя на разнообразие вагинальной микробиоты. Цель исследования - показать структуру микробиоты эндометрия и влагалища у женщин репродуктивного возраста с бесплодием различного генеза.

**Материал и методы.** В исследование включены 102 женщины репродуктивного возраста (от 18 до 49 лет, средний возраст составил  $36 \pm 4,8$  года), обратившиеся в НИИАГиР им. Д. О. Отта (Санкт-Петербург) в период с сентября 2023 года по январь 2024 года, страдающие бесплодием. Критерии включения: репродуктивный возраст 18-49 лет, отягощённый акушерско-гинекологический анамнез (наличие внутриматочных синехий, полип эндометрия и бесплодие неясного генеза). Критерии исключения: возраст пациенток менее 18 лет и более 49 лет, отказ пациентки от участия в исследовании, наличие противопоказаний к вынашиванию беременности, тяжёлые соматические и онкологические заболевания любой локализации.

Исследование проводилось с добровольного информированного согласия пациенток; протокол исследования одобрен этическим комитетом ФГБНУ Научно-исследовательского института АГиР им. Д.О. Отта (протокол № 114 от 14.12.2021 г.).

На основе анамнестических данных все женщины разделены на группы: I группа - женщины с внутриматочными синехиями ( $n=12$ ); II группа - женщины с полипами эндометрия ( $n=17$ ), III группа - женщины, страдающие другими формами бесплодия ( $n=73$ ).

От каждой женщины для исследования микробиоты получены по 2 образца: 1) отделяемое влагалища; 2) аспират эндометрия, с использованием метода пайпель-биопсии.

Клинические материалы отделяемого влагалища отобраны во время гинекологического осмотра с заднего и боковых сводов влагалища с помощью стерильных тампонов, которые затем помещены в пробирки с транспортной средой с муколитиком.

Аспират эндометрия отбирали на 19-23-й день менструального цикла. После удаления слизистой пробки и обработки шейки матки 0,05% раствором хлоргексидина, с максимальной осторожностью, чтобы не коснуться стенки влагалища, получали материал с помощью гибкого зонда небольшого диаметра, внутри которого находился поршень. За счёт поршня создается отрицательное давление, и биоматериал поступает в зонд. После извлечения зонда материал помещался в пробирки с транспортной средой с муколитиком.

Для выделения ДНК использован комплект реагентов «ДНК-сорб-АМ» (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора», Москва, Россия). Реакцию проводили на детектирующих амплификаторах DT-96 и DTprime (ООО «ДНК-Технология», Россия).

Молекулярно-биологическое исследование методом ПЦР в реальном времени осуществляли с применением мультиплексного теста, позволяющего определить: общую бактериальную массу (ОБМ), представителей нормальной микрофлоры - *Lactobacillus* spp; факультативно-анаэробные микроорганизмы (*Enterobacteriaceae* spp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp.); облигатно-анаэробные микроорганизмы (*Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas* spp., *Eubacterium* spp., *Sneathia* spp./*Leptotrichia* spp./*Fusobacterium* spp., *Megasphaera* spp./*Veillonella* spp./*Dialister* spp., *Lachnobacterium* spp./*Clostridium* spp., *Corynebacterium* spp./*Mobiluncus* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Atopobium vaginae*); другие УПМ (*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma hominis*, *Candida* spp.); и один из патогенов - *Mycoplasma genitalium*. Типирование лактобактерий проводили с помощью мультиплексного теста, позволяющего определить: *L. crispatus*, *L. iners*, *L. gasseri*, *L. jensenii*. Учет результатов происходил автоматически.

**Статистические методы.** Средний возраст пациенток выражали средним арифметическим и стандартным отклонением ( $M \pm SD$ ). В качестве средних величин ОБМ и количеств отдельных групп микроорганизмов использованы медианы и квартили ( $Me (Q_1-Q_3)$ ). Для попарного сравнения концентрации групп микроорганизмов из полости матки и влагалища рассчитаны критерии Вилкоксона в программе Statistics 10.0 (IBM Corp.; США). При сопоставлении показателей, измеренных в номинальной или в порядковой шкале, применён критерий согласия Пирсона ( $\chi^2$ ), при малых выборках данный критерий рассчитан с поправкой Йейтса или рассчитан двусторонний критерий Фишера. Во всех случаях различия интерпретировали как достоверные при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** У всех женщин в образцах отделяемого влагалища выявлена бактериальная ДНК: общая бактериальная масса (ОБМ) определялась в диапазоне от  $10^{5,0}$  до  $10^{8,4}$  (медиана  $10^{6,9}$ ) ГЭ/образец. В аспирате эндометрия в двух образцах бактериальная ДНК отсутствовала, поэтому диапазон ОБМ составил  $0-10^{7,4}$  (медиана  $10^{4,2}$ ) ГЭ/образец.

При анализе частоты выявления, закономерно чаще различные группы микроорганизмов определялись во влагалище относительно полости матки (рис. 1).

*Lactobacillus* spp. обнаружены в большинстве образцов - у 79 (77,5%) из 102 женщин в полости матки и у 97 (95,1%) из 102 во влагалище. Кроме лактобацилл в полости матки наиболее часто идентифицировали *Eubacterium* spp. ( $n=25$ , 24,5%), *Atopobium vaginae* ( $n=22$ , 21,6%), *Ureaplasma (urealyticum+parvum)* ( $n=17$ , 16,7%), *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/ Porphyromonas* spp. ( $n=17$ , 16,7%). Удельный вес остальных идентифицируемых микроорганизмов в полости матки не превышал 7,8%.

При анализе микробиоты влагалища установлено, что несмотря на высокую частоту выявления *Lactobacillus* spp., достаточно часто обнаруживались и другие микроорганизмы. Обращает на себя внимание высокая частота обнаружения представителей факультативно-анаэробной микрофлоры: *Eubacterium* spp. ( $n=71$ , 69,61%), *Streptococcus* spp. ( $n=37$ , 36,27%) и сем. *Enterobacteriaceae* ( $n=36$ , 35,29%). Среди облигатно-анаэробных микроорганизмов наиболее часто обнаруживались *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/ Porphyromonas* spp. - у 55 женщин (53,92%), затем *Mobiluncus* spp./

*Corynebacterium* spp. - у 47 (46,08%) и *Megasphaera* spp./*Veillonella* spp./*Dialister* spp. - у 46 женщин из 102 (45,1%). *Lachnobacterium* spp./*Clostridium* spp., *Peptostreptococcus* spp. и *Atopobium vaginae* были выявлены у 35 (34,31%), 34 (33,33%) и 31 (30,39%) женщин, соответственно. Реже всего из облигатно-анаэробных микроорганизмов встречались *Sneathia* spp./*Leptotrichia* spp./*Fusobacterium* spp. - у 14 женщин из 102, что составило 13,73%. *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma (urealiticum+parvum)* обнаруже-

ны у 3 (2,94%) и 26 (25,49) женщин, соответственно. В 11,76% случаев обнаружены *Candida* spp. (у 12 женщин из 102). *Mycoplasma genitalium* отсутствовали во всех образцах обследованных пациенток.

У 79 (77,45%) из 97 женщин, у которых обнаружена ДНК *Lactobacillus* spp., эти микроорганизмы обнаружены одновременно и в полости матки, и во влагалище, и лишь у 18 (17,65%) - только в образцах отделяемого влагалища (рис. 2).

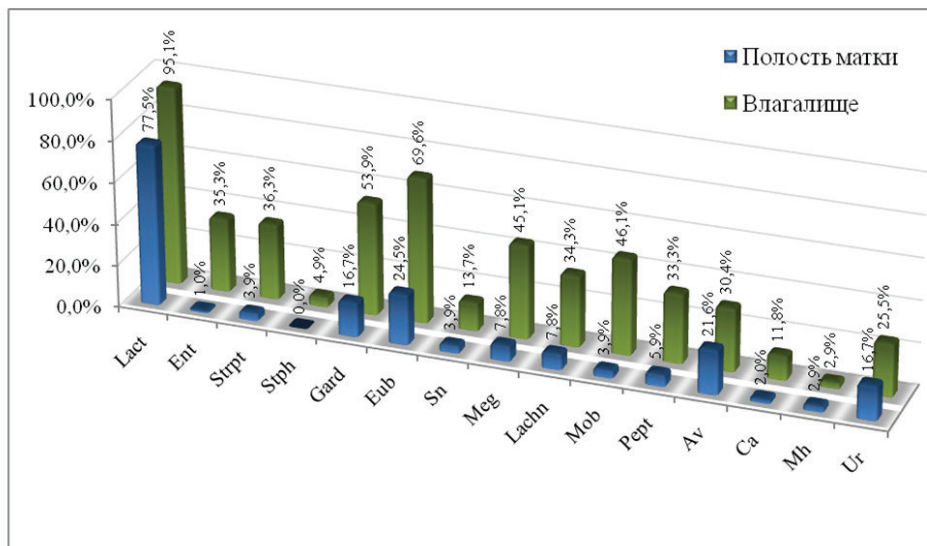


Рис. 1. Частота определения отдельных групп микроорганизмов в полости матки и во влагалище у женщин с бесплодием. Здесь и на рис. 2, 5, 6: Lact - *Lactobacillus* spp.; Ent - сем. *Enterobacteriaceae*; Strpt - *Streptococcus* spp.; Sph - *Staphylococcus* spp.; Gard – *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas* spp.; Eub - *Eubacterium* spp.; Sn - *Sneathia* spp./*Leptotrichia* spp./*Fusobacterium* spp.; Meg - *Megasphaera* spp./*Veillonella* spp./*Dialister* spp.; Lachn - *Lachnobacterium* spp./*Clostridium* spp.; Mob - *Mobilincus* spp./*Corynebacterium* spp.; Pept - *Peptostreptococcus* spp.; Av - *Atopobium vaginae*; Ca - *Candida* spp.; Mh - *Mycoplasma hominis*; Ur - *Ureaplasma (urealiticum+parvum)*.

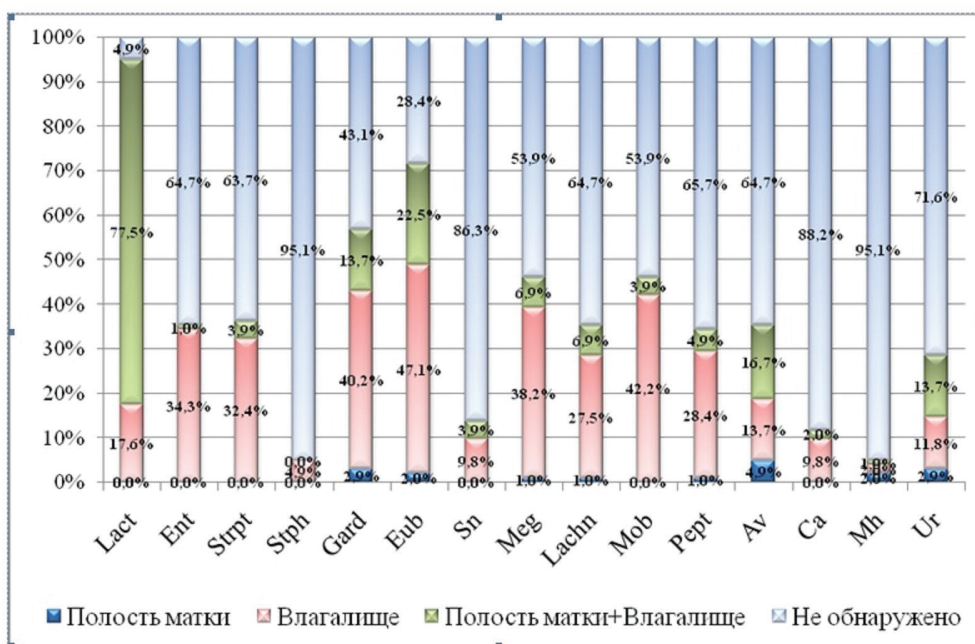


Рис. 2. Сопоставление одновременного выявления микроорганизмов/групп микроорганизмов в образцах отделяемого влагалища и полости матки у одной и той же женщины.

Часто одновременно в двух локусах одной и той же женщины обнаруживались *Eubacterium* spp. ( $n=23$ ; 22,55%). *Atopobium vaginae* ( $n=17$ ; 16,67%), *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas* spp. ( $n=14$ ; 13,73%) и *Ureaplasma (urealiticum+parvum)* ( $n=14$ ; 13,73%). В полости матки лактобациллы не выявлены, если они не обнаруживались во влагалище. Только в эндометрии обнаружены: *Atopobium vaginae* у 5 женщин (4,9%), *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/*

*Porphyromonas* spp. и *Ureaplasma (urealiticum+parvum)* у троих (по 2,94%, соответственно), *Eubacterium* spp. и *Mycoplasma hominis* в двух образцах (по 1,96%, соответственно). В единичных пробах только в полости матки обнаружены *Megasphaera* spp./*Veillonella* spp./*Dialister* spp.; *Lachnobacterium* spp./*Clostridium* spp. и *Peptostreptococcus* spp. (по 0,98%).

Виды лактобацилл, выявляемые во влагалище и в полости матки у женщин с бесплодием представлены на рис. 3.

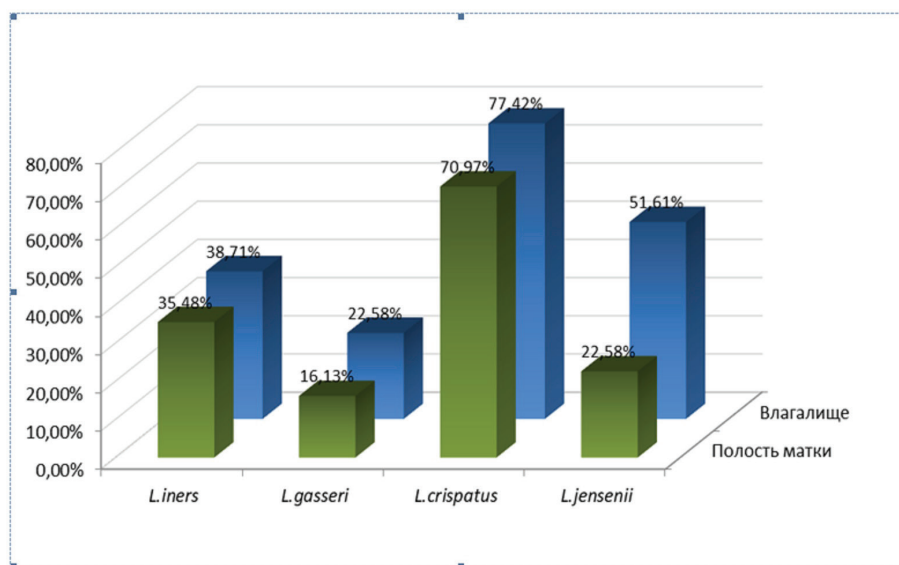


Рис. 3. Частота выявления различных видов *Lactobacillus* spp.

Наиболее часто и во влагалище, и в полости матки выявлялись *Lactobacillus crispatus* (77,42% во влагалище и 70,97% в полости матки), *L. iners* обнаружены у 38,71% и 35,48% женщин, соответственно. Другие виды лактобацилл выявлялись реже.

Наиболее часто в полости матки по сравнению с вагинальным отделяемым обнаружен один вид лактобацилл (54,84% и 29,03%, соответственно), чаще *Lactobacillus crispatus*. Два и три вида лактобацилл чаще выявлялись во влагалище, чем в полости матки (рис. 4).

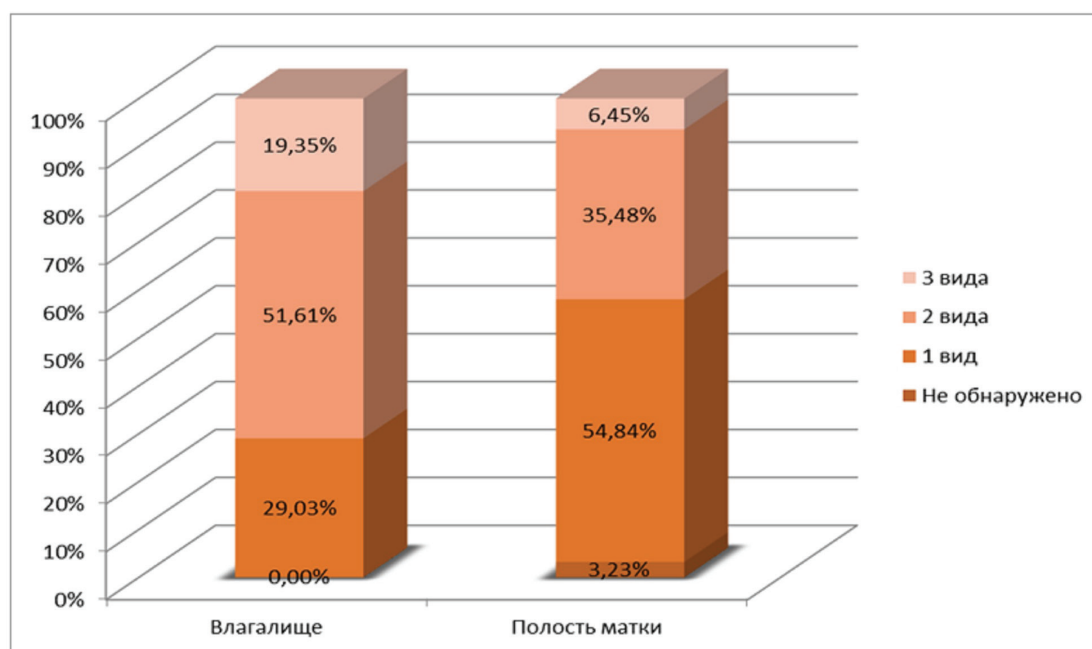


Рис. 4. Число одновременно определяемых различных видов *Lactobacillus* spp. во влагалище и полости матки обследованных женщин.

При рассмотрении разных видов лактобацилл в сравнении с разными формами бесплодия различий не установлено.

Проанализирована частота выявления микроорганизмов в полости матки и во влагалище в зависимости от генеза бесплодия обследованных женщин (рис. 5, 6).

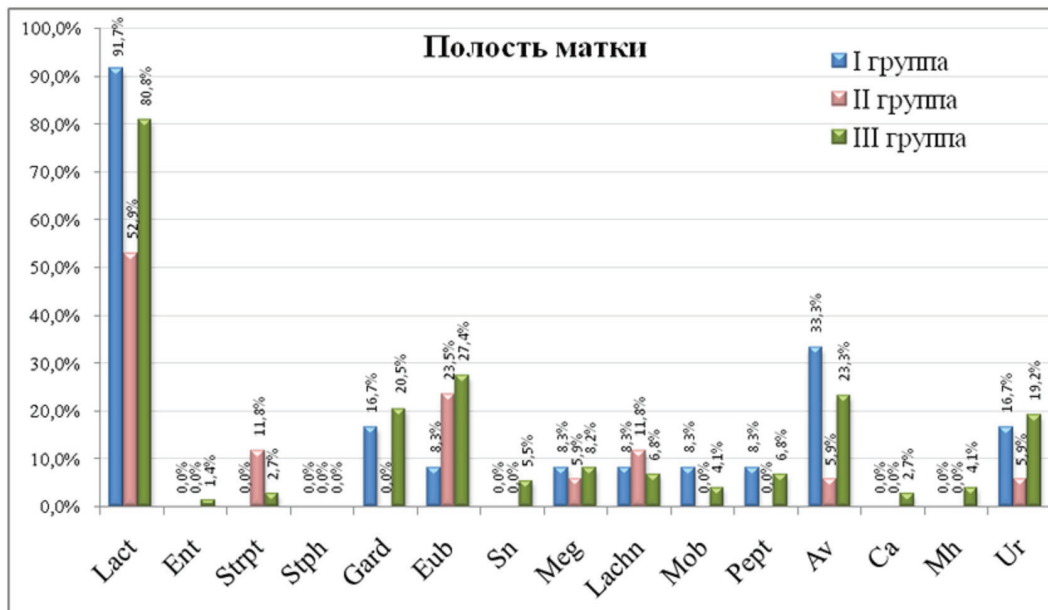


Рис. 5. Частота определения отдельных групп микроорганизмов в полости матки у женщин с бесплодием.

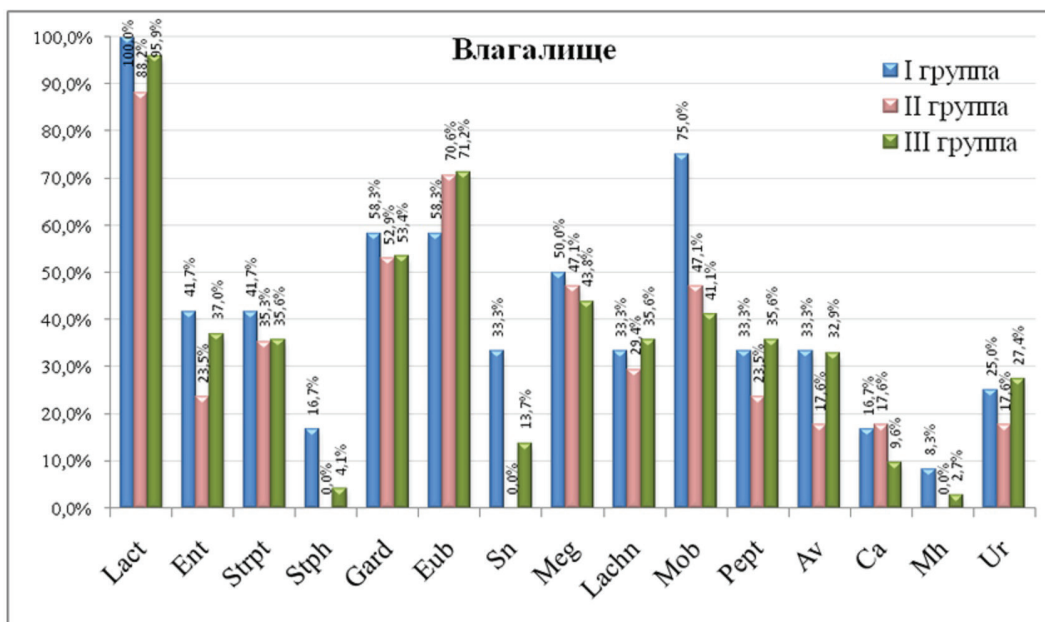


Рис. 6. Частота определения отдельных групп микроорганизмов во влагалище у женщин с бесплодием.

Наиболее часто во всех группах женщин, как в полости матки, так и во влагалище, обнаруживались *Lactobacillus* spp. Частота выявления лактобацилл во влагалище практически не зависела от группы женщин и составила 100% в I, 88,2% во II и почти 96% в III группе. В полости матки частота обнаружения лактобацилл достоверно ниже во II группе относительно двух других ( $p < 0,05$ ). В I и III группах выявляемость лактобацилл в эндометрии достаточно вы-

сока (91,7% и 80,8%, соответственно). Содержание факультативно-анаэробных микроорганизмов во всех трех группах незначительно в обоих локусах, а в полости матки женщин из I группы эти микроорганизмы не выявлены. облигатно-анаэробные микроорганизмы обнаружены во влагалище всех групп женщин, отмечено особенно высокое содержание *Eubacterium* spp. и кластеров *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/ Porphyromonas* spp. и *Mobilincus* spp./*Corynebacterium*

spp. Для полости матки характерно незначительное выявление отдельных групп микроорганизмов, за исключением *Atopobium vaginae*, *Eubacterium* spp. и кластера *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas* spp. Обращает на себя внимание частое выявление

*Ureaplasma (urealiticum+parvum)* в полости матки женщин I и III групп. Частота выявления грибов рода *Candida* и *Mycoplasma hominis* незначительная.

Количественные показатели микроорганизмов/групп микроорганизмов представлены в таблице.

Концентрация ДНК микроорганизмов, выявленных во влагалище и полости матки у обследованных женщин разных групп

Микроорганизмы	I группа (n=12)		II группа (n=17)		III группа (n=73)		Всего (n=102)	
	П/м*	Влаг*	П/м*	Влаг*	П/м*	Влаг*	П/м*	Влаг*
ОБМ	4,0 (3,6-7,4)	6,9 (5,1-7,8)	3,9 (3,6-5,9)	6,7 (6,1-7,7)	4,3 (0-6,2)	7,0 (5,0-8,4)	4,2 (0-7,4)	6,9 (5,0-8,4)
<i>Lactobacillus</i> spp.	3,6 (0-7,4)	6,6 (5,0-7,5)	3,3 (0-5,9)	6,6 (0-7,7)	3,8 (0-6,2)	6,7 (0-8,0)	3,7 (0-7,4)	6,6 (0-8,0)
сем. <i>Enterobacteriaceae</i>	0	0 (0-4,8)	0	0 (0-5,9)	0 (0-5,2)	0 (0-5,8)	0 (0-5,2)	0 (0-5,9)
<i>Streptococcus</i> spp.	0	0 (0-5,5)	0 (0-3,6)	0 (0-6,0)	0 (0-6,0)	0 (0-7,2)	0 (0-6,0)	0 (0-7,2)
<i>Staphylococcus</i> spp.	0	0 (0-5,1)	0	0	0	0 (0-5,6)	0	0 (0-5,6)
<i>G. vaginalis/Prevotella bivia/</i> <i>Porphyromonas</i> spp.	0 (0-5,3)	3,4 (0-6,6)	0	3,1 (0-6,8)	0 (0-5,5)	3,2 (0-8,2)	0 (0-5,5)	3,1 (0-8,2)
<i>Eubacterium</i> spp.	0 (0-5,3)	3,5 (0-6,0)	0 (0-3,3)	3,3 (0-5,6)	0 (0-5,2)	3,6 (0-7,5)	0 (0-5,5)	3,5 (0-7,5)
<i>Snethia</i> spp./ <i>Leptotrichia</i> spp./ <i>Fusobacterium</i> spp.	0	0 (0-5,2)	0	0	0 (0-5,7)	0 (0-7,7)	0 (0-5,7)	0 (0-7,7)
<i>Megasphaera</i> spp./ <i>Veillonella</i> spp./ <i>Dialister</i> spp	0 (0-5,2)	1,6 (0-5,7)	0 (0-3,2)	0 (0-6,0)	0 (0-4,8)	0 (0-7,4)	0 (0-5,2)	0 (0-7,4)
<i>Lachnabacterium</i> spp. / <i>Clostridium</i> spp.	0 (0-3,5)	0 (0-4,8)	0 (0-3,5)	0 (0-5,5)	0 (0-4,0)	0 (0-6,1)	0 (0-4,0)	0 (0-6,1)
<i>Mobilincus</i> spp./ <i>Corynebacterium</i> spp	0 (0-3,9)	3,5 (0-4,7)	0	0 (0-4,7)	0 (0-3,7)	0 (0-6,9)	0 (0-3,9)	0 (0-6,9)
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	0 (0-4,0)	0 (0-4,9)	0	0 (0-3,9)	0 (0-4,5)	0 (0-6,6)	0 (0-4,5)	0 (0-6,6)
<i>Atopobium vaginae</i>	0 (0-2,5)	0 (0-5,7)	0 (0-2,3)	0 (0-2,5)	0 (0-5,1)	0 (0-7,6)	0 (0-5,1)	0 (0-7,6)
<i>Candida</i> spp.	0	0 (0-4,0)	0	0 (0-5,0)	0 (0-3,7)	0 (0-6,5)	0 (3,7)	0 (0-6,5)
<i>Mycoplasma hominis</i>	0	0 (0-2,1)	0	0	0 (0-5,2)	0 (0-7,4)	0 (0-5,2)	0 (0-7,4)
<i>Ureaplasma (urealiticum+parvum)</i>	0 (0-2,6)	0 (0-4,6)	0 (0-2,1)	0 (0-5,0)	0 (0-3,8)	0 (0-5,8)	0 (0-3,8)	0 (0-5,8)

Примечание. \* - Концентрация ДНК микроорганизмов (log-трансформированное количество копий на 1 мл), медиана (минимальное-максимальное значение), n - число обследованных.

При попарном сравнении концентраций ДНК микроорганизмов/групп микроорганизмов в образцах из полости матки и отделяемого влагалища разных групп статистически достоверных различий не получено.

**Обсуждение.** Микроорганизмы являются естественными обитателями организма человека и присутствуют в огромном количестве во всех биотопах организма [11]. Около одной десятой от общего микробиома человека находится в урогенитальном тракте [12]. Считалось, что все микроорганизмы обитают только в нижней части урогенитального тракта; предполагалось, что шейка матки являлась идеальным барьером между влагалищем и верхними отделами половых путей, поддерживающим стерильность полости матки [9]. С развитием методов молекулярной диагностики стало возможным обнаружение микроорганизмов в локусах, ранее считавшихся стерильными [13]. Стало известно, что полость матки содержит малочисленные бактери-

альные сообщества, известные как микробиота с низкой биомассой, однако в этом локусе обнаруживается на  $10^2$ - $10^4$  бактерий меньше, чем во влагалище [14].

В настоящем исследовании бактериальная ДНК в образцах отделяемого влагалища выявлена в диапазоне от  $10^{5,0}$  до  $10^{8,4}$  (медиана  $10^{6,9}$ ) ГЭ/образец, в аспирате эндометрия - от 0 до  $10^{7,4}$  (медиана  $10^{4,2}$ ) ГЭ/образец, что согласуется с данными, полученными ранее другими исследователями [15]. При попарном сравнении бактериальной массы, выявленной из образцов отделяемого влагалища и из полости матки, практически для каждого показателя получены достоверные различия в содержании исследуемых микроорганизмов. Значимых различий не обнаружено только для *Atopobium vaginae* и *Mycoplasma hominis*, что, скорее всего, обусловлено их малой частотой выявления.

Состав микробиоты влагалища связан с акушерскими исходами [16,17]. Достаточное наличие *Lactobacillus*

spp. во влагалище способствует поддержанию состояния здоровья женщины, положительно коррелирует с исходами беременности, и напротив, изменения их количества ассоциированы с рядом гинекологических заболеваний [7,8]. До сих пор не пришли к единому мнению относительно профиля бактериальных патогенов в эндометрии матки, механизмов, с помощью которых они могут препятствовать имплантации эмбриона [18,19]. Авторы расходятся во мнениях относительно наличия и количества лактобацилл в полости матки во время имплантации эмбриона. Некоторые отмечают зависимость между количеством *Lactobacillus* spp. и репродуктивными исходами [20, 21], в то время как другие авторы эту ассоциацию не находят [22,23]. В настоящем исследовании в большинстве образцов обнаружены *Lactobacillus* spp. - у 79 (77,5%) из 102 женщин в полости матки и у 97 (95,1%) из 102 во влагалище, но в разном количестве и концентрации. Наиболее часто выявлялись *Lactobacillus crispatus* и *L. iners*, однако различий в частоте выявления разных видов лактобацилл при разных формах бесплодия нами не обнаружено. Так как все женщины, принявшие участие в исследовании, страдали бесплодием, можно утверждать, что простое наличие лактобацилл, как в полости матки, так и во влагалище, не является гарантом имплантации эмбриона для наступления успешной беременности.

Кроме *Lactobacillus* spp. в полости матки наиболее часто идентифицировали *Eubacterium* spp. (n=25, 24,5%), *Atopobium vaginae* (n=22, 21,6%), *Ureaplasma (urealiticum+parvum)* (n=17, 16,7%), *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/ Porphyromonas* spp. (n=17, 16,7%), но в меньших концентрациях, чем во влагалище, что согласуется с данными литературы [14].

Получено некоторое количество одновременно обнаруженных определенных микроорганизмов и в полости матки, и во влагалище. Техника отбора проб, использованная в исследовании, позволяет минимизировать риск контаминации, но полностью исключить его невозможно. В единичных пробах, только в полости матки обнаружены такие микроорганизмы, как *Megasphaera* spp./*Veillonella* spp./*Dialister* spp.; *Lachnobacterium* spp./*Clostridium* spp. и *Peptostreptococcus* spp. В достаточном количестве образцов, бактерии обнаружены во влагалище, и отсутствуют в пробах из полости матки.

Не получено достоверных различий при попарном сравнении концентраций ДНК микроорганизмов в образцах разных групп обследованных женщин. При разных формах бесплодия (наличие синехий или полипов в полости матки), при идиопатическом бесплодии микрофлора влагалища и эндометрия, видовой состав лактобацилл, достаточно схожи и существенно не различаются.

**Заключение.** Несмотря на растущее количество доказательств влияния микробиоты на гинекологическое здоровье и акушерские исходы, отсутствует единое мнение о составе и количестве бактериальной микрофлоры в эндометрии и во влагалище, влияющих на имплантацию эмбриона. У женщин с разными формами бесплодия в 98% проб эндометрия обнаружены микроорганизмы. Как и следовало ожидать, общая бактериальная масса в полости матки значительно ниже, чем во влагалище, и составила  $0-10^{7.4}$  (в среднем  $10^{4.2}$ ) ГЭ/образец; во влагалище общая бактериальная масса на

несколько порядков выше -  $10^{5.0}$  до  $10^{8.4}$  (в среднем  $10^{6.9}$ ) ГЭ/образец. Наиболее часто в эндометрии обнаружены *Lactobacillus* spp. (77,5%), во влагалище частота выявления лактобацилл составила 95,1%. В полости матки частота обнаружения лактобацилл достоверно ниже во II группе относительно двух других ( $p<0,05$ ). При видовой идентификации лактобацилл не выявлено различий их определения при разных формах бесплодия. Наиболее часто и во влагалище, и в полости матки женщин с бесплодием выявлялись *Lactobacillus crispatus* с частотой 77,42% и 70,97%, соответственно. Следующим видом лактобацилл по частоте обнаружения являлся вид *L. iners*, выявляемый с частотой 38,71% и 35,48% во влагалище и эндометрии, соответственно. Другие виды лактобацилл выявлялись реже.

Наиболее часто в полости матки по сравнению с вагинальным отделяемым обнаружен один вид лактобацилл (54,84% и 29,03%, соответственно), чаще - *Lactobacillus crispatus*. Два и три вида лактобацилл чаще выявлялись во влагалище, чем в полости матки. Наиболее часто в полости матки по сравнению с вагинальным отделяемым обнаружен один вид лактобацилл (54,84% и 29,03%, соответственно), чаще - *Lactobacillus crispatus*.

Настоящее исследование наряду с другими исследованиями согласуется с данными о наличии микробиоты в верхних отделах женских половых путей. Необходимо дальнейшие исследования для установления роли микробиома женских половых путей в репродукции человека.

## ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization. Infertility. Accessed on 3 April 2023. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility>.
2. Эседова А.Э., Меджидова А.М. Аденомиоз и бесплодие. Подходы к лечению. РМЖ. *Мать и дитя*. 2021; 4(2): 110-4. DOI: 10.32364/2618-8430-2021-4-2-110-114.
3. Carson S.A., Kallen A.N. Diagnosis and Management of Infertility: A Review. *JAMA*. 2021; 326(1): 65-76. DOI: 10.1001/jama.2021.4788.
4. Исламиди Д.К., Белых Н.С., Ковалев В.В., Миляева Н.М. Вклад микробиоты полости матки в развитие патологических процессов эндометрия. *Уральский медицинский журнал*. 2023; 22(1): 96-103. DOI: 10.52420/2071-5943-2023-22-1-96-103.
5. Nunn K.L., Forney L.J. Unraveling the dynamics of the human vaginal microbiome. *Yale J. Biol. Med.* 2016; 89(3): 331-7.
6. Беляева Н.Р., Будилова О.В., Савичева А.М., Тапильская Н.И., Коган И.Ю. Стабильность вагинальной микробиоты как маркер благополучия беременности. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2023; 72 (4): 71-80. DOI: 10.17816/JOWD117519.
7. Савичева А.М., Будилова О.В., Тапильская Н.И. Роль пероральных пробиотических лактобацилл в поддержании гомеостаза вагинального микробиома. *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение*. 2023; 11 (1): 33-42. DOI: 10.33029/2303-9698-2023-11-1-33-42.
8. Савичева А.М., Крысанова А.А., Шалепо К.В., Савичева Е.В., Будилова О.В., Хуснутдинова Т.А. и др. Применение метода флуоресцентной гибридизации in situ в диагностике бактериального вагиноза. *Акушерство и гинекология*. 2023; 12: 68-77. DOI: 10.18565/aig.2023.129.
9. Чаплин А.В., Ребриков Д.В., Болдырева М.Н. Микробиом человека. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2017; 2: 5-13.
10. Molina N.M., Sola-Leyva A., Saez-Lara M.J., Plaza-Diaz J., Tubić-Pavlović A., Romero B. et al. New opportunities for endometrial health by modifying uterine microbial composition: present or future? *Biomolecules*. 2020; 10(4): 593. DOI: 10.3390/biom10040593.

11. Sender R., Fuchs S., Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol.* 2016; 14(8): e1002533. DOI: 10.1371/journal.pbio.1002533.
12. Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium. The integrative human microbiome project. *Nature.* 2019; 569(7758): 641-8. DOI: 10.1038/s41586-019-1238-8.
13. Aagaard K., Ma J., Antony K.M., Ganu R., Petrosino J., Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci. Transl. Med.* 2014; 6(237): 237ra65. DOI:10.1126/scitranslmed.3008599.
14. Moreno I., Garcia-Grau I., Perez-Villaroya D., Gonzalez-Monfort M., Bahçeci M., Barrionuevo M.J. et al. Endometrial microbiota composition is associated with reproductive outcome in infertile patients. *Microbiome.* 2022; 10(1): 1. DOI: 10.1186/s40168-021-01184-w.
15. Chen C., Song X., Wei W., Zhong H., Dai J., Lan Z. et al. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat Commun.* 2017; 8(1): 875. DOI: 10.1038/s41467-017-00901-0.
16. Сняжкова, А.А., Шипицына Е.В., Будиловская О.В., Болотских В.М., Савичева А.М. Клинико-anamnestические и микробиологические предикторы невынашивания беременности. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2019; 68 (2): 59-70. DOI: 10.17816/JOWD68259-70.
17. Fettweis J.M., Serrano M.G., Brooks J.P., Edwards D.J., Girerd P.H., Parikh H.I. et al. The vaginal microbiome and preterm birth. *Nat Med.* 2019; 25(6): 1012-21. DOI: 10.1038/s41591-019-0450-2.
18. Benner M., Ferwerda G., Joosten I., van der Molen R.G. How uterine microbiota might be responsible for a receptive, fertile endometrium. *Hum. Reprod. Update.* 2018; 24(4): 393-415. DOI: 10.1093/humupd/dmy012.
19. Baker J.M., Chase D.M., Herbst-Kralovetz M.M. Uterine microbiota: residents, tourists, or invaders? *Front. Immunol.* 2018; 9: 208. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00208.
20. Kyono K., Hashimoto T., Nagai Y., Sakuraba Y. Analysis of endometrial microbiota by 16S ribosomal RNA gene sequencing among infertile patients: a single-center pilot study. *Reprod. Med. Biol.* 2018; 17(3): 297-306. DOI: 10.1002/rmb2.12105.
21. Moreno I., Garcia-Grau I., Bau D., Perez-Villaroya D., Gonzalez-Monfort M., Vilella F. et al. The first glimpse of the endometrial microbiota in early pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2020; 222(4): 296-305. DOI: 10.1016/j.ajog.2020.01.031.
22. Hashimoto T., Kyono K. Does dysbiotic endometrium affect blastocyst implantation in IVF patients? *J. Assist. Reprod. Genet.* 2019; 36(12): 2471-79. DOI: 10.1007/s10815-019-01630-7.
23. Riganelli L., Iebba V., Piccioni M., Illuminati I., Bonfiglio G., Neroni B. et al. Structural variations of vaginal and endometrial microbiota: hints on female infertility. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2020; 10: 350. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00350.
- Sep 30; 89(3): 331-7.
6. Belyaeva N.R., Budilovskaya O.V., Savicheva A.M., Tapil'skaya N.I., Kogan I.Yu. Stability of vaginal microbiota as a marker of pregnancy well-being. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney.* 2023; 72 (4): 71-80. DOI: 10.17816/JOWD117519. (in Russian)
7. Savicheva A.M., Budilovskaya O.V., Tapil'skaya N.I. The role of oral probiotic lactobacilli in maintaining vaginal microbiome homeostasis. *Akusherstvo i ginekologiya. novosti, mneniya, obuchenie.* 2023; 11 (1): 33-42. DOI: 10.33029/2303-9698-2023-11-1-33-42. (in Russian)
8. Savicheva A.M., Krysanova A.A., Shalepo K.V., Spasibova E.V., Budilovskaya O.V., Xusnutdinova T.A. et al. Application of fluorescent in situ hybridization in the diagnosis of bacterial vaginosis. *Akusherstvo i Ginekologiya.* 2023; (12): 68-77. DOI: 10.18565/aig.2023.129. (in Russian)
9. Chaplin A.V., Rebrikov D.V., Boldyreva M.N. The human microbiome. *Vestnik Rossiyskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta.* 2017; 2: 5-13. (in Russian)
10. Molina N.M., Sola-Leyva A., Saez-Lara M.J., Plaza-Diaz J., Tubić-Pavlović A., Romero B. et al. New opportunities for endometrial health by modifying uterine microbial composition: present or future? *Biomolecules* 2020; 10(4): 593. DOI: 10.3390/biom10040593.
11. Sender R., Fuchs S., Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol.* 2016; 14(8): e1002533. DOI: 10.1371/journal.pbio.1002533.
12. Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium. The integrative human microbiome project. *Nature.* 2019; 569(7758): 641-8. DOI: 10.1038/s41586-019-1238-8.
13. Aagaard K., Ma J., Antony K.M., Ganu R., Petrosino J., Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci. Transl. Med.* 2014; 6(237): 237ra65. DOI: 10.1126/scitranslmed.3008599.
14. Moreno I., Garcia-Grau I., Perez-Villaroya D., Gonzalez-Monfort M., Bahçeci M., Barrionuevo M.J. et al. Endometrial microbiota composition is associated with reproductive outcome in infertile patients. *Microbiome.* 2022; 10(1): 1. DOI: 10.1186/s40168-021-01184-w.
15. Chen C., Song X., Wei W., Zhong H., Dai J., Lan Z. et al. The microbiota continuum along the female reproductive tract and its relation to uterine-related diseases. *Nat. Commun.* 2017; 8(1): 875. DOI: 10.1038/s41467-017-00901-0.
16. Snyakova A.A., Shipitsyna E.V., Budilovskaya O.V., Bolotских V.M., Savicheva A.M. Anamnestic and microbiological predictors of miscarriage. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney.* 2019; 68(2): 59-70. DOI: 10.17816/JOWD68259-70. (in Russian)
17. Fettweis J.M., Serrano M.G., Brooks J.P., Edwards D.J., Girerd P.H., Parikh H.I. et al. The vaginal microbiome and preterm birth. *Nat. Med.* 2019; 25(6): 1012-21. DOI: 10.1038/s41591-019-0450-2.
18. Benner M., Ferwerda G., Joosten I., van der Molen R.G. How uterine microbiota might be responsible for a receptive, fertile endometrium. *Hum. Reprod. Update.* 2018; 24(4): 393-415. DOI: 10.1093/humupd/dmy012.
19. Baker J.M., Chase D.M., Herbst-Kralovetz M.M. Uterine microbiota: residents, tourists, or invaders? *Front. Immunol.* 2018; 9: 208. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00208.
20. Kyono K., Hashimoto T., Nagai Y., Sakuraba Y. Analysis of endometrial microbiota by 16S ribosomal RNA gene sequencing among infertile patients: a single-center pilot study. *Reprod. Med. Biol.* 2018; 17(3): 297-306. DOI: 10.1002/rmb2.12105.
21. Moreno I., Garcia-Grau I., Bau D., Perez-Villaroya D., Gonzalez-Monfort M., Vilella F. et al. The first glimpse of the endometrial microbiota in early pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2020; 222(4): 296-305. DOI: 10.1016/j.ajog.2020.01.031.
22. Hashimoto T., Kyono K. Does dysbiotic endometrium affect blastocyst implantation in IVF patients? *J. Assist. Reprod. Genet.* 2019; 36(12): 2471-9. DOI: 10.1007/s10815-019-01630-7.
23. Riganelli L., Iebba V., Piccioni M., Illuminati I., Bonfiglio G., Neroni B. et al. Structural variations of vaginal and endometrial microbiota: hints on female infertility. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2020; 10: 350. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00350.

## REFERENCES

1. World Health Organization. Infertility. Accessed on 3 April 2023. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility>.
2. Esedova A.E., Medzhidova A.M. Adenomyosis and infertility. Management strategies. *Mat' i ditya.* 2021; 4(2): 110-4. DOI: 10.32364/2618-8430-2021-4-2-110-114. (in Russian)
3. Carson S.A., Kallen A.N. Diagnosis and Management of Infertility: A Review. *JAMA.* 2021; 326(1): 65-76. DOI: 10.1001/jama.2021.4788.
4. Islamidi D.K., Belykh N.S., Kovalev V.V., Milyaeva N.M. Contribution of the microbiota of the uterine cavity to the development of pathological processes of the endometrium. *Ural'skiy meditsinskiy zhurnal.* 2023; 22(1): 96-103. DOI: 10.52420/2071-5943-2023-22-1-96-103. (in Russian)
5. Nunn K.L., Forney L.J. Unraveling the dynamics of the human vaginal microbiome. *The Yale journal of biology and medicine.* 2016

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Козлов А.В., Лямин А.В., Абрамова А.А., Шафигуллина Л.Р.

## ОЦЕНКА ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА РЕЗУЛЬТАТЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИЙ КРОВотоКА С ПОМОЩЬЮ АВТОМАТИЧЕСКИХ ГЕМОКУЛЬТИВАТОРОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 443099, Самара, Россия

*Диагностика инфекций кровотока остается актуальной проблемой системы здравоохранения. Золотым стандартом диагностики септических состояний является микробиологическое исследование крови с применением автоматических бактериологических анализаторов (гемокультиваторов). Данное исследование позволяет выделить микроорганизм для его последующей видовой идентификации, определения чувствительности к антимикробным препаратам (АМП), что определяет оптимальную терапию для пациента. Целый ряд факторов может оказать влияние на результат посева крови: кратность взятия проб, объем исследуемого материала, терапия АМП, состояние пациента в момент взятия крови на исследование, корректность преаналитического этапа, условия доставки проб в лабораторию и другие. Несомненно, следование инструкциям производителей гемокультиваторов с оптимальным выбором флаконов с питательными средами повышает качество аналитического этапа и вероятность выделения возбудителя. На сегодняшний день на рынке представлен широкий спектр автоматических анализаторов гемокультур от различных производителей, предлагающих для исследований флаконы к своим приборам с различными характеристиками. В обзоре представлена информация о принципе работы современных гемокультиваторов, результатах сравнения применения различных флаконов, способах ускоренной диагностики инфекций кровотока и неочевидных факторах, способных повлиять на результат микробиологического исследования крови. При написании обзора использовался поиск литературы по библиографическим базам данных научных публикаций РИНЦ, Pubmed, Scopus.*

**Ключевые слова:** инфекции кровотока; гемокультиваторы; культура крови; диагностика бактериемии

**Для цитирования:** Козлов А.В., Лямин А.В., Абрамова А.А., Шафигуллина Л.Р. Оценка факторов, влияющих на результаты микробиологической диагностики инфекций кровотока с помощью автоматических гемокультиваторов (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (9): 487-491.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-9-487-491>

**Для корреспонденции:** Козлов Андрей Владимирович, канд. мед. наук, зав. лабораторией молекулярной патологии Научно-образовательного профессионального центра генетических и лабораторных технологий; e-mail: a.v.kozlov@samsmu.ru

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила	09.04.2024
Принята к печати	02.07.2024
Опубликовано	00.09.2024

Kozlov A.V., Lyamin A.V., Abramova A.A., Shafigullina L.R.

## ASSESSMENT OF FACTORS INFLUENCING THE RESULTS OF MICROBIOLOGICAL DIAGNOSIS OF BLOODSTREAM INFECTIONS USING AUTOMATIC HEMOCULTIVATORS (REVIEW OF LITERATURE)

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Samara State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 443099, Samara, Russia

*Diagnosis of bloodstream infections remains an urgent problem of the healthcare system. The gold standard for the diagnosis of septic conditions is the microbiological examination of blood using automatic bacteriological analyzers (hemocultivators). This study makes it possible to isolate a microorganism for its subsequent species identification, determination of sensitivity to antibacterial drugs, which determines the optimal therapy for the patient. A number of factors can influence the result of blood culture: the frequency of sampling, the volume of the test material, antibiotic therapy, the patient's condition at the time of blood sampling, the correctness of the preanalytical stage, the conditions for sample delivery to the laboratory, and others. Undoubtedly, following the instructions of manufacturers of hemocultivators with an optimal choice of vials with nutrient media also improves the quality of the analytical stage and the probability of pathogen isolation. Today, the market offers a wide range of automatic blood culture analyzers from various manufacturers offering vials to their devices with different characteristics for research. The review provides information on the principle of operation of modern hemocultivators, the results of comparing the use of different vials, methods for accelerated diagnosis of bloodstream infections and non-obvious factors that can affect the result of microbiological blood testing. When writing the review, a literature search was used in the bibliographic databases of scientific publications of the RSCI, Pubmed, and Scopus.*

**Key words:** bloodstream infections; hemocultivators; blood culture; diagnosis of bacteremia

**For citation:** Kozlov A.V., Lyamin A.V., Abramova A.A., Shafigullina L.R. Assessment of factors influencing the results of microbiological diagnosis of bloodstream infections using automatic hemocultivators (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (9): 487-491 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-9-487-491>

**For correspondence:** Kozlov Andrey Vladimirovich, Candidate of Medical Sciences, head of the laboratory of molecular pathology of the Research and Educational Professional Center for Genetic and Laboratory Technologies; e-mail: a.v.kozlov@samsmu.ru



**Information about authors:**

Kozlov A.V., <https://orcid.org/0000-0001-9384-6854>;

Lyamin A.V., <https://orcid.org/0000-0002-5905-1895>;

Abramova A.A., <https://orcid.org/0009-0005-1378-1082>;

Shafigullina L.R., <https://orcid.org/0009-0009-2363-3701>;

**Conflict of interest.** *The authors declare absence of conflict of interests.*

**Acknowledgment.** *The study had no sponsor support.*

Received 09.04.2024

Accepted 02.07.2024

Published 00.09.2024

**Введение.** В настоящее время лабораторная служба в Российской Федерации подвергается глобальным преобразованиям, связанным с внедрением в практику новых методов исследования и оборудования, совершенствованием и оптимизацией рутинных методик, изменениями внешнеполитической и экономической ситуации. Отдельное место в лабораторной медицине занимает микробиологическая диагностика септических состояний, которая остается одной из самых актуальных проблем современной медицины [1-5]. Это связано с большим количеством факторов, способных повлиять на результат исследования, сложностями интерпретации результата анализа при контаминации, относительно долгим сроком проведения исследования, различными методами видовой идентификации микроорганизмов [6-8]. В некоторых лабораториях для видовой идентификации микроорганизмов используется метод матрично-ассоциированной времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-ToF MS), а в ряде лабораторий коммерческие биохимические тесты (например, стрипы API<sup>®</sup>, bioMeriueх, Франция). Согласно приказу Минздрава РФ от 18 мая 2021 г. № 464н «Об утверждении Правил проведения лабораторных исследований» (с изменениями и дополнениями) микробиологические лаборатории всех уровней должны быть оснащены как минимум одним автоматическим анализатором культур крови. Персонал лаборатории должен знать принцип работы гемокультиваторов, вероятные причины возникновения ошибок и следовать алгоритму проведения анализа, выполнять микроскопию всех отрицательных образцов, которая должна быть обязательным этапом исследования в повседневной работе бактериологических лабораторий для избежания получения ложноотрицательных результатов.

Гарантией достоверности получаемых результатов при диагностике бактериемии является использование стандартизированных флаконов от производителя анализатора. Применение нестандартизированных флаконов или флаконов от других производителей, не предназначенных для работы с конкретным гемокультиватором недопустимо, так как влияет на воспроизводимость результатов микробиологических исследований крови, что обусловлено рядом значимых факторов:

Принцип работы автоматических гематологических культиваторов;

Объем исследуемой крови или другого биологического материала, рекомендуемый для конкретного типа флаконов;

Состав питательных сред для анализаторов гемокультур и их объем во флаконе;

Тип и качество нейтрализаторов АМП во флаконе.

Технические характеристики флаконов: толщина стенки флакона, тип датчика и др.

**Принцип работы современных гемокультиваторов.** В современной практике при микробиологическом исследовании крови используются автоматические анализаторы гемокультур различных производителей: «ВАСТЕС<sup>™</sup> FX» (Becton Dickinson, США), VactAlert (bioMeriueх, Франция), ЮНОНА<sup>®</sup> LABSTAR 50 (SCENKER Biological Technology Co., Ltd., Китай) и др. [9-12]. Принцип работы большинства гемокультиваторов заключается в инокулировании цельной крови пациента во флаконы с жидкой питательной средой с последующим культивированием. На дне каждого флакона расположен датчик, реагирующий на повышение содержания углекислого газа, выделяющегося при наличии и размножении микроорганизмов. Для детекции сигнала с датчиков флаконов в анализаторах используются колориметрический или флюоресцентный методы. Колориметрический метод основан на оценке изменения цвета датчика, принцип флюоресцентного метода заключается в регистрации свечения детектора, содержащего флюоресцентный материал, интенсивность света прямо пропорциональна количеству микроорганизмов. В современных гемокультиваторах анализ изменения датчика флакона проводится каждые 10 минут [13-15].

**Влияние объема исследуемого материала во флаконе.** Объем исследуемой крови в каждом флаконе является одним из наиболее значимых факторов, влияющих на успешное выделение патогенов у пациентов с инфекциями кровотока [16]. Количество циркулирующих в крови взрослого пациента микроорганизмов при инфекциях кровотока составляет от 1 КОЕ/мл до 10 КОЕ/мл, поэтому рекомендуют использование оптимального количества крови для повышения эффективности выделения возбудителя [17]. Вероятность роста микроорганизмов возрастает на 3% при каждом увеличении объема исследуемой крови на 1 мл [18]. Рекомендуется увеличить результативность получения гемокультур путем использования не менее трёх сетов из флаконов для культивирования крови с внесением не менее 10 мл крови в каждый флакон в течение 24 часов. Каждый сет включает два флакона: аэробный и анаэробный. Такой способ позволяет повысить высеваемость патогенов на 98,3% и интерпретировать результат культивирования с учётом контаминации [19]. Применение данной методики требует взятия не менее 60 мл крови, что может быть ограничено по различным объективным причинам (детский возраст, анемии тяжелой степени тяжести и др.).

Важным фактором, влияющим на результат ис-

следования, является и объем питательной среды во флаконе, так как необходимо соблюдать соотношения «кровь:среда» 1:5-1:10 и выше. В руководствах и инструкциях к флаконам для современных гемокультураторов оптимальным считается соотношение 1:5-1:10. Количество питательной среды в гемокультураторах не превышает 30 мл, поэтому рекомендуемое соотношение «кровь:среда» не выполняется. Нарушение рекомендаций по соблюдению данных объемов и использование других соотношений, например 1:4, приводит к получению ложноотрицательных результатов [20].

**Влияние нейтрализаторов АМП во флаконе.** В клинической практике рекомендуется взятие крови для посева до начала антибактериальной терапии, но в большинстве случаев прервать, отменить или отложить назначение АМП не представляется возможным. В связи с этим производителями флаконов для гемокультур предусмотрено добавление в питательные среды различных субстанций для нейтрализации активности АМП, что влияет на результаты исследования [21-23]. Проведено сравнительное исследование по применению флаконов для гемокультуривирования производителей BD BACTEC (Becton Dickinson, США), используемых в качестве нейтрализующего агента шарики адсорбционных смол и Bact/ALERT (bioMérieux, Франция), добавляющих запатентованную смесь «Экосорб», содержащую активированный уголь и землю Фуллера [24]. Выявлены значительные различия по времени детекции микроорганизмов. Флаконы BD BACTEC показали наличие роста патогенов в среднем на 1,77 часа раньше, чем флаконы Bact/ALERT. Во флаконах BD BACTEC выше частота выявления *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae*. Результаты по выявлению дрожжевых грибов сопоставимы [25]. Однако в данном исследовании проводился анализ большого количества образцов крови, полученных от пациентов реанимационного отделения, у которых изначально отличались диагнозы, степень тяжести состояния, назначенные АМП и режимы их дозирования. В другом исследовании при сравнении аэробных и анаэробных флаконов Bact/ALERT предпринята попытка стандартизации подобного исследования. Авторы использовали одинаковые объемы донорской крови для каждого флакона и суспензии с определенным содержанием КОЕ микроорганизмов контрольных штаммов Американской коллекции типовых культур (ATCC), и рассчитанные концентрации АМП. По результатам исследования сравнивали свойства сорбентов флаконов Bact/ALERT и BD BACTEC. Отмечено, что нейтрализация гентамицина, ципрофлоксацина, пиперациллина/тазобактама оказалась с одинаковой эффективностью в обеих системах, нейтрализация ванкомицина и цефепима была активнее во флаконах Bact/ALERT [26].

Использование различных сорбентов во флаконах для гемокультур влияет на проведение микроскопического исследования. Древесный уголь, входящий в состав нейтрализатора АМП во флаконах Bact/ALERT усложняет проведение микроскопии по Граму при исследовании мазков материала «кровь-среда», в частности, дифференцировку грамположительных бактерий и дрожжевых грибов, что снижает чувствительность метода [26].

Использование флаконов с лизис-агентами приводит к выделению дополнительных питательных веществ для микроорганизмов и высвобождению фагоцитированных патогенов (BD BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F) [27]. В данных флаконах не предусмотрено добавление нейтрализаторов АМП. В результате лизиса эритроцитов и лейкоцитов в питательную среду высвобождается некоторое количество субстратов, часть из которых является питанием, а часть оказывает противоположный ингибирующий эффект на рост бактерий и грибов.

**Влияние автоматической системы загрузки и выгрузки флаконов.** Сохранение стабильной температуры в период культивирования является фактором, влияющим на время детекции роста микроорганизмов. Проведенное исследование по сравнению двух аппаратов для культивирования крови от одного производителя Bact/ALERT Virtuo и Bact/Alert 3D (bioMérieux, Франция) показало преимущество закрытой системы Bact/ALERT Virtuo с автоматической загрузкой и выгрузкой флаконов. Медиана времени детекции роста оказалась меньше для некоторых тестируемых штаммов *Staphylococcus aureus* ( $n=38$ ; 14,3 часа против 16,0 часов,  $p=0,021$ ) и *Escherichia coli* ( $n=117$ ; 10,4 часа против 11,0 часов,  $p<0,001$ ) [28]. Сопоставимые результаты получены в других подобных исследованиях, где помимо различий по времени обнаружения в крови *S. aureus* и *E. coli*, отмечено сокращение медианы времени выявления патогенов рода *Enterococcus* на 2 часа и труднокультивируемых анаэробных бактерий *Fusobacterium nucleatum* более, чем на сутки [29,30]. Полученные различия авторы связывают с закрытой системой гемокультуратора Bact/ALERT Virtuo, позволяющей минимизировать рабочие операции, проводимые вручную и сохранить постоянство температуры культивирования в диапазоне 35-37 °С.

**Влияние на возможности применения ускоренной идентификации микроорганизмов при инфекциях кровотока.** Одной из актуальных проблем диагностики инфекций кровотока являются сроки проведения микробиологического исследования. Появление и внедрение в рутинную практику бактериологических лабораторий MALDI-ToF масс-спектрометрии, как метода видовой идентификации микроорганизмов, позволило значительно сократить время анализа. При септических состояниях назначение этиотропной терапии повышает вероятность выживаемости пациента, а данный метод требует предварительного накопления культур на плотных питательных средах. Возможно использование методик по ускоренной идентификации возбудителей инфекций кровотока в соответствии с протоколами, предлагаемыми производителями масс-спектрометров [31-33]. Данные методики предлагают идентификацию возбудителя из материала «кровь:среда» флаконов с ростом при помощи метода масс-спектрометрии «напрямую», без субкультивирования на плотные питательные среды [34]. Данный подход позволяет значительно сократить сроки исследования. Авторами получены идентичные результаты по идентификации возбудителей инфекций кровотока у пациентов многопрофильного стационара с использованием автоматических анализаторов гемокультур Bact/Alert 3D 60 (bioMérieux, Франция) и ЮНОНА®LABSTAR 100 (SCENKER Biological Technology Co., Ltd., Китай). Ре-

зультаты и время культивирования патогенов оказались одинаковыми, но при проведении ускоренной идентификации получены следующие различия. При исследовании надосадочной жидкости флаконов анализатора ЮНОНА®LABSTAR 100 успешно идентифицировано 76%, и с применением осадка - 88% гемокультур. При использовании надосадочной жидкости флаконов Bact/Alert 3D 60 это показатель составил 69% и 83% гемокультур - для осадка [35].

**Использование флаконов различных производителей.** При анализе данных литературы можно сделать вывод о получении сопоставимых результатов исследования гемокультур по многим параметрам при сравнении различных типов флаконов от разных производителей. В связи с этим у производителей возникает вопрос возможности использования флаконов различных производителей с одним гемокультиватором или создания «универсальных» флаконов для гемокультур, что теоретически и практически недопустимо.

**Заключение.** Оптимизация диагностики инфекций кровотока остается важной задачей лабораторной службы. На сегодняшний день на рынке производителями представлены различные гемокультиваторы с вариативными наборами флаконов для них (аэробные, анаэробные, детские и др.). При анализе данных литературы можно отметить, что в большинстве случаев при сравнении автоматических бактериологических анализаторов и флаконов от разных производителей получаемые результаты посева крови сопоставимы. Одинаковые результаты по выявлению монокультуры получили при использовании анализаторов Bact/Alert 3D 60 и ЮНОНА®LABSTAR 100 (98,6%). Выделение микроорганизмов из флаконов BACTEC PLUS и Bact/Alert FA получили в 95,1% и 96,9% случаев, соответственно [24,25,34,36]. Результаты некоторых исследований показывают влияние на результат выделения возбудителей из крови таких факторов, как объем материала во флаконе, тип нейтрализатора АМП, состав питательной среды, колебания температуры при культивировании образцов крови, тип системы гемокультиватора [37-39]. При выборе новых гемокультиваторов отечественного или импортного производителя для практической работы необходимо учитывать некоторые отрицательные стороны уже известных и апробированных гемокультуральных систем.

ЛИТЕРАТУРА (ПП 1-8, 11-16, 18-29, 31-33, 36-39 СМ. REFERENCES)

9. Куцевалова О.Ю., Козел Ю.Ю., Алавердян А.И., Гусак Д.А. Анализ этиологии структуры инфекций кровотока с использованием автоматического бактериологического анализатора Юнона® Лабстар. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 67(2): 101-5. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-2-101-105.

10. Боронина Л.Г., Саматова Е.В., Кукушкина М.П., Панова С.А., Устюгова С.С. Внутривлабораторный контроль качества питательных сред для автоматического бактериологического анализатора ЮНОНА® Labstar 50. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66(2): 110-14. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-2-110-114.

17. Каргальцева Н.М., Кочеровец В.И., Миронов А.Ю., Борисова О.Ю. Метод получения гемокультуры при диагностике инфекции кровотока. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(3): 185-90. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-3-185-190.

30. Попов Д.А., Овсенко С.Т., Вострикова Т.Ю. Экспресс-идентификация положительных гемокультур с помощью метода прямой MALDI-TOF-масс-спектрометрии. *Анестезиология и реаниматология*. 2015; 60(5): 71-5.

34. Халиулин А.В., Лямин А.В., Гусякова О.А., Козлов А.В., Балдина О.А. Способ прободподготовки для ускоренной идентификации микроорганизмов из положительных гематологических культур. Патент РФ № 2766185; 2022.

35. Халиулин А.В. Оценка аналитических характеристик культурального исследования крови и ускоренной идентификации микроорганизмов при инфекциях кровотока. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2022; 3: 21-9. DOI: 10.14427/jipai.2022.3.21.

REFERENCES

1. Jaramillo-Bustamante J.C., Piñeres-Olave B.E., González-Dambrauskas S. SIRS or not SIRS: Is that the infection? A critical review of the sepsis definition criteria. *Boletín medico del Hospital Infantil de Mexico*. 2020; 77(6): 293-302. DOI: 10.24875/BMHIM.20000202.

2. Qiu X., Lei Y.P., Zhou R.X. SIRS, SOFA, qSOFA, and NEWS in the diagnosis of sepsis and prediction of adverse outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Expert review of anti-infective therapy*. 2023; 21(8): 891-900. DOI: 10.1080/14787210.2023.2237192.

3. Chand S., Kumar N., Mawari G., Sarkar S., Daga M.K., Raghu R.V. et al. Systemic inflammatory response syndrome criteria (SIRS) and sepsis 3 criteria for assessing outcomes in sepsis: A prospective observational study. *Lung India: official organ of Indian Chest Society*. 2023; 40(3): 200-04. DOI: 10.4103/lungindia.lungindia\_400\_22.

4. Nguyen P.H., Fay K.A., English J.M., Gill H.S. Serial measurements of SIRS and SEP scores to identify unique phenotypes of sepsis. *Internal and emergency medicine*. 2024; 19(4): 1099-1107. DOI: 10.1007/s11739-023-03512-4.

5. Rincon T.A., Raffa J., Celi L.A., Badawi O., Johnson A.E.W., Pollard T. et al. Evaluation of evolving sepsis screening criteria in discriminating suspected sepsis and mortality among adult patients admitted to the intensive care unit. *International journal of nursing studies*. 2023; 145: 104529. DOI: 10.1016/j.ijnurstu.2023.104529.

6. Falagas M.E., Ierodiakonou V., Alexiou V.G. Clinical practice of obtaining blood cultures from patients with a central venous catheter in place: an international survey. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2009; 15(7): 683-6. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.02784.x

7. Wen H., Wang W., Xie S., Sun Q., Liang Y., Wen B. et al. Effects of Blood Culture Aerobic/Anaerobic Bottle Collection Patterns from Both Sides of the Body on Positive Blood Culture Rate and Time-to-Positivity. *Infection and drug resistance*. 2022; 15: 2995-3004. DOI: 10.2147/IDR.S358675.

8. Ombelet S., Natale A., Ronat J.B., Kesteman T., Vandenberg O., Jacobs J. et al. Biphasic versus monophasic manual blood culture bottles for low-resource settings: an in-vitro study. *The Lancet Microbe*. 2022; 3(2): e124-e132. DOI: 10.1016/S2666-5247(21)00241-X.

9. Kutsevalova O.Yu., Kozel Yu.Yu., Alaverdyan A.I., Gusak D.A. Analysis of the etiology of the structure of bloodstream infections using the automatic bacteriological analyzer Yunon® Labstar. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2022; 67(2): 101-5. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-2-101-105. (in Russian)

10. Boronina L.G., Samatova E.V., Kukushkina M.P., Panova S.A., Ustyugova S.S. In-laboratory quality control of nutrients for automatic bacteriology analyzer YUNON® Labstar 50. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2021; 66(2): 110-4. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-2-110-114. (in Russian)

11. Ulrich P.S., Bastian I.N., Chen D.J. Clinical Significance of BD Bactec FX Blood Culture Incubation Beyond 96 Hours (4 Days). *Journal of clinical microbiology*. 2022; 60(7): e0054922. DOI: 10.1128/jcm.00549-22.

12. Amano M., Matsumoto M., Sano S., Oyama M., Nagumo H., Watanabe-Okochi N. et al. Characteristics of False-Positive Alarms in the Bact/Alert 3D System. *Microbiology spectrum*. 2022; 10(3): e0005522. DOI: 10.1128/spectrum.00055-22.

13. Jashari R., Vanzebroeck S., Petit P., Rodriguez-Villalobos H., Zahra S., Ben Said N. et al. The BD BACTEC FX blood culture system with

- the gentlemacs dissociator is suitable for sterility testing of heart valve and vascular allografts-A validation study. *Cell and tissue banking*. 2021; 22(3): 453-66. DOI: 10.1007/s10561-020-09893-6.
14. Udayan U., Dias M. Evaluation of BACTEC™ blood culture system for culture of normally sterile body fluids. *Indian journal of critical care medicine: peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine*. 2014; 18(12): 829-30. DOI: 10.4103/0972-5229.146331.
  15. Mazzulli T., Ratkov D., Guglielmin K., Gandhi B., Remington R., Birch R. et al. Impact of Implementation of BacT/Alert Virtuo on Blood Culture Time to Positivity in Sepsis Patients. *Microbiology spectrum*. 2023; 11(2): e0500322. DOI: 10.1128/spectrum.05003-22
  16. Kim S.C., Kim S., Lee D.H., Choi S.R., Kim J.S. Effect of blood volume in standard anaerobic blood culture bottles of the BacT/ALERT 3D system used for the detection of pathogens and time to detection. *PLoS One*. 2015; 10(2): e0116728. DOI: 10.1371/journal.pone.0116728.
  17. Kargaltseva N.M., Kocherovets V.I., Mironov A.Y., Borisova O.Y. Method for obtaining a blood culture in the diagnosis of bloodstream infection. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2020; 65(3): 185-90. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-3-185-190. (in Russian)
  18. Bouza E., Sousa D., Rodríguez-Crèixems M., Lechuz J.G., Muñoz P. Is the volume of blood cultured still a significant factor in the diagnosis of bloodstream infections? *Journal of clinical microbiology*. 2007; 45(9): 2765-9. DOI: 10.1128/JCM.00140-07.
  19. Lee A., Mirrett S., Reller L.B., Weinstein M.P. Detection of bloodstream infections in adults: how many blood cultures are needed? *Journal of clinical microbiology*. 2007; 45(11): 3546-8. DOI: 10.1128/JCM.01555-07.
  20. Ntusi N., Aubin L., Oliver S., Whitelaw A., Mendelson M. Guideline for the optimal use of blood cultures. *South African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde*. 2010; 100(12): 839-43. DOI: 10.7196/samj.4217
  21. Mueller-Premru M., Jeverica S., Papst L., Nagy E. Performance of two blood culture systems to detect anaerobic bacteria. Is there any difference? *Anaerobe*. 2017; 45: 59-64. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2017.03.
  22. Lovern D., Katzin B., Johnson K., Broadwell D., Miller E., Gates A. et al. Antimicrobial binding and growth kinetics in BacT/ALERT® FA Plus and BACTEC® Aerobic/F Plus blood culture media. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2016; 35(12): 2033-6. DOI: 10.1007/s10096-016-2759-9.
  23. Chen I.H., Nicolaou D.P., Kuti J.L. Isolation of Gram-negative bacteria from aerobic blood culture bottles containing antibiotic binding resins after exposure to concentrations of  $\beta$ -lactams and fluoroquinolones. *Journal of clinical microbiology*. 2019; 57(10): e00849-19. DOI: 10.1128/JCM.00849-19.
  24. Flayhart D., Borek A.P., Wakefield T., Dick J., Carroll K.C. Comparison of BACTEC PLUS blood culture media to BacT/Alert FA blood culture media for detection of bacterial pathogens in samples containing therapeutic levels of antibiotics. *Journal of clinical microbiology*. 2007; 45(3): 816-21. DOI: 10.1128/JCM.02064-06.
  25. Zadroga R., Williams D.N., Gottschall R., Hanson K., Nordberg V., Deike M. et al. Comparison of 2 blood culture media shows significant differences in bacterial recovery for patients on antimicrobial therapy. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2013; 56(6): 790-7. DOI: 10.1093/cid/cis1021.
  26. Mitteregger D., Barousch W., Nehr M., Kundi M., Zeitlinger M., Makristathis A. et al. Neutralization of antimicrobial substances in new BacT/Alert FA and FN Plus blood culture bottles. *Journal of clinical microbiology*. 2013; 51(5): 1534-40. DOI: 10.1128/JCM.00103-13.
  27. Mueller-Premru M., Jeverica S., Papst L., Nagy E. Performance of two blood culture systems to detect anaerobic bacteria. Is there any difference? *Anaerobe*. 2017; 45: 59-64. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2017.03.006.
  28. Kim S.C., Lee S., Kim S., Cho O.H., Park H., Yu S.M. Comparison of Clinical Performance Between BacT/Alert Virtuo and BacT/Alert 3D Blood Culture Systems. *Annals of laboratory medicine*. 2019; 39(3): 278-83. DOI: 10.3343/alm.2019.39.3.278.
  29. Jacobs M.R., Mazzulli T., Hazen K.C., Good C.E., Abdelhamed A.M., Lo P. et al. Multicenter Clinical Evaluation of BacT/Alert Virtuo Blood Culture System. *Journal of clinical microbiology*. 2017; 55(8): 2413-21. DOI: 10.1128/JCM.00307-17.
  30. Totty H., Ullery M., Spontak J., Viray J., Adamik M., Katzin B. et al. A controlled comparison of the BacT/ALERT®3D and VIRTUO™ microbial detection systems. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2017; 36(10): 1795-800. DOI: 10.1007/s10096-017-2994-8.
  31. Popov D.A., Ovseenko S.T., Vostrikova T.Yu. Rapid identification of positive blood cultures using direct MALDI-ToF mass spectrometry. *Anesteziologiya i reanimatologiya*. 2015; 60 (5): 71-5. (in Russian)
  32. Christner M., Rohde H., Wolters M., Sobottka I., Wegscheider K., Aepfelbacher M. Rapid identification of bacteria from positive blood culture bottles by use of matrix-assisted laser desorption-ionization time of flight mass spectrometry fingerprinting. *Journal of clinical microbiology*. 2010; 48(5): 1584-91. DOI: 10.1128/JCM.01831-09.
  33. Jeverica S., Nagy E., Mueller-Premru M., Papst L. Sample preparation method influences direct identification of anaerobic bacteria from positive blood culture bottles using MALDI-ToF MS. *Anaerobe*. 2018; 54: 231-5. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2018.05.003.
  34. Khaliulin A.V., Lyamin A.V., Gussyakova O.A., Kozlov A.V., Baldina O.A. Sample preparation method for accelerated identification of microorganisms from positive hematological cultures. Patent RF № 2766185; 2022. (in Russian)
  35. Khaliulin A.V. Evaluation of the analytical characteristics of blood culture and accelerated identification of microorganisms in bloodstream infections. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya*. 2022; 3: 21-9. DOI: 10.14427/jipai.2022.3.21. (in Russian)
  36. Choe K.W., Lim Y.K., Lee M.K. Comparison of new and old BacT/ALERT aerobic bottles for detection of *Candida* species. *PLoS One*. 2023; 18(11): e0288674. DOI: 10.1371/journal.pone.0288674.
  37. Birkhamshaw E., Winzor G. Increasing the volume of blood received in adult paired blood culture bottles at a regional public health laboratory: results of a quality improvement project to optimise the diagnosis of bacteraemia. *Infection prevention in practice*. 2019; 1(1): 100007. DOI: 10.1016/j.infpip.2019.100007.
  38. Klingspor L., Muhammed S.A., Ozenci V. Comparison of the two blood culture systems, Bactec 9240 and BacT/Alert 3D, in the detection of *Candida* spp. and bacteria with polymicrobial sepsis. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2012; 31(11): 2983-7. DOI: 10.1007/s10096-012-1650-6
  39. Ye H., Su F.F., Cui X.Y., Guo X.X., Zhu T.Y., Kong D.Y. et al. Evaluation of Different Blood Culture Bottles for the Diagnosis of Bloodstream Infections in Patients with HIV. *Infectious diseases and therapy*. 2023; 12(11): 2611-20. DOI: 10.1007/s40121-023-00883-1.