ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

ВЕСЦІ
НАЦЫЯНАЛЬНАЙ АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК. 2021. Том 18, № 4

ИЗВЕСТИЯ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК. 2021. Том 18, № 4

Журнал основан в 2004 г.

Выходит четыре раза в год

Учредитель – Национальная академия наук Беларуси

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь,
свидетельство о регистрации № 393 от 18 мая 2009 г.

Журнал входит в Перечень научных изданий Республики Беларусь
для опубликования результатов диссертационных исследований,
включен в международную базу данных Scopus и в базу данных Российского индекса
научного цитирования (РИНЦ)

Главный редактор

Николай Сергеевич Сердюченко –
Отделение медицинских наук Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

Редакционная коллегия

О. О. Руммо (*заместитель главного редактора*) – Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии, Минск, Республика Беларусь
В. Г. Колосовская (*ведущий редактор журнала*)
Ф. И. Висмонт – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
М. А. Герасименко – Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии, Минск, Республика Беларусь
С. В. Губкин – Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
Г. Л. Гуревич – Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии, Минск, Республика Беларусь
Ю. Е. Еременко – Республиканский научно-практический центр оториноларингологии, Минск, Республика Беларусь
С. Л. Кабак – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

Н. П. Канунникова – Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, Республика Беларусь
С. А. Красный – Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова, Минск, Республика Беларусь
Н. П. Митьковская – Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Республика Беларусь
А. Г. Мойсеёнок – Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, Гродно, Республика Беларусь
С. П. Рубникович – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
И. Н. Семененя – Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
Р. Р. Сидорович – Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Республика Беларусь
А. В. Строцкий – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
А. В. Сукало – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
Л. П. Титов – Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь

Редакционный совет

Эдуардас Алекнавичиус – Национальный институт рака, Вильнюс, Литовская Республика
Ю. В. Вороненко – Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, Киев, Украина
Марк М. Ван Гулле – Университет Лёвена, Лёвен, Королевство Бельгия
Драган Дьюрич – Институт медицинской физиологии Ричарда Бьюриана Университета Белграда, Белград, Республика Сербия
Т. П. Клюшник – Научный центр психического здоровья, Москва, Российская Федерация
В. А. Кульчицкий – Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
Марк-Антуан Кусто – Анжерский университет, Анже, Французская Республика
А. И. Мартынов – Медицинский центр Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Российская Федерация
Н. Д. Савенкова – Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия, Санкт-Петербург, Российская Федерация
В. И. Стародубов – Российская академия наук, Москва, Российская Федерация
М. В. Угрюмов – Институт биологии развития имени Н. К. Кольцова Российской академии наук, Москва, Российская Федерация
И. А. Чешик – Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси, Гомель, Республика Беларусь

Адрес редакции:
ул. Академическая, 1, к. 119, 220072, г. Минск, Республика Беларусь.
Тел.: + 375 17 272-19-19; e-mail: medvesti@mail.ru.
Сайт: vestimed.belnauka.by.

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ.
Серия медицинских наук. 2021. Том 18, № 4
Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор *В. Г. Колосовская*
Компьютерная верстка *И. В. Счеснюк*

Подписано в печать 08.11.2021. Выход в свет 26.11.2021. Формат 60×84 $^{1}/_{8}$. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 16,4. Тираж 46 экз. Заказ 246.
Цена номера: индивидуальная подписка – 12,51 руб., ведомственная подписка – 29,60 руб.

Издатель и полиграфическое исполнение:
Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом «Беларуская навука».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий
№ 1/18 от 02.08.2013. ЛП № 02330/455 от 30.12.2013. Ул. Ф. Скорины, 40, 220141, г. Минск, Республика Беларусь

© РУП «Издательский дом «Беларуская навука»,
Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук, 2021

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

PROCEEDINGS
OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

MEDICAL SERIES, 2021, vol. 18, no. 4

The Journal was founded in 2004

Issued four times a year

Founder is the National Academy of Sciences of Belarus
The journal is registered on May 18, 2009 by the Ministry of Information of the Republic of Belarus in the State Registry of Mass Media, reg. no. 393

The Journal is included in The List of Journals for Publication of the Results of Dissertation Research in the Republic of Belarus, in the Scopus international database and in the Russian Science Citation Index (RSCI) database

E d i t o r - i n - C h i e f

Nikolai S. Serdiuchenko – Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

E d i t o r i a l B o a r d

Oleg O. Rummo (*Associate Editor-in-Chief*) – Minsk Scientific-Practical Center of Surgery, Transplantation and Hematology, Minsk, Republic of Belarus
Valentina G. Kolosovskaya (*Managing Editor*)
Yulia E. Eremenko – Republican Center for Research and Practice in Otolaryngology, Minsk, Republic of Belarus
Mikhail A. Gerasimenko – Republican Scientific-Practical Center of Traumatology and Orthopedics, Minsk, Republic of Belarus
Gennady L. Gurevich – Republican Scientific and Practical Center of Pulmonology and Tuberculosis, Minsk, Republic of Belarus
Siarhei V. Hubkin – Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
Sergey L. Kabak – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
Nina P. Kanunnikova – Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Republic of Belarus
Siarhei A. Krasny – N. N. Alexandrov National Cancer Centre, Minsk, Republic of Belarus
Natalya P. Mitkovskaya – Republican Scientific and Practical Center "Cardiology", Minsk, Republic of Belarus
Andrey G. Moiseenok – Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus
Sergey P. Rubnikovich – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
Igor N. Semenenya – Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus
Ryszard R. Sidorovich – Republican Research and Practical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk, Republic of Belarus

Alexander Strotsky – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
Alexander Sukalo – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
Leonid P. Titov – Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus
Frantishek I. Vismont – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

E d i t o r i a l C o u n c i l

Eduardas Aleknavicius – National Cancer Institute, Vilnius, Republic of Lithuania
Igor A. Cheshik – Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Republic of Belarus
Mark-Antoine Custaud – University of Angers, Angers, French Republic
Dragan Djuric – Richard Buryan Medical Physiology Institute of the University of Belgrade, Belgrade, Republic of Serbia
Mark M. Van Hulle – University of Leuven, Leuven, Kingdom of Belgium
Tatiana P. Klyushnik – Mental Health Research Center, Moscow, Russian Federation
Vladimir A. Kulchitsky – Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
Anatoly I. Martynov – Medical Center of the Administration of the President of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation
Nadezhda D. Savenkova – St. Petersburg State Pediatric Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation
Vladimir I. Starodubov – Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
Mikhail V. Ugryumov – Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation
Yuri V. Voronenko – National Medical Academy of Postgraduate Education named after P. L. Shupik, Kyiv, Ukraine

Address of the Editorial Office:
1, Akademicheskaya Str., room 119, 220072, Minsk, Republic of Belarus.
Phone: + 375 17 272-19-19; e-mail: medvesti@mail.ru.
Website: vestimed.belnauka.by.

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS.
Medical series, 2021, vol. 18, no. 4.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor *V. G. Kolosovskaya*
Computer imposition *I. V. Schasniuk*

It is sent of the press 08.11.2021. Appearance 26.11.2021. Format 60×84 $^{1}/_{8}$. Offset paper. The press digital.
Printed pages 14.88. Publisher's signatures 16.4. Circulation 46 copies. Order 246.
Number price: individual subscription – 12.51 byn., departmental subscription – 29.60 byn.

Publisher and printing execution:
Republican unitary enterprise "Publishing House "Belaruskaya Navuka"
Certificate on the state registration of the publisher, manufacturer, distributor of printing editions No. 1/18 dated August 2, 2013. License for the press No. 02330/455 dated December 30, 2013. Address: 40, F. Scorina Str., Minsk, 220141, Republic of Belarus.

© RUE "Publishing House "Belaruskaya Navuka",
Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series, 2021

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

ЗМЕСТ

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

Чепелева Е. Н., Висмонт Ф. И. Клетки Купфера в регуляции содержания холестерина в печени и липопротеинах крови, уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови и температуры тела у крыс с экспериментальным перитонитом 391

Прилуцкая В. А., Сукало А. В., Гончарик А. В. Уровни миокина иризин и адипоцитокинов в сыворотке крови у маловесных доношенных детей при рождении 402

Каленчиц Т. И., Кабак С. Л., Кореневская И. В. Легочный фиброз как исход COVID-19 пневмонии 413

Астроўскі А. А., Радута А. Ф., Бакуновіч А. А., Ярашэнка Ю. У., Шурыберка А. У., Шатрова В. А., Бука В. У., Семяненя І. М. Асаблівасці прыжыўлення і адрынання вушных алатрансплантатаў у лабараторных пацукоў 422

Тихомирова Е. А., Зудина И. В., Слажнева Е. С., Орехова Л. Ю., Денисова Ю. Л., Рубникович С. П., Лобода Е. С., Атрушкевич В. Г. Изучение корреляционной связи между клиническими проявлениями воспалительных заболеваний пародонта и микробиомом пародонтопатогенной микрофлоры у молодых представителей смешанной популяции Европейского региона 433

Таганович А. Д., Ковганко Н. Н., Прохорова В. И., Державец Л. А., Колб А. В., Мурашко Д. И. Диагностические модели немелкоклеточного рака легкого на основе определения цитокинов и их рецепторов в крови 445

Амвросьева Т. В., Бельская И. В., Богуш З. Ф., Поклонская Н. В., Колтунова Ю. Б., Казинец О. Н. Характеристики и особенности формирования гуморального иммунитета после иммунизации вакцинами «Спутник V» и Vero Cell 456

Рушай А. К., Скиба В. В., Лисайчук Ю. С., Мартынчук А. А., Байда М. В. Пластика дефектов костей голени с использованием кольцевых фиксаторов спице-стержневого типа 466

Хасболатова А. А., Панкратова Н. В., Постников М. А., Рубникович С. П., Репина Т. В., Колесов М. А., Денисова Ю. Л., Морозова К. М. Прогноз прорезывания третьих нижних моляров в зависимости от их положения относительно «стресс-оси» 474

Давідоўскі С. У., Ібрагімава Ж. А., Бабенка А. С., Скугарэўская М. М., Касцюк С. А., Марчук С. І., Давідоўская Я. С., Мікіцкі Ю. М. Вопыт выкарыстання малекулярна-генетычных даследаванняў для ацэнкі рызыкі самагубства (*на англ. мове*) 483

Федянин С. Д., Косинец В. А., Хрусталев Б. М., Минченя В. Т., Алексеев Ю. Г., Нисс В. С., Яцко А. С. Первый отечественный аппарат для вакуумной терапии 491

АГЛЯДЫ

Титов Л. П., Спринджук М. В. COVID-19: характеристика возбудителя, механизмы естественного и адаптивного иммунного ответа, генетическое разнообразие и распространение 497

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

CONTENTS

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

Chepeleva E. N., Vismont F. I. Kupffer cells in the regulation of the cholesterol content in the liver and the blood lipoproteins, the level of iodine-containing thyroid hormones in the blood and the body temperature in rats with experimental peritonitis 391

Prylutskaya V. A., Sukalo A. V., Goncharik A. V. Blood serum myokine irisin and adipocytokine levels in newborns small for gestational age at birth..... 402

Kalenchic T. I., Kabak S. L., Korenevskaya I. V. Pulmonary fibrosis as an outcome of COVID-19 pneumonia 413

Astrowski A. A., Raduta H. F., Bakunovich A. A., Yarashenka Yu. V., Shuryberka A. V., Shatrova V. O., Buko V. U., Semenenya I. N. Features of engraftment and rejection of ear alatransplants in laboratory rats..... 422

Tikhomirova E. A., Zudina I. V., Slazhneva E. S., Orekhova L. Yu., Denisova Yu. L., Rubnikovich S. P., Loboda E. S., Atrushkevich V. G. Study of the correlation between the clinical manifestations of the inflammatory periodontal diseases and the microbiome of periodontal pathogenic microflora in young representatives of a mixed population of the European region..... 433

Tahanovich A. D., Kauhanka N. N., Prokhorova V. I., Derzhavets L. A., Kolb A. V., Murashka D. I. Diagnostic models of non-small cell lung cancer based on determination of blood cytokines and their receptors..... 445

Amvrosieva T. V., Belskaya I. V., Bohush Z. F., Paklonskaya N. V., Kaltunova Yu. B., Kazinetz O. N. Characteristics and features of the formation of humoral immunity after immunization with Sputnik V and Vero Cell vaccines 456

Rushay A. K., Skiba V. V., Lisaichuk Yu. S., Martinchuk A. A., Baida M. V. Plasty of shin bone defects with segmental loss using ring fixators of the wire-rod type 466

Khasbolatova A. A., Pankratova N. V., Postnikov M. A., Rubnikovich S. P., Repina T. V., Kolesov M. A., Denisova Yu. L., Morozova K. M. Prediction of eruption of the lower third molars depending on their position relative to the “stress axis” 474

Davidouski S. V., Ibragimova Zh. A., Babenka A. S., Skuhareuskaya M. M., Kastsiuk S. A., Marchuk S. I., Davidouskya Ya. S., Mikitski Yu. M. Experience of using the molecular genetic studies to assess the risk of suicide... 483

Fedzianin S. D., Kosinets V. A., Khroustalev B. M., Minchenya V. T., Aliakseyeu Yu. H., Niss V. S., Yatsko A. S. First domestic apparatus for vacuum therapy..... 491

REVIEWS

Titov L. P., Sprindzuk M. V. COVID-19: pathogen characteristics, natural and adaptive immune response mechanisms, genetic diversity and distribution 497

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

УДК 616.381-002-092.4:616.36:612.397.81:577.175.44:612.56
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-391-401

Поступила в редакцию 17.06.2021
Received 17.06.2021

Е. Н. Чепелева, Ф. И. Висмонт

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

КЛЕТКИ КУПФЕРА В РЕГУЛЯЦИИ СОДЕРЖАНИЯ ХОЛЕСТЕРИНА В ПЕЧЕНИ И ЛИПОПРОТЕИНАХ КРОВИ, УРОВНЯ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ГОРМОНОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В КРОВИ И ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ПЕРИТОНИТОМ

Аннотация. Несмотря на успехи современной хирургии, достижения асептики и антисептики, достаточно широкие возможности антибактериальной, инфузионной и детоксикационной терапии, частота возникновения перитонита и летальность от него остаются на высоком уровне.

Целью исследования являлось выяснение значимости активности клеток Купфера в регуляции содержания общего холестерина в печени и липопротеинах крови, уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови и температуры тела у крыс с экспериментальным перитонитом.

Установлено, что в условиях экспериментального перитонита у крыс развивается вторичная атерогенная дислипопротеинемия и снижается уровень йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови. В изменении содержания общего холестерина в печени, общего холестерина, холестерина липопротеинов, уровня йодсодержащих гормонов в крови и температуры тела при перитоните участвуют клетки Купфера и монооксид азота. Снижение активности клеток Купфера при перитоните, по-видимому, играет компенсаторную роль, препятствуя развитию вторичной дислипопротеинемии.

Ключевые слова: экспериментальный перитонит, сепсис, клетки Купфера, холестерин, липопротеины, йодсодержащие гормоны, щитовидная железа, печень, температура тела

Для цитирования: Чепелева, Е. Н. Клетки Купфера в регуляции содержания холестерина в печени и липопротеинах крови, уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови и температуры тела у крыс с экспериментальным перитонитом / Е. Н. Чепелева, Ф. И. Висмонт // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 4. – С. 391–401. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-391-401

Elena N. Chepeleva, Frantishek I. Vismont

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

KUPFFER CELLS IN THE REGULATION OF THE CHOLESTEROL CONTENT IN THE LIVER AND THE BLOOD LIPOPROTEINS, THE LEVEL OF IODINE-CONTAINING THYROID HORMONES IN THE BLOOD AND THE BODY TEMPERATURE IN RATS WITH EXPERIMENTAL PERITONITIS

Abstract. Despite the modern surgery progress and success, the achievements of asepsis and antisepsis, as well as rather broad possibilities of antibacterial, infusion and detoxification therapy, the incidence of peritonitis and mortality from it remain at a high level.

The aim of the study was to clarify the significance of the activity of Kupffer cells in the regulation of total cholesterol in the liver and blood lipoproteins, the level of iodine-containing thyroid hormones in the blood and the body temperature in rats with experimental peritonitis.

It was found that in the conditions of experimental peritonitis in rats, secondary atherogenic dyslipoproteinemia develops and the level of iodine-containing thyroid hormones in the blood decreases. Kupffer cells and nitrogen monoxide are involved in the changes in the content of total cholesterol, lipoproteins, the level of iodine-containing hormones in the blood plasma and the body temperature during peritonitis. A decrease in the activity of Kupffer cells in peritonitis, apparently, plays a compensatory role and prevents the development of secondary dyslipoproteinemia.

© Чепелева Е. Н., Висмонт Ф. И., 2021

Keywords: experimental peritonitis, cecal ligation and puncture, sepsis, Kupffer cells, cholesterol, lipoproteins, iodine-containing hormones, thyroid gland, liver, body temperature

For citation: Chepeleva E. N., Vismont F. I. Kupffer cells in the regulation of the cholesterol content in the liver and the blood lipoproteins, the level of iodine-containing thyroid hormones in the blood and the body temperature in rats with experimental peritonitis. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series,* 2021, vol. 18, no. 4, pp. 391–401 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-391-401

Введение. Перитонит, будучи частым и наиболее опасным осложнением острых хирургических, гинекологических заболеваний, повреждений органов брюшной полости и оперативных вмешательств на них, является широко распространенной патологией, которая представляет собой серьезную не только медицинскую, но и социальную проблему [1, 2]. Летальность при терминальных стадиях данного заболевания может достигать 50–70 % [3, 4].

В связи с этим поиск путей коррекции основных жизненных функций и обмена веществ при септических состояниях и перитоните в частности является одной из актуальных задач современной медицины.

Проведенные за последние десятилетия исследования позволили по-новому взглянуть на проблему перитонита и оценить роль печени в этом процессе [1, 5–7].

Известно, что печеночная недостаточность сопровождается значительными нарушениями обменных процессов, особое значение среди которых имеют изменения метаболизма липидов, в частности обмена липопротеинов (ЛП) сыворотки крови [6–11]. Предполагается, что холестерин (ХС) ЛП, являясь важнейшим фактором поддержания физико-химических свойств и функций клеточных мембран, основным субстратом для стероидогенеза, обеспечивает формирование компенсаторного ответа организма на инфекцию [12].

Известно, что при септических состояниях и перитоните имеет место выраженная эндотоксинемия. К настоящему времени накопилось достаточное количество фактов, свидетельствующих о значении клеток Купфера (КК) в процессах жизнедеятельности в норме и при патологии, в процессах детоксикации и элиминации эндотоксинов в печени [13–17]. Показано, что патогенные эффекты эндотоксинов на метаболизм и функции различных клеток и гепатоцитов, в частности, при перитоните связаны с усиленной продукцией КК целого ряда цитокинов, а также монооксида азота (NO) [18, 19], под воздействием которых происходят изменения в системе нейроэндокринной регуляции органов и систем [13, 15, 17].

Рядом исследователей выявлено, что печень участвует в метаболизме гормонов и физиологически активных веществ, а также в регуляции обмена ХС ЛП сыворотки крови и, в частности, гормонов щитовидной железы, обеспечивая поддержание их оптимальной концентрации в крови [20, 21].

Однако, несмотря на то что исследования по выяснению значимости функционального состояния печени в патогенезе септических состояний многочисленны, значимость активности клеток КК в процессах изменения липидного профиля, метаболизма ХС ЛП крови, уровня йодсодержащих гормонов в плазме крови и температуры тела при перитоните остается во многом не изученной.

Цель исследования – выяснить значимость активности клеток Купфера в регуляции содержания общего холестерина в печени и липопротеинов в крови, уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в плазме крови и температуры тела у крыс с экспериментальным перитонитом (CLP-модель).

Материалы и методы исследования. Опыты выполнены на 108 взрослых белых крысах обоего пола массой 180–250 г. До постановки эксперимента животных адаптировали к условиям вивария. Они получали полноценный пищевой рацион в соответствии с правилами содержания лабораторных животных. Питьевой режим соответствовал принципу ad libitum.

В связи с имеющимися в литературе данными о том, что у животных в течение суток происходят значительные колебания уровня ряда гормонов и биогенных аминов в крови, которые сопровождаются изменениями в энергетическом и пластическом обмене, опыты проводили в строго определенное время (8–12 ч утра), соблюдая термонейтральные условия (20–22 °С).

Для создания экспериментального перитонита использована модель лигирования и последующего однократного пунктирования слепой кишки – CLP (cecal ligation and puncture) [22]. Для этого крысам под гексеналовым наркозом (100 мг/кг, внутрибрюшинно) производили двухсантиметровый разрез передней брюшной стенки, через который извлекали слепую кишку. Затем ниже илеоцекального клапана на кишку накладывали лигатуру и однократно пунктировали ее иглой с внешним диаметром 1,3 мм (18 gauge). Пассаж пищевых масс при этом не нарушался. По данным литературы, через 18–24 ч после CLP-операции у животных развивается тяжелый полимикробный сепсис, который сопровождается выраженной полиорганной недостаточностью [22, 23]. В качестве контроля использовали ложнооперированных (ЛО) крыс, которым под наркозом проводили разрез передней брюшной стенки без извлечения и пунктирования слепой кишки. Всем животным ушивали брюшную стенку и через 30 мин после оперативного вмешательства подкожно вводили 2,5 мл изотонического раствора хлорида натрия.

Селективную депрессию КК вызывали у животных за 12 ч до CLP-операции или ложной операции путем внутрибрюшинного введения водного раствора гадолиния хлорида ($GdCl_3$) в дозе 10 мг/кг. Считается, что $GdCl_3$ является селективным ингибитором КК [16, 17].

Декапитацию животных проводили через 24 ч после лигирования и пунктирования слепой кишки или ложной операции. Взятие для исследования крови, ткани печени у контрольных и опытных животных проводилось за максимально короткое время после декапитации. Суммарную фракцию липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) и липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) из сыворотки крови выделяли путем осаждения по методу M. Burstein, J. Samaille [24]. Для определения содержания общего ХС, ХС липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) в сыворотке крови и ХС в тканевых гомогенатах проводили экстракцию липидов по методу М. А. Креховой, М. К. Чехрановой [25]. Содержание ХС в сухих липидных экстрактах сыворотки крови оценивали с использованием реакции Либермана–Бурхарда, а содержание ХС суммарной фракции ЛПОНП + ЛПНП – по формуле ХС ЛПОНП + ЛПНП = общий ХС сыворотки крови – ХС ЛПВП.

Коэффициент атерогенности рассчитывали по следующей формуле: коэффициент атерогенности = (ХС ЛПОНП + ЛПНП)/ХС ЛПВП.

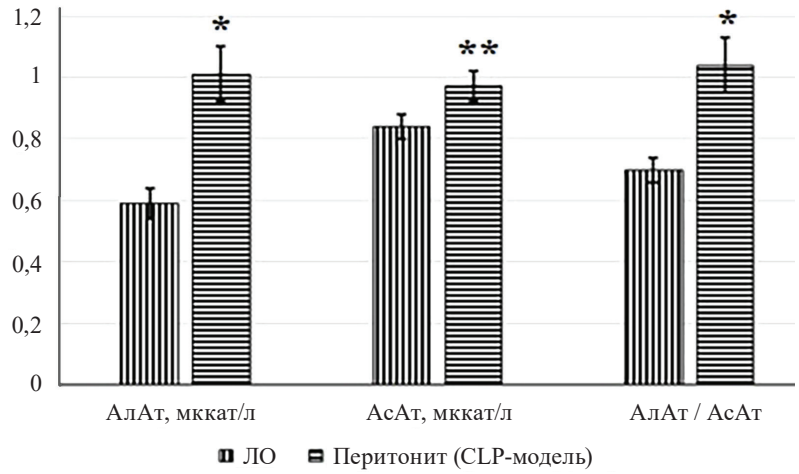
Продукцию NO определяли по суммарному уровню в плазме крови нитратов/нитритов (NO_3^-/NO_2^-) [26], содержание общего трийодтиронина (T_3) и тироксина (T_4) в плазме крови – радиоиммунологическим методом с использованием наборов реактивов РИА-T_3-СТ и РИА-T_4-СТ производства УП «ХОП ИБОХ НАН Беларуси».

Тяжесть поражения печени оценивали по изменению соотношения активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ) (АлАТ/АсАТ) в сыворотке крови, являющихся важнейшими показателями тяжести поражения печени. Активность АлАТ и АсАТ в плазме крови определяли колориметрическим динитрофенилгидрозиновым методом [27].

У всех животных с помощью электротермометра ТПЭМ-1 (НПО «Медфизприбор», Российская Федерация) измеряли ректальную температуру. Эксперименты проводили в соответствии с этическими нормами обращения с животными. Полученные цифровые данные обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики с помощью критерия Стьюдента. Все данные представляли в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего арифметического ($X \pm S_x$). Статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Опыты показали, что через 24 ч после CLP-операции у всех крыс развиваются некротические изменения в слепой кишке, отмечаются перитонит с выпотом в брюшную полость и парез кишечника, имеются выраженные признаки генерализованной воспалительной реакции: адинамия, вялость, в большинстве случаев – геморрагический конъюнктивит и диарея.

Установлено, что в условиях экспериментального перитонита через 24 ч после CLP-операции, но не у ЛО крыс, ректальная температура снижается на 1,1 °С: с 37,9 ± 0,09 до 36,8 ± 0,21 °С ($p < 0,05$; $n = 12$). Активность АлАТ и АсАТ в плазме крови животных с перитонитом через 24 ч после CLP-операции возрастала. Развитие перитонита у крыс ($n = 10$) сопровождалось повышением



Изменение активности АлАТ, АсАТ и их соотношения в сыворотке крови крыс в условиях экспериментального перитонита (CLP-модель). * – $p < 0{,}01$; ** – $p < 0{,}05$

Changes in the activity of ALT, AST and their ratio in the blood serum of rats under the experimental peritonitis conditions (CLP-model). * – $p < 0.01$; ** – $p < 0.05$

активности АлАТ в сыворотке крови по сравнению с данным показателем у ЛО животных ($n = 10$) на 71,2 % ($p < 0{,}01$): активность составляла 0,59 ± 0,05 мккат/л у ЛО крыс и 1,01 ± 0,09 мккат/л у опытных животных после CLP-операции. Активность АсАТ в плазме крови крыс в этих условиях возрастала по сравнению с ее активностью у ЛО животных на 15,5 % ($p < 0{,}05$) и составляла 0,84 ± 0,04 мккат/л у ЛО крыс ($n = 10$) и 0,97 ± 0,05 мккат/л у опытных животных ($n = 10$). Соотношение активностей АлАТ/АсАТ составляло 0,70 ± 0,04 у ЛО крыс и 1,04 ± 0,08 у животных с перитонитом (см. рисунок).

Выявлено, что содержание общего ХС в печени крыс после CLP-операции повышалось на 14,1 % ($p < 0{,}05$): у ЛО животных ($n = 10$) оно составляло 0,298 ± 0,007 мг/100 мг ткани, а у крыс с перитонитом ($n = 10$) – 0,340 ± 0,014 мг/100 мг ткани. Также имели место повышение уровня общего ХС в сыворотке крови на 23,3 % ($p < 0{,}05$) – от 2,66 ± 0,14 мМоль/л ($n = 10$) до 3,28 ± 0,11 мМоль/л ($n = 10$) и выраженные изменения в содержании ХС различных классов ЛП в сыворотке крови крыс: содержание ХС ЛПВП по сравнению с таковым у ЛО животных снижалось на 37,1 % ($p < 0{,}01$) – с 1,32 ± 0,09 мМоль/л ($n = 10$) до 0,83 ± 0,07 мМоль/л ($n = 10$), уровень ХС ЛПОНП + ЛПНП повышался на 82,8 % ($p < 0{,}001$) – от 1,34 ± 0,07 мМоль/л ($n = 10$) до 2,45 ± 0,08 мМоль/л ($n = 10$). Установлено, что в условиях перитонита имеет место возрастание коэффициента атерогенности (Ка) на 189,2 % ($p < 0{,}001$) – от 1,02 ± 0,07 ед. у ЛО крыс ($n = 10$) до 2,95 ± 0,08 ед. у опытных животных ($n = 10$). Таким образом, повышение коэффициента атерогенности обусловлено как понижением содержания ХС ЛПВП, так и, главным образом, увеличением содержания ХС суммарных фракций ЛПОНП + ЛПНП в крови, что свидетельствует о развитии вторичной атерогенной дислипопротеинемии.

Обнаружено, что в организме крыс при перитоните через 24 ч после CLP-операции имеет место снижение в плазме крови уровня T_4 на 69,7 % ($p < 0{,}05$) и содержания T_3 на 24,1 % ($p < 0{,}05$): с 48,40 ± 9,5 нМоль/л у ЛО крыс ($n = 8$) до 14,67 ± 1,6 нМоль/л у опытных животных ($n = 8$) и с 1,62 ± 0,12 нМоль/л ($n = 8$) до 1,23 ± 0,07 нМоль/л ($n = 8$) соответственно.

Выявлено, что в этих условиях у крыс изменяется содержание в плазме крови NO_3^-/NO_2^- – конечных продуктов деградации NO. Развитие перитонита у крыс приводило к повышению концентрации NO_3^-/NO_2^- в плазме крови животных на 81,8 % ($p < 0{,}05$) – от 5,27 ± 0,46 мкМоль/л у ЛО животных ($n = 8$) до 9,58 ± 1,27 мкМоль/л у крыс с перитонитом ($n = 8$).

Учитывая, что КК играют важную роль в инактивации эндотоксина бактериального происхождения и в образовании целого ряда цитокинов, а также NO [15, 18], участвующих в регуляции процессов жизнедеятельности, в частности в обмене тиреоидных гормонов и ЛП в крови [13],

можно предположить, что в выявленных изменениях тиреоидного статуса организма, обмена ЛП и температуры тела в условиях перитонита, сопровождающегося печеночной дисфункцией, могут иметь значение и КК.

Подтверждение было получено в опытах на крысах при выяснении особенностей изменения температуры тела, содержания ХС ЛП, уровня NO_3^-/NO_2^- и тиреоидных гормонов в плазме крови в условиях действия в организме животных селективного ингибитора КК $GdCl_3$.

Обнаружено, что действие в организме крыс $GdCl_3$ в дозе 10 мкг/кг (дозе, подавляющей эндотоксинобезвреживающую функцию КК) сопровождается изменением температуры тела и уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови животных. Внутрибрюшинное введение раствора $GdCl_3$ приводило через 12 ч после введения препарата к повышению температуры тела на 1,1 °С ($p < 0,05$; $n = 12$) по сравнению с контрольными животными (внутрибрюшинное введение 1,0 мл физраствора). Через 12 ч после введения препарата возрастал уровень T_3 в плазме крови крыс на 171,4 % ($p < 0,05$; $n = 8$), а концентрация T_4 в крови была на 38,9 % ($p < 0,05$; $n = 8$) ниже, чем в группе контроля. Концентрация в плазме крови NO_3^-/NO_2^- в этих условиях снижалась на 37,5 % ($p < 0,05$; $n = 8$) и составляла 3,5 ± 0,37 мкМоль/л.

Депрессия КК $GdCl_3$ ослабляла развитие характерных изменений в уровнях йодсодержащих гормонов щитовидной железы, общего ХС в печени и ЛП в плазме крови, а также в температуре тела у крыс с перитонитом (табл. 1). Опыты показали, что предварительное (за 12 ч до CLP-операции) введение крысам $GdCl_3$ в дозе 10 мг/кг не приводило к значительному снижению содержания общего T_4 в их крови по сравнению с животными контрольной группы. Содержание T_4 в плазме крови крыс опытной группы ($n = 8$) увеличилось на 302,6 % ($p < 0,01$) по сравнению с его уровнем в крови животных контрольной группы ($n = 8$), подвергнутых CLP-операции и получивших внутрибрюшинно 1,0 мл физраствора. Применение $GdCl_3$ препятствовало и практически устраняло снижение содержания T_3 у животных с перитонитом, а также приводило к менее значительному повышению уровня NO_3^-/NO_2^- в крови. Через 24 ч после CLP-операции концентрация T_3 в плазме крови крыс ($n = 8$), предварительно получивших $GdCl_3$, составила 1,58 ± 0,09 нМоль/л, а у крыс с перитонитом ($n = 8$), предварительно получивших физраствор, – 1,24 ± 0,06 мМоль/л. Уровень NO_3^-/NO_2^- в плазме крови крыс с перитонитом, получивших $GdCl_3$, по сравнению с животными с перитонитом, не получившими физраствор, был ниже на 31,8 % ($p < 0,05$) и составил 6,51 ± 1,04 мкМоль/л ($n = 8$).

Выявлено, что у крыс с перитонитом в условиях депрессии КК ($n = 10$) отмечаются менее выраженные изменения содержания общего ХС в крови и печени, ХС ЛП в крови, а также менее значимое повышение уровня АлАТ и АсАТ в плазме крови. Так, уровень общего ХС в крови и печени в этих условиях по сравнению с его уровнем у животных контрольной группы ($n = 10$), подвергшихся CLP-операции и получивших внутрибрюшинно 1,0 мл физраствора, был ниже на 22,1 и 17,1 % соответственно ($p < 0,05$). Имело место снижение по сравнению с животными контрольной группы содержания ХС ЛПОНП + ЛПНП в сыворотке крови на 39,1 % ($p < 0,01$; $n = 10$) и повышение содержания ХС ЛПВП в сыворотке крови на 25,6 % ($p < 0,01$; $n = 10$).

Температура тела у крыс с перитонитом, которым до CLP-операции предварительно внутрибрюшинно вводили $GdCl_3$ (10 мкг/кг), снижалась на 0,6 °С ($p < 0,05$; $n = 12$).

Активность АлАТ и АсАТ в плазме крови крыс опытной группы ($n = 10$) (развитие перитонита в условиях депрессии КК) по сравнению с животными с перитонитом, получившими физраствор ($n = 10$), понижалась на 25,8 и 28,6 % соответственно ($p < 0,01$).

Изменения температуры тела, содержания общего ХС в крови и печени и ХС ЛП в крови, активности АлАТ и АсАТ, уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы и нитратов/нитритов в плазме крови у крыс в эксперименте представлены в табл. 1.

Таблица 1. **Изменение температуры тела, содержания общего холестерина в крови и печени, холестерина липопротеинов крови, активности АлАТ и АсАТ, уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы и нитратов/нитритов в плазме крови крыс в эксперименте**

Table 1. **Changes in the body temperature, total cholesterol in the blood and the liver, cholesterol in blood lipoproteins, the ALT and AST activity, the level of iodine-containing thyroid hormones and nitrates/nitrites in the blood plasma in rats in the experiment**

Группа животных	Ректальная температура, °С	АлАТ, мккат/л	АсАТ, мккат/л	АлАТ/ АсАТ	Общий ХС крови, мМоль/л	Общий ХС печени, мг/100 мг ткани	ХС ЛПВП, мМоль/л	ХС ЛПОНП + ЛПНП, мМоль/л	Ка, ед.	T_4, нМоль/л	T_3, нМоль/л	NO_3^-/NO_2^-, мкМоль/л
Интактные	37,4 ± 0,07 (n = 12)	0,51 ± 0,05 (n = 10)	0,62 ± 0,04 (n = 10)	0,82 ± 0,04 (n = 10)	2,68 ± 0,10 (n = 10)	0,271 ± 0,08 (n = 10)	1,35 ± 0,08 (n = 10)	1,33 ± 0,06 (n = 10)	0,99 ± 0,05 (n = 10)	54,6 ± 5,22 (n = 8)	1,6 ± 0,11 (n = 8)	5,6 ± 0,34 (n = 8)
ЛО	37,9 ± 0,09 (n = 12)	0,59 ± 0,05 (n = 10)	0,84 ± 0,04 (n = 10)	0,70 ± 0,04 (n = 10)	2,66 ± 0,14 (n = 10)	0,298 ± 0,007 (n = 10)	1,32 ± 0,09 (n = 10)	1,34 ± 0,07 (n = 10)	1,02 ± 0,07 (n = 10)	48,40 ± 9,5 (n = 8)	1,62 ± 0,12 (n = 8)	5,27 ± 0,46 (n = 8)
Перитонит	36,8 ± 0,21 $p_{3\text{-}2} < 0{,}05^*$ (n = 12)	1,01 ± 0,09 $p_{3\text{-}2} < 0{,}01^*$ (n = 10)	0,97 ± 0,05 $p_{3\text{-}2} < 0{,}05$ (n = 10)	1,04 ± 0,08 $p_{3\text{-}2} < 0{,}01^*$ (n = 10)	3,28 ± 0,11 $p_{3\text{-}2} < 0{,}05^*$ (n = 10)	0,340 ± 0,014 $p_{3\text{-}2} < 0{,}05^*$ (n = 10)	0,83 ± 0,07 $p_{3\text{-}2} < 0{,}01^*$ (n = 10)	2,45 ± 0,08 $p_{3\text{-}2} < 0{,}01^*$ (n = 10)	2,95 ± 0,08 $p_{3\text{-}2} < 0{,}01^*$ (n = 10)	14,67 ± 1,6 $p_{3\text{-}2} < 0{,}05^*$ (n = 8)	1,23 ± 0,07 $p_{3\text{-}2} < 0{,}05^*$ (n = 8)	9,58 ± 1,27 $p_{3\text{-}2} < 0{,}05^*$ (n = 8)
Физ. р-р + перитонит	36,9 ± 0,27 (n = 12)	0,97 ± 0,11 (n = 10)	0,91 ± 0,04 (n = 10)	1,07 ± 0,06 (n = 10)	3,26 ± 0,12 (n = 10)	0,346 ± 0,011 (n = 10)	0,86 ± 0,08 (n = 10)	2,40 ± 0,09 (n = 10)	2,79 ± 0,07 (n = 10)	14,71 ± 1,7 (n = 8)	1,24 ± 0,06 (n = 8)	9,55 ± 1,23 (n = 8)
$GdCl_3$ + перитонит	36,3 ± 0,23 $p_{5\text{-}4} < 0{,}05^*$ (n = 12)	0,72 ± 0,07 $p_{5\text{-}4} < 0{,}01^*$ (n = 10)	0,65 ± 0,05 $p_{5\text{-}4} < 0{,}01^*$ (n = 10)	1,11 ± 0,06 (n = 10)	2,54 ± 0,12 $p_{5\text{-}4} < 0{,}05^*$ (n = 10)	0,287 ± 0,015 $p_{5\text{-}4} < 0{,}05^*$ (n = 10)	1,08 ± 0,11 $p_{5\text{-}4} < 0{,}01^*$ (n = 10)	1,46± 0,07 $p_{5\text{-}4} < 0{,}01^*$ (n = 10)	1,24 ± 0,09 $p_{5\text{-}4} < 0{,}01^*$ (n = 10)	44,51 ± 7,8 $p_{5\text{-}4} < 0{,}05^*$ (n = 8)	1,58 ± 0,09 $p_{5\text{-}4} < 0{,}05^*$ (n = 8)	6,51 ± 1,04 $p_{5\text{-}4} < 0{,}05^*$ (n = 8)

* Изменения достоверны по отношению к контролю.

Известно, что у людей и крыс более 2/3 циркулирующего 3,5,3′-трийодтиронина – высокоэффективного тиреоидного гормона – продуцируется в периферических органах из тироксина путем 5′-дейодирования последнего. Показано, что конверсия T_4 в T_3, происходящая в основном в печени, – одно из ведущих звеньев клеточного метаболизма тиреоидных гормонов, во многом определяющего тиреоидный статус организма [20].

Показано, что тиреоидные гормоны ингибируют окисление ХС ЛПНП, проявляя тем самым антиатерогенный эффект [21]. В некоторых исследованиях показано, что тиреоидные гормоны могут стимулировать активность ГМГ-КоА-редуктазы – ключевого фермента биосинтеза ХС и таким образом индуцировать синтез ХС [28].

Выявленные изменения уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы при перитоните в условиях поражения печени $GdCl_3$ могут быть обусловлены изменениями функционального состояния печени, ее детоксикационной и эндотоксинобезвреживающей функций, и, возможно, являются важным звеном оптимизации тиреоидного статуса организма при этом состоянии.

С целью подтверждения выдвинутого предположения представляло интерес выяснить значимость гипертиреоидного состояния, вызываемого T_3, в выявленных изменениях содержания ХС в печени и ЛП в крови, и характера формирования терморегуляторных реакций организма крыс при перитоните, вызываемом CLP-операцией.

С этой целью изучены сдвиги содержания общего ХС в крови и печени и ХС ЛП в крови, а также изменения ректальной температуры у крыс с повышенным уровнем йодсодержащих гормонов в организме при перитоните. Для этого крысам через 3 ч после оперативного вмешательства (ЛО или CLP-операции) однократно интрагастрально вводили на 1 %-ном крахмальном растворе синтетический препарат трийодтиронина гидрохлорид (Liothyronin, Berlin Chemi, Германия) в дозе 30 мкг/кг.

Установлено, что интрагастральное введение T_3 крысам через 3 ч после CLP-операции предотвращает развитие у них гипотермии. Так, если через 24 ч после CLP-операции ректальная температура снижалась с 37,9 ± 0,09 °С (n = 12) до 36,8 ± 0,21 °С (n = 12) ($p < 0,05$), то в условиях действия T_3 у крыс с перитонитом (n = 12) она составляла 37,8 ± 0,29 °С ($p < 0,05$). У крыс с перитонитом действие T_3 ослабляло вызываемое CLP-операцией снижение содержания ХС ЛПВП в крови, а также характерное для перитонита повышение уровня ХС в печени, ХС ЛПОНП + ЛПНП в крови и коэффициента атерогенности.

Так, если у крыс с экспериментальным перитонитом, получивших интрагастрально 1,0 мл 1 %-ного крахмального раствора, содержание ХС ЛПВП крови понижалось на 37,7 % ($p < 0,01$) – с 1,30 ± 0,11 мМоль/л у ЛО животных (n = 10), получивших 1 %-ный крахмальный раствор, до 0,81 ± 0,07 мМоль/л у крыс с перитонитом (n = 10), получивших 1 %-ный крахмальный раствор, то у крыс, получивших T_3 (n = 8), данный показатель по сравнению с ЛО крысами (n = 10), получившими 1 %-ный крахмальный раствор, снижался лишь на 19,2 % ($p < 0,01$) – до 1,05 ± 0,04 мМоль/л.

Развитие перитонита у крыс, получивших T_3, сопровождалось менее значимым возрастанием содержания ХС ЛПОНП + ЛПНП – на 16,3 % ($p < 0,01$). Содержание ХС ЛПНОП + ЛПНП в крови животных с перитонитом, получивших 1 %-ный крахмальный раствор (n = 8), составляло 2,49 ± 0,08 мМоль/л, а у крыс с перитонитом, получивших T_3 (n = 8), – 1,76 ± 0,14 мМоль/л. Коэффициент атерогенности у крыс с перитонитом, получивших 1 %-ный раствор крахмала, повысился до 192,4 % ($p < 0,01$) – от 1,05 ± 0,05 ед. у ЛО животных (n = 10) до 3,07 ± 0,16 ед. у крыс с перитонитом (n = 10), в то время как у животных, получивших T_3 на 1 %-ном крахмальном растворе, развитие перитонита сопровождалось менее выраженным возрастанием данного показателя – на 60,0 % ($p < 0,01$): от 1,05 ± 0,05 ед. у ЛО крыс, получивших 1 %-ный крахмальный раствор (n = 10), до 1,68 ± 0,11 ед. у крыс с перитонитом, получивших T_3 на 1 %-ном крахмальном растворе (n = 8).

У крыс с перитонитом, получивших T_3 на 1 %-ном крахмальном растворе (n = 8), по сравнению с животными после CLP-операции и получивших 1 %-ный крахмальный раствор содержание общего ХС в печени крыс было меньше на 12,9 % ($p < 0,05$): 0,340 ± 0,014 у крыс с перитони-

том, получивших 1 %-ный крахмальный раствор (n = 10), и 0,296 ± 0,018 мг/100 г ткани у крыс с перитонитом, получивших T_3 на 1 %-ном крахмальном растворе (n = 8).

Изменения ректальной температуры, содержания общего ХС в печени и крови и уровня ХС ЛП в крови после CLP-операции у крыс, получивших интрагастрально T_3 (30 мкг/кг), представлены в табл. 2.

Таблица 2. **Изменение ректальной температуры, содержания общего ХС в крови и печени и уровня ХС ЛП крови после CLP-операции у крыс, получивших интрагастрально T_3 (30 мкг/кг)**

Table 2. **Changes in the rectal temperature, total cholesterol in the blood and the liver and blood lipoprotein cholesterol after CLP-surgery in rats receiving intragastric T_3 (30 μg/kg)**

Группа животных	Ректальная температура, ˚С	Общий ХС печени, мг/100 мг ткани	Общий ХС крови, мМоль/л	ХС ЛПВП, мМоль/л	ХС ЛПОНП + ЛПНП, мМоль/л	Ка, ед.
ЛО + 1 %-ный крахмальный р-р	37,8 ± 0,10 (n = 12)	0,307 ± 0,009 (n = 8)	2,66 ± 0,12 (n = 10)	1,30 ± 0,11 (n = 10)	1,36 ± 0,06 (n = 10)	1,05 ± 0,05 (n = 10)
Перитонит + 1 %-ный крахмальный р-р	36,6 ± 0,21 $p_{2\text{-}1} < 0{,}05^*$ (n = 12)	0,340 ± 0,014 $p_{2\text{-}1} < 0{,}05^*$ (n = 10)	3,30 ± 0,11 $p_{2\text{-}1} < 0{,}05^*$ (n = 10)	0,81 ± 0,07 $p_{2\text{-}1} < 0{,}01^*$ (n = 10)	2,49 ± 0,08 $p_{2\text{-}1} < 0{,}01^*$ (n = 10)	3,07 ± 0,16 $p_{2\text{-}1} < 0{,}01^*$ (n = 10)
ЛО + T_3 на 1 %-ном крахмальном р-ре	38,5 ± 0,32 (n = 12)	0,281 ± 0,016 (n = 8)	2,48 ± 0,14 (n = 8)	1,41 ± 0,12 (n = 8)	1,07 ± 0,11 (n = 8)	0,76 ± 0,07 (n = 8)
Перитонит + T_3 на 1 %-ном крахмальном р-ре	37,8 ± 0,29 $p_{4\text{-}3} < 0{,}05^*$ $p_{4\text{-}2} < 0{,}05^*$ (n = 12)	0,296 ± 0,018 $p_{4\text{-}3} < 0{,}01^*$ $p_{4\text{-}2} < 0{,}05^*$ (n = 8)	2,81± 0,16 $p_{4\text{-}3} < 0{,}05^*$ $p_{4\text{-}2} < 0{,}05^*$ (n = 8)	1,05 ± 0,04 $p_{4\text{-}3} < 0{,}01^*$ $p_{4\text{-}2} < 0{,}01^*$ (n = 8)	1,76 ± 0,14 $p_{4\text{-}3} < 0{,}01^*$ $p_{4\text{-}2} < 0{,}05^*$ (n = 8)	1,68 ± 0,11 $p_{4\text{-}3} < 0{,}01^*$ $p_{4\text{-}2} < 0{,}01^*$ (n = 8)

* Изменения достоверны по отношению к контролю.

Таким образом, развитие перитонита у крыс, которым интрагастрально однократно вводили T_3 на 1 %-ном крахмальном растворе, сопровождалось менее значительным приростом содержания общего ХС в печени и крови, ХС ЛПОНП + ЛПНП, менее значимым снижением ХС ЛПВП в крови и коэффициента атерогенности по сравнению с таковыми в контрольной группе животных после CLP-операции. Полученные экспериментальные данные дают основание полагать, что повышение уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови при перитоните, как и в условиях депрессии КК $GdCl_3$, ослабляет характерные для его развития атерогенные нарушения показателей липопротеинового обмена крови.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что в условиях экспериментального перитонита у крыс развивается вторичная атерогенная дислипопротеинемия и снижается уровень йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови. В изменении содержания холестерина в печени и липопротеинах крови, уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в плазме крови и температуры тела при перитоните (CLP-модель) участвуют клетки Купфера и NO. Снижение активности клеток Купфера при перитоните, по-видимому, играет компенсаторную роль, повышая уровень T_3 в крови и ослабляя развитие характерных изменений в содержании общего холестерина в печени, холестерина липопротеинов в крови и препятствует развитию вторичной дислипопротеинемии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Гостищев, В. К. Перитонит / В. К. Гостищев. – М. : Медицина, 1985. – 473 с.

2. Hotchkiss, R. S. The pathophysiology and treatment of sepsis / R. S. Hotchkiss, I. E. Karl // N. Engl. J. Med. – 2003. – Vol. 348, N 2. – P. 138–150. https://doi.org/10.1056/NEJMra021333

3. Перитонит как одна из основных причин летальных исходов / Н. Д. Томнюк [и др.] // Современные наукоемкие технологии. – 2010. – № 10. – С. 81–84.

4. Перитонит : учеб.-практ. пособие / Э. Г. Абдуллаев [и др.] ; Иван. гос. мед. акад ; Владим. гос. ун-т им. А. Г. и Н. Г. Столетовых. – Владимир : Изд-во ВлГУ, 2014. – 144 с.

5. Гоженко, А. И. Особенности течения экспериментального перитонита у крыс при промывании брюшной полости / А. И. Гоженко, А. А. Васильев, Б. А. Насибуллин // Світ медицини та біології. – 2014. – № 2 (44). – С. 111–114.

6. Мишнев, О. Д. Патология печени при сепсисе / О. Д. Мишнев, У. Н. Туманова, А. И. Щеголев // Междунар. журн. приклад. и фунд. исслед. – 2017. – № 8-2. – С. 267–271.

7. Короткевич, Т. В. Вторичная дислипопротеинемия и дисфункция печени в условиях экспериментальной эндотоксинемии / Т. В. Короткевич, Ф. И. Висмонт // Здравоохранение. – 2006. – № 6. – С. 21–23.

8. Викторов, А. В. Связывание липополисахарида и комплексов липополисахарида с сывороточными липопротеинами низкой плотности с макрофагами печени / А. В. Викторов, В. А. Юркив // Биомед. химия. – 2006. – Т. 52, № 1. – С. 36–43.

9. Чепелева, Е. Н. Особенности метаболизма холестерина липопротеинов крови у крыс при экспериментальном перитоните / Е. Н. Чепелева, Ф. И. Висмонт // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : рецензир. ежегод. сб. науч. тр. / Белорус. гос. мед. ун-т ; редкол. : С. П. Рубникович, В. Я. Хрыщанович. – Минск, 2020. – Вып. 10. – С. 390–394.

10. Lipid metabolism in inflammation-related diseases / C. Zhang [et al.] // Analyst. – 2018. – Vol. 143, N 19. – P. 4526–4536. https://doi.org/10.1039/c8an01046c

11. Human very low density lipoproteins and chylomicrons can protect against endotoxininduced death in mice / H. W. Harris [et al.] // J. Clin. Invest. – 1990. – Vol. 86, N 3. – P. 696–702. https://doi.org/10.1172/JCI114765

12. HDL-cholesterol level and cortisol response to synacthen in critically ill patients / P. H. J. van der Voort [et al.] // Intensive Care Med. – 2003. – Vol. 29, N 12. – P. 2199–2203. https://doi.org/10.1007/s00134-003-2021-7

13. Висмонт, Ф. И. О роли клеток Купфера и гепатоцитов в механизмах реализации влияния трийодтиронина на процессы детоксикации и регуляции температуры тела / Ф. И. Висмонт, С. А. Артюшкевич // Белорус. мед. журн. – 2005. – Т. 13, № 3. – С. 45–47.

14. Висмонт, Ф. И. Эндотоксинемия, дисрегуляция и формирование предболезни / Ф. И. Висмонт // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2018. – Т. 15, № 1. – С. 7–16.

15. Маянский, Д. Н. Клетки Купфера и патология печени / Д. Н. Маянский // Патолог. физиология и эксперим. медицина. – 1985. – № 4. – С. 80–86.

16. Blockade of Kupffer cells prevents the febrile and preoptic prostaglandin E2 responses to intravenous lipopolysaccharide in guinea pigs / E. Sehic [et al.] // Ann. NY Acad. Sci. – 1997. – Vol. 813, N 1. – P. 448–452. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1997.tb51732.x

17. Volmar, B. Modulation of Kupfer cells activity by gadolinium chloride in endotoxemic rats / B. Volmar, D. Rettinger, G. A. Wanner // Shock. – 1996. – Vol. 6, N 6. – P. 434–441. https://doi.org/10.1097/00024382-199612000-00008

18. Are phospholipase A_2 and nitric oxide involved in the alterations in peritoneal transport during CAPD peritonitis / C. E. Douma [et al.] / Lab. Clin. Med. – 1998. – Vol. 132, N 4. – P. 329–340. https://doi.org/10.1016/S0022-2143(98)90047-6

19. Nitric oxide synthase isoforms play distinct roles during acute peritonitis / N. Jie [et al.] // Nephrol. Dial. Transplant. – 2010. – Vol. 25, N 1. – P. 86–96. https://doi.org/10.1093/ndt/gfp415

20. Greg Kelly, N. D. Peripheral Metabolism of Thyroid Hormones : a review / N. D. Greg Kelly // Altern. Med. Rev. – 2000. – Vol. 5, N 4. – P. 306–333.

21. Функциональное состояние щитовидной железы и липидный профиль крови / С. В. Мустафина [и др.] // Атеросклероз. – 2010. – Т. 6, № 2. – С. 15–19.

22. Моделирование экспериментального сепсиса путем выполнения лигирования и пункции слепой кишки (CLP-процедура) / Е. Ю. Шаповалова [и др.] // Ульянов. мед.-биол. журн. – 2020. – № 3. – С. 150–158.

23. Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture / D. Rittirsch [et al.] // Nat. Protoc. – 2009. – Vol. 4, N 1. – P. 31–36. https://doi.org/10.1038/nprot.2008.214

24. Burstein, M. Sur la clarification du sérum lipémique par l'héparine *in vitro* / M. Burstein, J. Samaille // C. R. Acad. Sci. (Paris). – 1955. – Vol. 241, N 9. – P. 664–665.

25. Крехова, М. А. Фракционное определение эфиров холестерина в крови и тканях с помощью хроматографии в тонком слое / М. А. Крехова, М. К. Чехранова // Вопр. мед. химии. – 1971. – Т. 17, № 1. – С. 93–98.

26. Nitrite and nitrate determinations in plasma: a critical evaluation / H. Moshage [et al.] // Clin. Chem. – 1995. – Vol. 41, N 6. – P. 892–896. https://doi.org/10.1093/clinchem/41.6.892

27. Методы клинических лабораторных исследований / под ред. проф. В. С. Камышникова. – 10-е изд. – М. : МЕДпресс-информ, 2020. – 736 с.

28. Duntas, L. H. Circulating levels of oxidized low-density lipoprotein in overt and mild hypothyroidism / L. H. Duntas, E. Mantzou, D. A. Koutras // Thyroid. – 2002. – Vol. 12, N 11. – P. 1003–1007. https://doi.org/10.1089/105072502320908349

References

1. Gostishchev V. K. *Peritonitis*. Moscow, Meditsina Publ., 1985. 473 p. (in Russian).

2. Hotchkiss R. S., Karl I. E. The pathophysiology and treatment of sepsis. *New England Journal of Medicine*, 2003, vol. 348, no. 2, pp. 138–150. https://doi.org/10.1056/NEJMra021333

3. Tomnyuk N. D., Danilina E. P., Chernykh A. N., Parno A. A., Shurka K. S. Peritonitis as one of the main causes of lethal outcomes. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii* [Modern high technologies], 2010, no. 10, pp. 81–84 (in Russian).

4. Abdullaev E. G., Babyshin V. V., Novikov Yu. A., Gusev A. V., Malakhov N. B. *Peritonitis*. Vladimir, Vladimir State University Publishing House, 2014. 144 p.

5. Gozhenko A. I., Vasil'ev A. A., Nasibullin B. A. Peculiarities of experimental peritonitis in rats by irrigation the abdominal cavity with xenon saturated solution. *Svit meditsini ta biologii* [The world of medicine and biology], 2014, no. 2 (44), pp. 111–114 (in Russian).

6. Mishnev O. D., Tumanova U. N., Shchegolev A. I. Pathology of the liver in sepsis. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovanii* [International journal of applied and basic research], 2017, no. 8-2, pp. 267–271 (in Russian).

7. Korotkevich T. V., Vismont F. I. Secondary dyslipoproteinemia and liver dysfunction in experimental endotoxinemia. *Zdravookhranenie* [Health care], 2006, no. 6, pp. 21–23 (in Russian).

8. Viktorov A. V., Yurkiv V. A. Binding of lipopolysaccharide and complexes of lipopolysaccharide with serum low density lipoproteins to liver macrophages. *Biomeditsinskaya khimiya* [Biomedical chemistry], 2006, vol. 52, no. 1, pp. 36–43 (in Russian).

9. Chepeleva E. N., Vismont F. I. Peculiarities of blood lipoprotein cholesterol metabolism in rats with experimental peritonitis. *BGMU v avangarde meditsinskoi nauki i praktiki: retsenziruemyi ezhegodnyi sbornik nauchnykh trudov. Vypusk 10* [BSMU at the forefront of medical science and practice: a peer-reviewed annual collection of scientific papers. Iss. 10]. Minsk, 2020, pp. 390–394 (in Russian).

10. Zhang C., Wang K., Yang L., Liu R., Chu Y., Qin X., Yang P., Yu H. Lipid metabolism in inflammation-related diseases. *Analyst*, 2018, vol. 143, no. 19, pp. 4526–4536. https://doi.org/10.1039/c8an01046c

11. Harris H. W., Grunfeld C., Feingold K. R., Rapp J. H. Human very low density lipoproteins and chylomicrons can protect against endotoxininduced death in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 1990, vol. 86, no. 3, pp. 696–702. https://doi.org/10.1172/JCI114765

12. van der Voort P. H. J., Gerritsen R. T., Bakker A. J., Boerma E. Ch., Kuiper M. A., de Heide L. HDL-cholesterol level and cortisol response to synacthen in critically ill patients. *Intensive Care Medicine*, 2003, vol. 29, no. 12, pp. 2199–2203. https://doi.org/10.1007/s00134-003-2021-7

13. Vismont F. I., Artyushkevich S. A. On the role of Kupffer cells and hepatocytes in the mechanisms of implementation of triiodothyronine influence on the processes of detoxification and regulation of body temperature. *Belorusskii meditsinskii zhurnal* [Belarusian medical journal], 2005, vol. 13, no. 3, pp. 45–47 (in Russian).

14. Vismont F. I. Endotoxinemia, dysregulation and the pre-illness formation. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 1, pp. 7–16 (in Russian).

15. Mayanskii D. N. Kupffer cells and liver pathology. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya meditsina* [Pathological physiology and experimental medicine], 1985, no. 4, pp. 80–86 (in Russian).

16. Sehic E., Hunter W. S., Ungar A. L., Blatteis C. M. Blockade of Kupffer cells prevents the febrile and preoptic prostaglandin E2 responses to intravenous lipopolysaccharide in guinea pigs. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1997, vol. 813, no. 1, pp. 448–452. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1997.tb51732.x

17. Volmar B., Rettinger D., Wanner G. A. Modulation of Kupfer cells activity by gadolinium chloride in endotoxemic rats. *Shock*, 1996, vol. 6, no. 6, pp. 434–441. https://doi.org/10.1097/00024382-199612000-00008

18. Douma C. E., de Waart D. R., Struijk D. G., Krediet R. T. Are phospholipase A_2 and nitric oxide involved in the alterations in peritoneal transport during CAPD peritonitis? *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 1998, vol. 132, no. 4, pp. 329–340. https://doi.org/10.1016/S0022-2143(98)90047-6

19. Ni J., McLoughlin R. M., Brodovitch A., Moulin P., Brouckaert P., Casadei B., Feron O., Topley N., Balligand J.-L., Devuyst O. Nitric oxide synthase isoforms play distinct roles during acute peritonitis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2010, vol. 25, no. 1, pp. 86–96. https://doi.org/10.1093/ndt/gfp415

20. Greg Kelly N. D. Peripheral metabolism of thyroid hormones : a review. *Alternative Medicine Review: a Journal of Clinical Therapeutic*, 2000, vol. 5, no. 4, pp. 306–333.

21. Mustafina S. V., Rymar O. D., Simonova G. I., Ragino Yu. I., Kuznetsov A. A., Shcherbakova L. V., Malyutina S. K. Functional state of thyroid gland and lipid blood profile. *Ateroskleroz* [Atherosclerosis], 2010, vol. 6, no. 2, pp. 15–19 (in Russian).

22. Shapovalova E. Yu., Demyashkin G. A., Malanichev M. Yu., Pogosyan D. A., Zorin I. A., Shchekin V. I. Simulation of experimental sepsis by cecal ligation and puncture (CLP). *Ul'yanovskii mediko-biologicheskii zhurnal* [Ulyanovsk medical and biological journal], 2020, no. 3, pp. 150–158 (in Russian).

23. Rittirsch D., Huber-Lang M. S., Flierl M. A., Ward P. A. Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture. *Nature Protocols*, 2009, vol. 4, no. 1, pp. 31–36. https://doi.org/10.1038/nprot.2008.214

24. Burstein M., Samaille J. Sur la clarification du sérum lipémique par l'héparine *in vitro*. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences*, 1955, vol. 241, no. 9, pp. 664–665.

25. Krekhova M. A., Chekhranova M. K. Fractional determination of cholesterol esters in blood and tissues using thin layer chromatography. *Voprosy meditsinskoi khimii* [Medicinal chemistry issues], 1971, vol. 17, no. 1, pp. 93–98 (in Russian).

26. Moshage H., Kok B., Huizenga J. R., Jansen P. L. Nitrite and nitrate determinations in plasma: a critical evaluation. *Clinical Chemistry*, 1995, vol. 41, no. 6, pp. 892–896. https://doi.org/10.1093/clinchem/41.6.892

27. Kamyshnikov V. S., Volotovskaya O. A., Khodyukova A. B., Dal'nova T. S., Vasiliu-Svetlitskaya S. G., Zubovskaya E. T., Alekhnovich L. I. *Clinical laboratory research methods. 10th ed.* Moscow, MEDpress-inform Publ., 2020. 736 p. (in Russian).

28. Duntas L. H., Mantzou E., Koutras D. A. Circulating levels of oxidized low-density lipoprotein in overt and mild hypothyroidism. *Thyroid*, 2002, vol. 12, no. 11, pp. 1003–1007. https://doi.org/10.1089/105072502320908349

Информация об авторах

Чепелева Елена Николаева – ст. преподаватель. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: drhelen1993@gmail.com

Висмонт Франтишек Иванович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: patfiz@bsmu.by

Information about the authors

Elena N. Chepeleva – Senior lecturer. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: drhelen1993@gmail.com

Frantishek I. Vismont – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patfiz@bsmu.by

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616-053.31-055.26-092
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-402-412

Поступила в редакцию 14.08.2021
Received 14.08.2021

В. А. Прилуцкая, А. В. Сукало, А. В. Гончарик

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

УРОВНИ МИОКИНА ИРИЗИН И АДИПОЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У МАЛОВЕСНЫХ ДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ ПРИ РОЖДЕНИИ

Аннотация. В последние годы проведен целый ряд исследований миокина иризин у взрослых и единичные – у новорожденных. Показана роль адипоцитокинов в процессах роста и развития плода и детей.

Цель исследования – оценить уровни миокина иризин и адипоцитокинов у маловесных к сроку гестации доношенных детей при рождении и проанализировать взаимосвязи параметров гормонального статуса детей и их матерей.

Проведено обследование 49 новорожденных и их матерей. Выделено две группы детей: группа 1 (Гр1) – маловесные к сроку гестации (n = 24), группа 2 (Гр2) – соответствующие сроку гестации (n = 25). Уровни иризина и адипоцитокинов сыворотки крови определяли иммуноферментным методом.

Установлено, что у маловесных новорожденных значимо более низкие уровни лептина и ИФР-1 в пуповинной крови, чем у детей, физическое развитие которых соответствует гестационному возрасту. У новорожденных Гр1 и Гр2 не выявлено значимых различий в содержании иризина в сыворотке пуповинной крови. Обнаружены значимые положительные корреляционные взаимосвязи между уровнем иризина пуповинной крови маловесных новорожденных и массой тела при рождении. В Гр1 выявлена положительная связь между уровнями иризина матерей и детей (r = 0,518, p = 0,028). Установлено, что различия в содержании иризина зависят от способа родоразрешения (p = 0,0104).

Выявленные статистически значимые различия в уровнях анализируемых метаболических маркеров в парах мать–дитя, их взаимосвязи с клинико-антропометрическими параметрами обосновывают возможность применения иризина и адипоцитокинов в качестве предикторов при прогнозировании формирования нарушений обменных процессов у маловесных к сроку гестации детей.

Ключевые слова: иризин, миокины, новорожденные, маловесный к сроку гестации, адипоцитокины, лептин, висфатин, масса тела, матери

Для цитирования: Прилуцкая, В. А. Уровни миокина иризин и адипоцитокинов в сыворотке крови у маловесных доношенных детей при рождении / В. А. Прилуцкая, А. В. Сукало, А. В. Гончарик // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 4. – С. 402–412. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-402-412

Veranika A. Prylutskaya, Alexander V. Sukalo, Antonina V. Goncharik

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Пациенту были назначены имипенем/циластатин, левофлоксацин, дексаметазон, метилпреднизолон, фрагмин, дезинтоксикационная инфузионная терапия, АЦЦ, а также препараты для лечения сопутствующих заболеваний.

Заключительный диагноз: «COVID-19 инфекция. Внебольничная двусторонняя полисегментарная вирусно-бактериальная пневмония с исходом в фиброз, тяжелое течение, ДН 2».

Пациент К., 71 год, не курит, на протяжении 4 мес. находился на стационарном лечении с небольшими промежутками 4 раза. Диагноз при первом поступлении: «Двусторонняя полисегментарная пневмония, среднетяжелое, затяжное течение, ДН 1. Интоксикационный синдром». Сопутствующие заболевания: ИБС, артериальная гипертензия 2, риск 4, ХСН ФК 2 (Н1), хронический пиелонефрит, сахарный диабет второго типа.

Положительные результаты ПЦР-теста на РНК SARS-CoV-2 в мазке со слизистой оболочки носоглотки были получены дважды на протяжении 20 дней пребывания в стационаре. На момент поступления при КТ ОГК на фоне усиления легочного рисунка в легких с обеих сторон определялись обширные субплевральные участки уплотнения легочной ткани по типу «матового стекла» (рис. 2, *a*). Площадь поражения около 75 %. Через 8 недель в субплевральных отделах легких выявлялось присутствие мелкоячеистой ретикулярной сети, состоящей из утолщенных внутридольковых перегородок (рис. 2, *b*). Часть ячеек содержала воздушные полости. Через 4 мес. в обоих легких были выявлены многочисленные кистозные воздушные пространства с толстыми фиброзными стенками (симптом «сотового легкого») (рис. 2, *c*).

Одновременно с прогрессированием патологических изменений в легких у пациента снижалось насыщение артериальной крови кислородом, что сопровождалось сильно выраженной одышкой даже при небольших физических нагрузках. В результате ему было рекомендовано постоянное использование кислородного концентратора. При внезапном отключении аппарата в домашних условиях произошло снижение SpO_2 до 46 %, что послужило причиной экстренной госпитализации пациента.

Результаты лабораторных анализов показали отклонения от референсных значений уровней С-реактивного белка (максимальное значение – 54 мг/л) и D-димера (концентрация возрастала до 944 нг/мл). Содержание лейкоцитов в периферической крови достигало уровня $13 \cdot 10^9$/л.

Пациенту были назначены дексаметазон, преднизолон, фрагмин, дезинтоксикационная инфузионная терапия, АЦЦ, гепарин, а также препараты для лечения сопутствующих заболеваний.

Заключительный диагноз: «COVID-19 ассоциированная двусторонняя полисегментарная пневмония, среднетяжелое течение, стадия разрешения с исходом в фиброз, ДН 2». Решением МРЭК пациент признан инвалидом второй группы бессрочно.

Пациент С., 58 лет, находился на стационарном лечении на протяжении 2 мес., в том числе первые 6 дней в отделении анестезиологии и реанимации. При поступлении предъявлял жалобы на сухой кашель, осиплость голоса, одышку, дискомфорт в грудной клетке, высокую температуру (39,7 °С). При дыхании атмосферным воздухом SpO_2 составляла 78 %, при подаче кислорода через маску в объеме 15 л/мин сатурация увеличивалась до 82 %. Частота дыхания – 25–27 в минуту. Диагноз при поступлении: «Короновирусная инфекция COVID-19. Двусторонняя полисегментарная пневмония, тяжелое течение, ДН 1-2. Интоксикационный синдром». Сопутствующие заболевания: ИБС (постинфарктный (2019) кардиосклероз). Атеросклероз коронарных артерий. Состояние после стентирования коронарных артерий и правой сонной артерии (2019), ХСН ФК Н2. АГ 2, риск 4. Атеросклероз аорты. Нефроангиосклероз, ХБП С3б.

При поступлении тест на IgM к SARS-CoV-2 был положительный; тест на IgG – отрицательный.

КТ ОГК при поступлении (через неделю после появления симптомов заболевания) – во всех легочных полях с обоих сторон определяются протяженные участки уплотнения легочной ткани по типу «матового стекла» в сочетании с ретикулярными изменениями, воздушная бронхограмма с множественными эмфизематозными полостями (рис. 3, *a*). Поражено 70 % легких.

Первые 5 дней пребывания в отделении анестезиологии и реанимации респираторный индекс (PaO_2/FiO_2) колебался в диапазоне от 199 до 300. На фоне низкой сатурации крови при ды-



Рис. 2. КТ ОГК (*a*, *b, c* – аксиальные проекции) пациента К., 71 год. Рентгенологическая картина полисегментарной вирусной (COVID-19) пневмонии с исходом в фиброз: *a* – при поступлении на стационарное лечение обнаруживаются обширные уплотнения легочной ткани по типу «матового стекла» (*); *b* – через 8 недель после пребывания в стационаре формируется мелкоячеистая ретикулярная сеть с воздушными полостями; *c* – через 4 мес. после пребывания в стационаре в субплевральных областях выявляется симптом «сотового легкого» (указан стрелкой)

Fig. 2. A 71-year-old man with coronavirus disease (COVID-19): *a* – axial CT image obtained at hospital admission shows ground glass opacities (GGO) in both lungs (*); *b* – axial CT image obtained after 8 weeks shows a fine-meshed reticular network (reticular pattern); *c* – axial CT image obtained after 4 months shows honeycombing (arrow)

структуры легочной ткани следует рассматривать как проявление активного воспалительного процесса [11].

Рядом эпидемиологических исследований показана ассоциация легочного фиброза с инфекционными факторами, такими как вирусы Эпштейна–Барра, гепатита С и цитомегаловируса [12]. Эти факторы рассматриваются не как причина болезни, а как обстоятельства, усугубляющие течение легочного фиброза [12, 13]. В этой связи SARS-CoV-2, с одной стороны, может способствовать быстрому прогрессированию идиопатического легочного фиброза, как у пациента С., с другой стороны, вирус вызывает так называемый синдром активации макрофагов («цитокиновый шторм»), сопровождающийся аномальным иммунным ответом, который инициирует начало легочного фиброза [14]. Именно пожилые люди на фоне «старения» иммунной системы особенно предрасположены к фиброзу, индуцированному вирусной инфекцией [15].

Установлено, что дополнительными факторами, предрасполагающими к легочному фиброзу после COVID-19 пневмонии, являются сопутствующие заболевания, такие как сахарный диабет, ишемическая болезнь сердца и гипертония [16–18].

У всех проанализированных нами пациентов с рентгенологическими и клиническими признаками легочного фиброза с подтвержденным инфицированием SARS-CoV-2 был один или несколько факторов риска, такие как возраст и коморбидная патология. Кроме ОРДС у них присутствовали биохимические маркеры «цитокинового шторма» − высокие значения С-реактивного белка, интерлейкина 6, а также увеличение уровня D-димера.

Возможно, быстрому прогрессированию фиброза способствовало также назначение пациентам лечения стероидными гормонами. В настоящее время среди клиницистов продолжается дискуссия по поводу роли, которую кортикостероиды могут играть в обострении идиопатического легочного фиброза [19].

В настоящее время идут споры о наличии связи между рентгенологическими признаками фиброза и прогнозом у пациентов, перенесших COVID-19 пневмонию. Одни исследователи считают, что эти признаки указывают на хороший прогноз и свидетельствуют о стабилизации процесса, другие утверждают, что фиброз – индикатор плохого исхода COVID-19 пневмонии [9]. Во всех описанных нами случаях пациенты с легочным фиброзом после выписки из стационара нуждались в кислородной поддержке.

Заключение. Легочный фиброз – одно из быстро прогрессирующих осложнений COVID-19 пневмонии с неблагоприятным прогнозом. Факторами риска фиброза легких являются возраст пациента, наличие коморбидной патологии, а также тяжелое течение COVID-19 пневмонии с развитием ОРДС.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Pulmonary fibrosis in COVID-19 survivors: predictive factors and risk reduction strategies / A. S. Ojo [et al.] // Pulm. Med. – 2020. – Vol. 2020. – Art. ID 6175964. https://doi.org/ 10.1155/2020/6175964

2. Vitiello, A. COVID-19 patients with pulmonary fibrotic tissue: clinical pharmacological rational of antifibrotic therapy / A. Vitiello, C. Pelliccia, F. Ferrara // SN Compr. Clin. Med. – 2020. – Vol. 2, N 10. – P. 1709–1712. https://doi.org/10.1007/s42399-020-00487-7

3. Post COVID-19 fibrosis, an emerging complication of SARS-CoV-2 infection / M. Ahmad Alhiyari [et al.] // IDCases. – 2020. – Vol. 23. – P. e01041. https://doi.org/10.1016/j.idcr.2020.e01041

4. Rai, N. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) pandemic: is sequela the bigger threat? / N. Rai, D. K. Baidya // Indian J. Crit. Care Med. – 2021. – Vol. 25, N 2. – P. 245–246. https://doi.org/10.5005/jp-journals-10071-23734

5. Pulmonary fibrosis 4 months after COVID-19 is associated with severity of illness and blood leucocyte telomere length / C. F. McGroder [et al.] // Thorax. – 2021. https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2021-217031

6. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China / C. Wu [et al.] // JAMA Int. Med. – 2020. – Vol. 180, N 7. – P. 934–943. https://doi.org/934–943. 10.1001/jamainternmed.2020.0994

7. Rapid onset honeycombing fibrosis in spontaneously breathing patient with COVID-19 / M. Combet [et al.] // Eur. Resp. J. – 2020. – Vol. 56, N 2. – P. 2001808. https://doi.org/ 10.1183/13993003.01808-2020

8. Сперанская, А. А. Лучевые проявления новой коронавирусной инфекции COVID-19 / А. А. Сперанская // Лучевая диагностика и терапия. – 2020. – Т. 11, № 1. – С. 18–25.

9. Chest CT manifestations of new coronavirus disease 2019 (COVID-19) : a pictorial review / Z. Ye [et al.] // Eur. Radiol. – 2020. – Vol. 30, N 8. – P. 4381–4389. https://doi.org/10.1007/s00330-020-06801-0

10. Initial CT findings and temporal changes in patients with the novel coronavirus pneumonia (2019-nCoV): a study of 63 patients in Wuhan, China / Y. Pan [et al.] // Eur. Radiol. – 2020. – Vol. 30, N 6. – P. 3306–3309. https://doi.org/10.1007/s00330-020-06731-x

11. Карнаушкина, М. А. Синдром «матового стекла» при оценке КТ-изображений органов грудной клетки в практике клиники: патогенез, значение, дифференциальный диагноз / М. А. Карнаушкина, А. В. Аверьянов, В. Н. Лесняк // Архив внутр. медицины. – 2018. – Т. 8, № 3. – С. 165–175.

12. Идиопатический легочный фиброз: распространенность и факторы риска (обзор литературы) / И. Т. Муркамилов [и др.] // Sci. Heritage. – 2020. – Т. 49, № 2. – С. 41–48.

13. Диагностика и лечение идиопатического легочного фиброза: федеральные клинические рекомендации / А. Г. Чучалин [и др.] // Пульмонология. – 2016. – Т. 26, № 4. – С. 399–419.

14. Ali, R. M. M. Post-COVID-19 pneumonia lung fibrosis: a worrisome sequelae in surviving patients / R. M. M. Ali, M. B. I. Ghonimy // Egypt J. Radiol. Nucl. Med. – 2021. – Vol. 52, N 1. – Art. 101. https://doi.org/10.1186/s43055-021-00484-3

15. Naik, P. K. Viral infection and aging as cofactors for the development of pulmonary fibrosis / P. K. Naik, B. B. Moore // Expert Rev. Resp. Med. – 2010. – Vol. 4, N 6. – P. 759–771. https://doi.org/ 10.1586/ers.10.73

16. George, P. M. Pulmonary fibrosis and COVID-19: the potential role for antifibrotic therapy / P. M. George, A. U. Wells, R. G. Jenkins // Lancet Resp. Med. – 2020. – Vol. 8, N 8. – P. 807–881. https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30225-3

17. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study / F. Zhou [et al.] // Lancet. – 2020. – Vol. 395, N 10229. – P. 1054–1062. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3

18. New twist to an old problem: COVID-19 and idiopathic pulmonary fibrosis / P. Upadhya [et al.] // Adv. Resp. Med. – 2021. – Vol. 89, N 1. – P. 84–85. https://doi.org/ 10.5603/ARM.a2020.0177

19. Brereton, C. J. Acute exacerbations of idiopathic pulmonary fibrosis and the role of corticosteroids / C. J. Brereton, H. E. Jo // Breathe. – 2020. – Vol. 16, N 3. – P. 1–4. https://doi.org/10.1183/20734735.0086-2020

References

1. Ojo A. S., Balogun S. A, Williams O. T., Ojo O. S. Pulmonary fibrosis in COVID-19 survivors: predictive factors and risk reduction strategies. *Pulmonary Medicine*, 2020, vol. 2020, art. ID 6175964. https://doi.org/ 10.1155/2020/6175964

2. Vitiello A., Pelliccia C., Ferrara F. COVID-19 patients with pulmonary fibrotic tissue: clinical pharmacological rational of antifibrotic therapy. *SN Comprehensive Clinical Medicine*, 2020, vol. 2, no. 10, pp. 1709–1712. https://doi.org/10.1007/s42399-020-00487-7

3. Ahmad Alhiyari M., Ata F., Islam Alghizzawi M., Bint I., Bilal A., Salih Abdulhadi A., Yousaf Z. Post COVID-19 fibrosis, an emerging complication of SARS-CoV-2 infection. *IDCases*, 2020, vol. 23, p. e01041. https://doi.org/10.1016/j.idcr.2020.e01041

4. Rai N., Baidya D. K. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) pandemic: is sequela the bigger threat? *Indian Journal of Critical Care Medicine*, 2021, vol. 25, no. 2, pp. 245–246. https://doi.org/10.5005/jp-journals-10071-23734

5. McGroder C. F., Zhang D., Choudhury M. A., Salvatore M. M., D'Souza B. M., Hoffman E. A., Wei Y., Baldwin M. R., Garcia C. K. Pulmonary fibrosis 4 months after COVID-19 is associated with severity of illness and blood leucocyte telomere length. *Thorax*, 2021. https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2021-217031

6. Wu C., Chen X., Cai Y., Xia J., Zhou X., Xu S. [et al.]. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Internal Medicine*, 2020, vol. 180, no. 7, pp. 934–943. https://doi.org/934–943. 10.1001/jamainternmed.2020.0994

7. Combet M., Pavot A., Savale L., Humbert M., Monnet X. Rapid onset honeycombing fibrosis in spontaneously breathing patient with COVID-19. *European Respiratory Journal*, 2020, vol. 56, no. 2, p. 2001808. https://doi.org/10.1183/13993003.01808-2020

8. Speranskaya A. A. Radiological signs of a new coronavirus infection COVID-19. *Luchevaya diagnostika i terapiya = Diagnostic radiology and radiotherapy*, 2020, vol. 11, no. 1, pp. 18–25 (in Russian).

9. Ye Z., Zhang Y., Wang Y., Huang Z., Song B. Chest CT manifestations of new coronavirus disease 2019 (COVID-19): a pictorial review. *European Radiology*, 2020, vol. 30, no. 8, pp. 4381–4389. https://doi.org/10.1007/s00330-020-06801-0

10. Pan Y., Guan H., Zhou S., Wang Y., Li Q., Zhu T., Hu Q., Xia L. Initial CT findings and temporal changes in patients with the novel coronavirus pneumonia (2019-nCoV): a study of 63 patients in Wuhan, China. *European Radiology*, 2020, vol. 30, no. 6, pp. 3306–3309. https://doi.org/10.1007/s00330-020-06731-x

11. Karnaushkina M. A., Aver'yanov A. V., Lesnyak V. N. *Ground glass opacities on CT of the chest in the practice of the clinician: pathogenesis, significance, differential diagnose*. *Arkhiv vnutrennei meditsiny* [The Russian archives of internal medicine], 2018, vol. 8, no. 3, pp. 165–175 (in Russian).

12. Murkamilov I. T., Sabirov I. S., Fomin V. V., Aitbaev K. A., Yusupov F. A. Idiopathic pulmonary fibrosis: prevalence and risk factors (literature review). *Scientific Heritage*, 2020, vol. 49, no. 2, pp. 41–48 (in Russian).

13. Chuchalin A. G., Avdeev S. N., Aisanov Z. R., Belevskii A. S., Demura S. A., Il'kovich M. M. [et al.]. Diagnosis and treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. federal guidelines. *Pul'monologiya* [Pulmonology], 2016, vol. 26, no. 4, pp. 399–419 (in Russian).

14. Ali R. M. M., Ghonimy M. B. I. Post-COVID-19 pneumonia lung fibrosis: a worrisome sequelae in surviving patients. *Egyptian Journal of Radiology and Nuclear Medicine*, 2021, vol. 52, no. 1, art. 101. https://doi.org/10.1186/s43055-021-00484-3

15. Naik P. K., Moore B. B. Viral infection and aging as cofactors for the development of pulmonary fibrosis. *Expert Review of Respiratory Medicine*, 2010, vol. 4, no. 6, pp. 759–771. https://doi.org/ 10.1586/ers.10.73

16. George P. M., Wells A. U., Jenkins R. G. Pulmonary fibrosis and COVID-19: the potential role for antifibrotic therapy. *Lancet Respiratory Medicine*, 2020, vol. 8, no. 8, pp. 807–881. https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30225-3

17. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Z. [et al.]. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*, 2020, vol. 395, no. 10229, pp. 1054–1062. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3

18. Upadhya P., Chary R., Chawla G., Vadala R., Mohanty M. New twist to an old problem: COVID-19 and idiopathic pulmonary fibrosis. *Advances in Respiratory Medicine*, 2021, vol. 89, no. 1, pp. 84–85. https://doi.org/ 10.5603/ARM.a2020.0177

19. Brereton C. J., Jo H. E. Acute exacerbations of idiopathic pulmonary fibrosis and the role of corticosteroids. *Breathe*, 2020, vol. 16, no. 3, pp. 1–4. https://doi.org/10.1183/20734735.0086-2020

Информация об авторах

Каленчиц Тамара Ивановна – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kalenchic@gmail.com

Кабак Сергей Львович – д-р мед. наук, профессор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kabakmorph@gmail.com. https://orcid.org/0000-0002-7173-1818

Кореневская Инна Валерьевна – врач-пульмонолог. 6-я городская клиническая больница (ул. Уральская, 5, 220037, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: inna.korenevskaya.91@mail.ru

Information about the authors

Tamara I. Kalenchic – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kalenchic@gmail.com

Sergey L. Kabak – Ph. D. (Med.), Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kabakmorph@gmail.com. https://orcid.org/0000-0002-7173-1818

Inna V. Korenevskaya – pulmonologist. 6th City Clinical Hospital (5, Ural'skaya Str., 220037, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: inna.korenevskaya.91@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616-089.819.843-031:616.228
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-422-432

Паступіў у рэдакцыю 14.01.2021
Received 14.01.2021

А. А. Астроўскі[1], А. Ф. Радута[1], А. А. Бакуновіч[1], Ю. У. Ярашэнка[1], А. У. Шурыберка[1], В. А. Шатрова[2], В. У. Бука[1], І. М. Семяненя[1]

[1]Інстытут біяхіміі біялагічна актыўных злучэнняў НАН Беларусі, Гродна, Рэспубліка Беларусь
[2]Гродзенскі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт, Гродна, Рэспубліка Беларусь

АСАБЛІВАСЦІ ПРЫЖЫЎЛЕННЯ І АДРЫНАННЯ ВУШНЫХ АЛАТРАНСПЛАНТАТАЎ У ЛАБАРАТОРНЫХ ПАЦУКОЎ

Анатацыя. Распрацаваны лёгка выканальны метад выяўлення генетычнай блізкасці паміж лабараторнымі пацукамі, заснаваны на трансплантацыі вушных скурна-хандрацытарных алатрансплантатаў на паверхню паўнаслойнага скурнага дэфекту. На прыкладзе пацукоў пароды Вістар паказана, што адрынанне алатрансплантатаў пры тых генетычных адрозненнях, якія мелі месца паміж жывёламі (лабараторныя пацукі былі ўзяты з трох навукова-даследчых інстытутаў Беларусі), адбываецца пераважна на працягу 8–21 сут. Аднак пры гэтым гінуць і адрынаюцца толькі такія структуры вушных алатрансплантатаў, як дэрма, эпідэрміс і яго вытворныя, але пласты хандрацытаў пагружаюцца пад грануляцыйную тканку і застаюцца ў жыццяздольным стане на працягу не менш за 210 сут. Апошні феномен, верагодна, абумоўлены тым, што абалонкі, якія пакрываюць хандрацыты, выконваюць функцыю імунала-гічнага бар'ера.

Ключавыя словы: вушная ракавіна, аўтратрансплантат, алатрансплантат, хандрацыты, вушныя скурна-хандрацытарныя трансплантаты

Для цытавання: Асаблівасці прыжыўлення і адрынання вушных алатрансплантатаў у лабараторных пацукоў / А. А. Астроўскі [і інш.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 4. – С. 422–432. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-18-4-422-432

Alexander A. Astrowski[1], Helena F. Raduta[1], Alexey A. Bakunovich[1], Yulia V. Yarashenka[1], Alexey V. Shuryberka[1], Vera O. Shatrova[2], Vyacheslav U. Buko[1], Igor N. Semenenya[1]

[1]Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus
[2]Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

FEATURES OF ENGRAFTMENT AND REJECTION OF EAR ALATRANSPLANTS IN LABORATORY RATS

Abstract. A method for revealing genetic affinity between laboratory rats has been developed, which is based on the transplantation of ear skin-chondrocyte allografts onto the surface of a full-thickness skin defect. On the example of Wistar rats (laboratory rats were taken from three research institutes), it was shown that the rejection of allografts occurs in the interval between 8 and 21 days with the same genetic differences that existed between the animals. However, at the same time, only those structures of ear allografts such as the dermis, epidermis and its derivatives die and are rejected, but the layers of chondrocytes are submerged under the granulation tissue and remain in a viable position for at least 210 days. The latter phenomenon is probably due to the membranes that cover the chondrocytes and act as an immunological barrier.

Keywords: auricle, autograft, alagraft, chondrocytes, ear skin-chondrocyte allografts

For citation: Astrowski A. A., Raduta H. F., Bakunovich A. A., Yarashenka Yu. V., Shuryberka A. V., Shatrova V. O., Buko V. U., Semenenya I. N. Features of engraftment and rejection of ear alatransplants in laboratory rats. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 4, pp. 422–432 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-422-432

Уводзіны. Пры правядзенні навуковых даследаванняў час ад часу ўзнікае неабходнасць высветліць ступень генетычнай блізкасці паміж лабараторнымі жывёламі. У дачыненні да лінейных мышэй часта выкарыстоўваецца алатрансплантацыя (АЛТ) невялікіх паўнаслойных кавалкаў скуры на паверхню паўнаслойнага скурнага дэфекту (ПСД) [1–3]. Распрацаваны таксама мадэлі перасадкі скуры ў сабак пароды бігль [4] і мадэлі па перасадцы алатрансплантаванай скуры ў свіней [5, 6].

Падчас нашых даследаванняў узнікла неабходнасць высветліць ступень генетычнай блізкасці паміж пацукамі, узятымі з розных віварыяў навукова-даследчых інстытутаў Беларусі. Паколькі намі распрацавана тэхналогія атрымання і трансплантацыі вушных скурна-хандрацытарных аўтатрансплантатаў (ВАУТ) з выкарыстаннем лабараторных пацукоў у якасці мадэльных жывёл [7], было вырашана апрабаваць гэту тэхналогію ў версіі АЛТ.

У адрозненне ад іншых скурных трансплантатаў (ТТ), якія выкарыстоўваюцца ў аналагічных даследаваннях, дадзеныя ТТ з'яўляюцца дастаткова тонкімі (таўшчынёй каля 150–250 мкм), але адначасова паўнаслойнымі. Гэта абумоўлена тым, што ў склад ТТ уваходзіць вельмі тонкая скура з унутранай паверхні вушной ракавіны. Дадатковай асаблівасцю гэтых ТТ з'яўляецца прысутнасць на іх ніжняй паверхні (той, якой яны кладуцца на паверхню ПСД) пласта хандрацытаў (ХЦ). Такая структура сустракаецца толькі ў млекакормячых і выконвае функцыю механічнай апоры вушной ракавіны [8–11]. Прысутнасць ХЦ у час вырабу ВАУТ дапамагае надаць ім неабходны памер і форму. Пасля трансплантацыі ХЦ дадаткова могуць выконваць ролю спецыфічнай меткі, па якой на гісталагічных прэпаратах можна бачыць мяжу паміж ТТ і рэцэптыўным ложам.

Мэта даследавання – выявіць асаблівасці прыжыўлення і адрынання вушных скурна-хандрацытарных аўта- і алатрансплантатаў на паверхні паўнаслойнага скурнага дэфекту ў лабараторных пацукоў і ацаніць магчымасць выяўлення ступені генетычнай блізкасці паміж імі з дапамогай дадзеных відаў трансплантатаў.

Матэрыялы і метады даследавання. У даследаванні было выкарыстана 12 дарослых самак пацукоў пароды Wistar масай 210–250 г, якія былі ўзяты з віварыяў трох навукова-даследчых інстытутаў Беларусі (па 4 жывёлы з кожнай установы). Усе маніпуляцыі, якія патрабавалі абезрухомлівання і абязбольвання жывёл (выдаленне поўсці, падшыванне ахоўнай камеры, стварэнне ПСД, узяцце ТТ і іх перанос на рану, перавязкі, фатаграфаванне ранавай паверхні (РП), забой), выконваліся пад эфірным наркозам. Пацукоў трымалі ў стандартных умовах пры свабодным доступе да паўнавартаснага корму і вады. Усе маніпуляцыі з жывёламі выконвалі ў адпаведнасці з ДАСТ 33215-2014 [12], ДАСТ 33216-2014 [13], а таксама ТКП 125-2008 (02040) «Належная лабараторная практыка» [14].

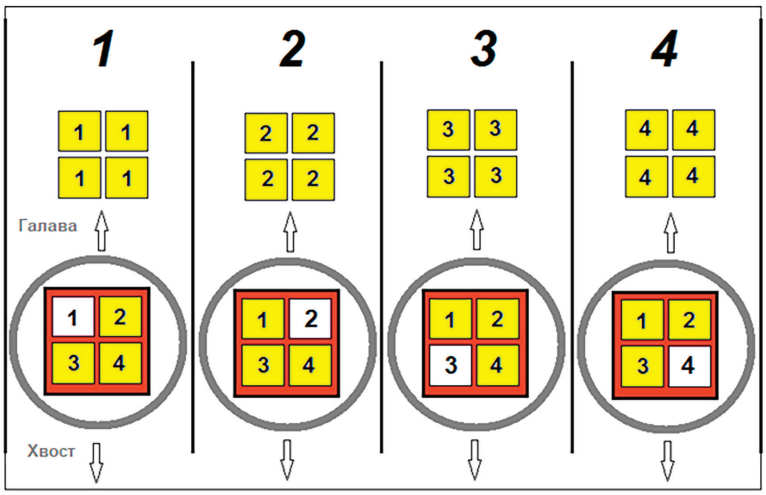
ПСД стваралі шляхам выдалення паўнаслойнага скурнага лоскуту плошчай 1 см^2 у міжлапаткавай вобласці (выдалялі скуру і падскурную цягліцу). У выніку атрымліваўся ПСД плошчай каля 1,3–1,5 см^2 (павялічаны з-за сіл нацяжэння, якія дзейнічаюць унутры скуры), дном якога была падскурная клятчатка. Адначасова з гэтым да скуры 8 швамі падшывалі ахоўную камеру з унутраным дыяметрам 19 мм. РП пакрывалі марлечкамі і марлевым тампонам. Камеру закрывалі крышкай. Перавязкі рабілі штодзённа на працягу двух тыдняў.

Праз 2 сут пасля стварэння ПСД у кожнай з жывёл адразалі па адной вушной ракавіне. З яе вонкавай паверхні выдалялі скуру, а са скуры ўнутранай паверхні, якая дадаткова ўтрымлівала пласт ХЦ, выкройвалі квадратны ўчастак плошчай 1 см^2. Яго дзялілі яшчэ на 4 кавалкі памерам каля 25 мм^2 кожны. Па схеме, якая паказана на мал. 1, кожнаму пацуку на РП клалі па адным ВАУТ і па тры вушных скурна-хандрацытарных алатрансплантаты (ВАЛТ). Такім чынам, сумарна на РП было перанесена 48 вушных скурна-хандрацытарных ТТ, з якіх 12 былі ВАУТ і служылі кантролем для зыходнага прыжыўлення ВАЛТ.

Фатаграфаванне ТТ на паверхні ПСД у першыя тры тыдні рабілі ў час перавязак штодзённа, пазней – радзей. Ахоўную камеру выдалялі праз 17–19 сут пасля трансплантацыі.

Для гісталагічнага даследавання 8 жывёл былі забіты праз 35 сут пасля трансплантацыі, 2 – праз 104 дні, яшчэ 2 – праз 210 сут. З былой РП, дзе заставаўся ВАУТ і раней знаходзіліся ВАЛТ, бралі проставугольную палоску шырынёй каля 5 мм (да падскурнай клятчаткі), якую ў распраўленым стане і пры нацяжэнні, блізкім да натуральнага, фіксіравалі ў сумесі фармаліну, спірта і воцатнай кіслаты. Тканкі прамывалі вадой і залівалі ў парафін па традыцыйнай методыцы.

Рабілі вертыкальныя гісталагічныя зрэзы, якія афарбоўвалі гематаксілінам і эазінам. Прэпараты вывучалі і фатаграфавалі з дапамогай мікраскопа Leica DM6 B.



Мал. 1. Схема размяшчэння ВАУТ і ВАЛТ на паверхні ПСД у пацукоў кожнай з трох груп. Лічбамі 1, 2, 3, 4 пазначаны нумары жывел і нумары узятых ад іх ТТ; жоўтыя квадраты ўверсе – гэта па чатыры вушных ТТ, атрыманых ад кожнага пацука; шэрыя колы ўнізе – сценкі ахоўнай камеры; на РП унутры апошніх ВАУТ пазначаны белым колерам, ВАЛТ – жоўтым

Fig. 1. Diagram of EAUG and EALG locations on the FSD surface in the rats of each of the three groups: numbers 1, 2, 3, 4 denote the numbers of animals and the numbers of grafts taken from them; the yellow squares at the top are four ear grafts taken from each rat, the gray circles at the bottom are the walls of the security chamber; on the WS inside the last EAUG is marked in white, EALG – in yellow

Вынікі і іх абмеркаванне. Пасля трансплантацыі ўсе ВАУТ і ВАЛТ перашапачаткова паспяхова прыжываліся на паверхні ПСД (мал. 2). Пры гэтым праз суткі пасля трансплантацыі многія з іх яшчэ выглядалі бялёсымі, а праз 2 сут, як правіла, станавіліся ружаватымі (верагодна з-за аднаўлення мікрацыркуляцыі крыві). У наступныя некалькі сутак эпідэрміс, які нарастаў на РП як з краёў ТТ, так і з краёў інтактнай скуры, зрастаўся. Пры гэтым струп, які аказваўся зверху, можна было лёгка выдаліць. У выніку праз 7–8 сут пасля трансплантацыі месца былога ПСД выглядала цалкам зажылым (мал. 2).

Аднак некаторыя ВАЛТ ужо праз 9 сут пасля трансплантацыі набывалі ацёчны, злёгку жаўтаваты выгляд, а яшчэ праз суткі-двое гэтыя ж ВАЛТ аказваліся пакрытымі карычневым струпам (наступства эксудацыі праз іх паверхню ў папярэднія суткі) (мал. 2). Ні ў адным выпадку праявы разбурэння-адрынання не закранулі ні адзін з ВАУТ.

На мал. 3 паказана, як змянялася сумарная колькасць ТТ, якія, калі меркаваць па знешніх рысах, працягвалі захоўваць сваю жыццяздольнасць. Бачна, што абсалютная большасць з 36 ВАЛТ губляла сваю жыццяздольнасць на працягу 8–21 сут. Праз 35 сут пасля трансплантацыі толькі адзін ВАЛТ заставаўся на выгляд цалкам жыццяздольным. У той жа час усе 12 ВАУТ на час забою (35–210 сут) вонкава выглядалі цалкам жыццяздольнымі.

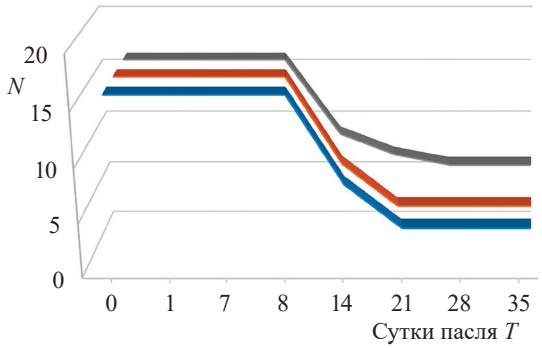
У далейшым тыя месцы, дзе знаходзіліся адрынутыя ВАЛТ, зноў (другасна) загойваліся і памяншаліся ў памерах (мал. 2).

Такім чынам, па-першае, пацукі, выкарыстаныя ў даследаванні, аказаліся далёка генетычна не ідэнтычнымі. Толькі ў адной з груп ступень генетычнай блізкасці аказалася некалькі большай, чым у дзвюх іншых, аднак казаць пра інбрэднасць (ці лінейнасць) жывёл гэтай групы не даводзіцца. Гэта азначае, што выраз «пацукі лініі Вістар», які сустракаецца ў некаторых публікацыях, з'яўляецца некарэктным. Калі ўжо да пацукоў Вістар выкарыстоўваць дадатковую ўдакладняльную характарыстыку, верагодна, лепш казаць пра пароду (пацукі пароды Вістар). Па-другое, усё адзначанае вышэй сведчыць аб тым, што прапанаваная мадэль з'яўляецца дастаткова выніковай. У адрозненні ад класічных мадэляў, якія выкарыстоўваюцца для высвятлення генетычнай блізкасці паміж жывёламі (найчасцей паміж мышамі), тут ёсць магчымасць высвятлення дадзенага пытання адразу паміж чатырма пацукамі з выкарыстаннем адпаведнага аўталагічнага кантроля.



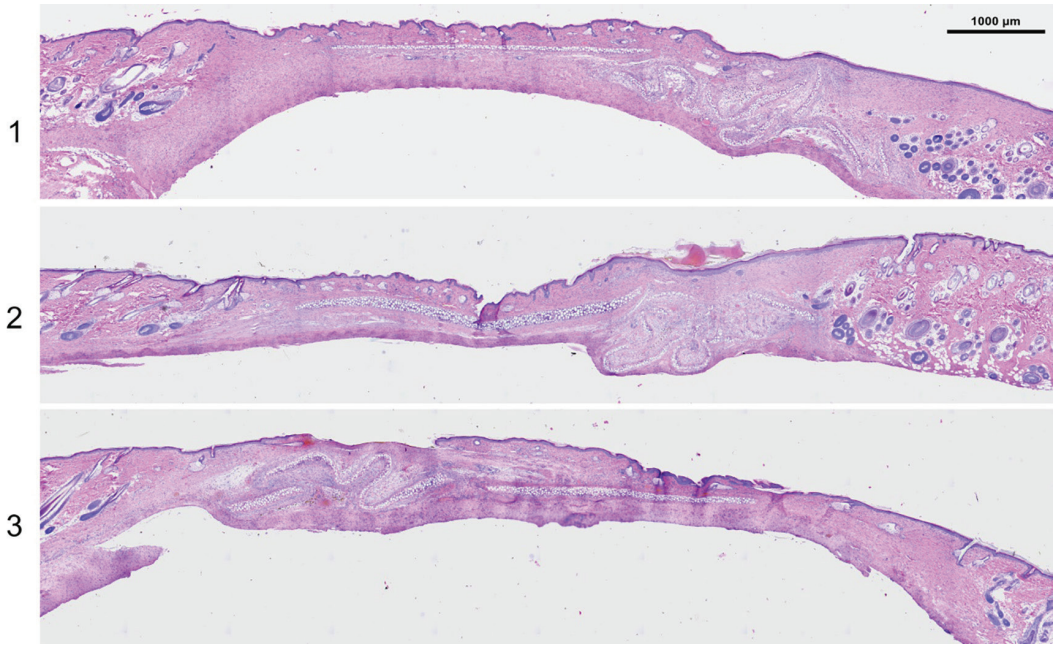
Мал. 2. Выгляд ахоўнай камеры, ПСД і ТТ на яго паверхні ў ходзе іх прыжыўлення і адрынання ў аднаго з пацукоў, забітага для гісталагічнага даследавання праз 104 дні пасля трансплантацыі (пасля 19 сут пасля трансплантацыі ахоўная камера ўсталёўвалася на скуры для маштабу). ВАУТ размешчаны ў левым ніжнім вугле (№ 3; гл. мал. 1). Бачна, што усе ТТ праз суткі пасля пераносу на РП выглядаюць бялёсымі, праз 2 сут – паружавелымі, праз 7–8 сут – прыжылымі. Аднак праз 9 сут ВАЛТ № 1 і № 4 сталі жаўтаватымі, ацёчнымі, а яшчэ праз суткі пакрыліся струпамі. Аналагічныя змены адбыліся з ВАЛТ № 2 на працягу 18–20 сут. Памер ВАЛТ памяншаецца (у ВАУТ – не). На скуры на іх месцы застаюцца рубцовыя змяненні. Лічбамі пазначана: 0 – дзень, у які была выканана трансплантацыя; –1, –2 – суткі да трансплантацыі; 1–104 – суткі пасля трансплантацыі

Fig. 2. Protective chamber, FSD, grafts on its surface during their engraftment and rejection in one of the rats killed for histological 104-day examination after transplantation (in 19 days after transplantation, a security camera was installed on the skin for scale). The EAUG is located in the lower left corner (its number 3; see fig. 1). It can be seen that in one day after transfer to the WS, all grafts look whitish, in 2 days – pinkish. In 7–8 days, all grafts appear to be survivors. However, in 9 days, EALG No. 1 and No. 4 became yellowish, edematous, and in another day they were covered by a scabs. Similar changes occurred with VALT No. 2 in the interval of 18–20 days. The EALG size is reduced (for EALG, it is not). Cicatricial changes remain on the skin in their place. The numbers indicate: 0 – day after transplantation; –1, –2 – days before transplantation; 1–104 days after transplantation



Мал. 3. Змена колькасці вушных трансплантатаў, якія захавалі прыкметы жыццяздольнасці, у жывёл усіх трох груп. Рознымі колерамі пазначаны навукова-даследчыя інстытуты, з якіх былі ўзяты пацукі

Fig. 3. Change in the number of ear grafts that retained the viability signs in the animals of all three groups. The different colors are the research institutes from which the rats were taken



Мал. 4. Выгляд трох участкаў скуры (пазначаны лічбамі 1–3 злева) на месцы былога ПСД на вертыкальных гісталагічных зрэзах праз 35 сут пасля трансплантацыі ВАУТ і ВАЛТ. Ва ўсіх выпадках бачны краі інтактнай скуры вакол былой РП (пярэдні край знаходзіцца злева, задні – справа). На зрэзах 1 і 2 ВАУТ размешчаны бліжэй да пярэдняга края раны, а на зрэзе 3 – да задняга. ВАУТ таксама пазнаюцца па роўных пластах жыццяздольных аўтатрансплантаваных ХЦ, над якімі знаходзіцца дэрма з вытворнымі эпідэрміса і сам эпідэрміс. Таксама бычны пласты жыццяздольных алатрансплантаваных ХЦ (на кожным зрэзе па 2–3 пласты), якія знаходзяцца на месцы былых ВАЛТ, але яны сціснуты ў складкі сіламі кантракцыі, а над імі знаходзіцца толькі ГТ, пакрытая эпідэрмісам

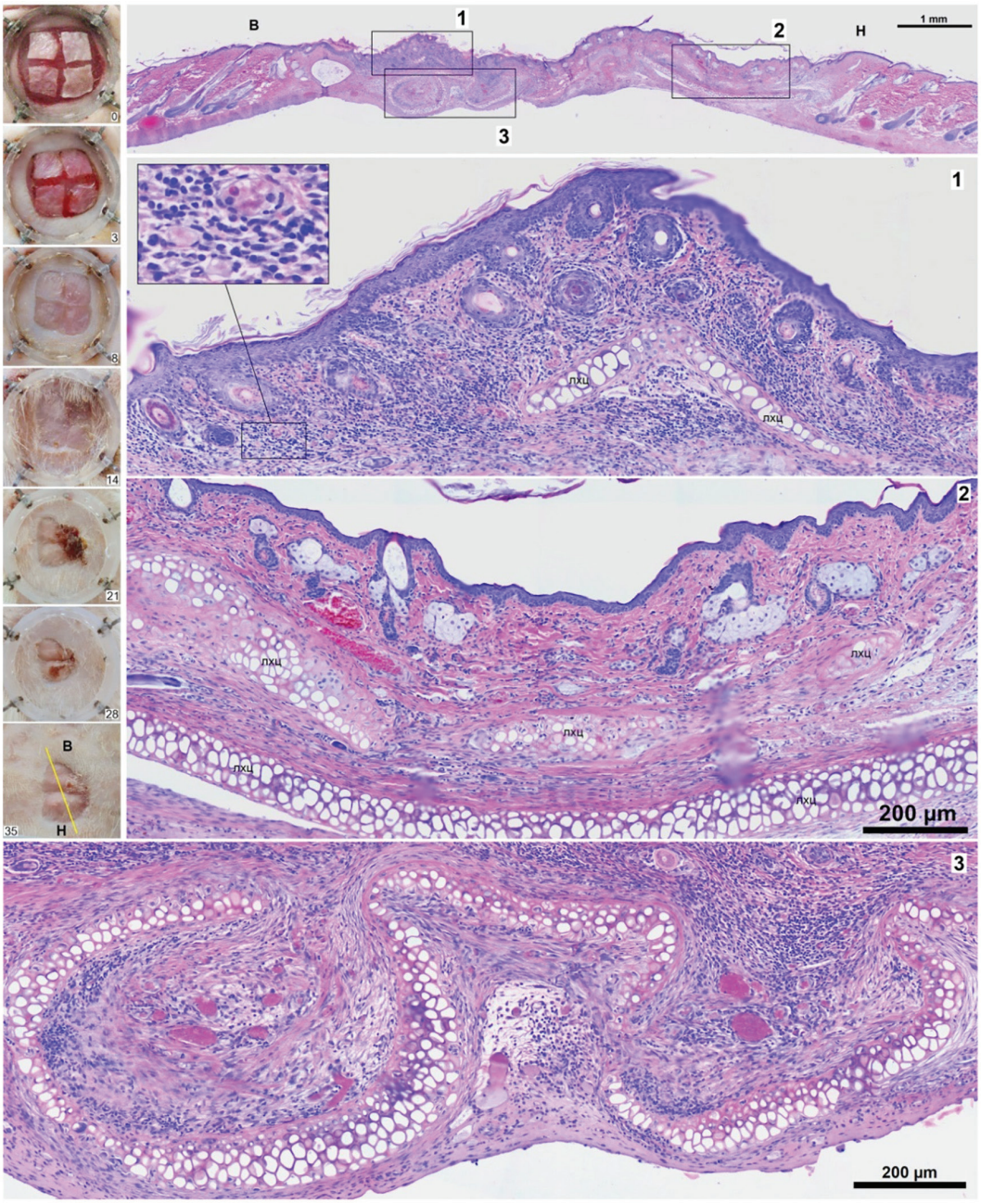
Fig. 4. Three skin areas (marked with numbers 1–3 on the left) in the place of the former FSD on the vertical histological sections in 35 days after EAUG and EALG transplantation. In all cases, the edges of the intact skin around the former RP are visible (the anterior edge is on the left, the posterior edge is on the right). On sections 1 and 2, the EAUG's are located closer to the front edge of the wound, and on section 3, to the back. The EAUG's are also recognizable by the even viable autotransplanted LHC layers, above which there is a dermis with the epidermis derivatives and the epidermis itself. Also, the viable alatransplanted LHC layers (2–3 layers on each cut) are visible, which are located in the place of the former EALG. But they are compressed into folds by the contraction muscles, above them there is only the GT covered by epidermis

Гісталагічнае вывучэнне тканак, узятых ад жывёл праз 35 сут пасля трансплантацыі, дазволіла ва ўсіх 8 выпадках таксама выявіць жыццяздольныя ВАУТ. Пры гэтым ВАУТ па-ранейшаму мелі пад эпідэрмісам тонкую дэрму, у тоўшчы якой знаходзіліся валасяныя фалікулы і сальныя залозы. Пад дэрмай кожнага з ВАУТ знаходзіўся пласт ХЦ (мал. 4).

Тыя месцы былога ПСД, дзе раней знаходзіліся ВАЛТ, выглядалі інакш. Яны былі пакрыты эпідэрмісам і грануляцыйнай тканкай (ГТ). Пад імі ва ўсіх 8 выпадках знаходзіліся пласты (як правіла, дэфармаваныя) алагенных ХЦ, якія засталіся там пасля адрынання іншых тканак ВАЛТ. Пры гэтым сляды прысутнасці іншых частак вушных скурна-хандрацытарных ТТ адсутнічалі (мал. 4).

Той адзіны ВАЛТ, які звонку ўсё яшчэ выглядаў жыццяздольным праз 35 сут пасля трансплантацыі, на справе таксама знаходзіўся ў пачатку адрынання – яго тоўшча была інфільтравана вялікай колькасцю монануклеараў. Яго дадатковымі рысамі, па якіх ён адрозніваўся ад ВАУТ, былі таўсцейшы эпідэрміс, адсутнасць тыповых сальных залоз (мал. 5, участак 1; параўнайце з участкам 2, дзе адсутнічае такая інфільтрацыя ў ВАУТ).

Такая ж карціна назіралася ў пацукоў праз 104 і нават праз 210 сут пасля трансплантацыі – як макраскапічна, так і на гісталагічных зрэзах былі бачны ВАУТ з усімі апісанымі вышэй структурамі, а на месцы былых ВАЛТ пад рубцовай тканкай знаходзіліся больш ці менш дэфамаваныя пласты ХЦ. Праўда, цяпер некаторыя з іх утрымлівалі значна большую колькасць клеткавых слаёў, чым 2–3 (як у інтактным стане), і ў ХЦ у такіх пластах кроплі тлушчу былі меншымі (мал. 6).



Мал. 5. Змены вонкавага выгляду чатырох ТТ на РП аднаго з пацукоў на працягу 5 тыдняў пасля трансплантацыі і іх выгляд на гісталагічным зрэзе ў дзень забою (35-я суткі пасля трансплантацыі). На слупку злева бачны адзін ВАУТ (займае на РП ніжні левы вугал) і тры ВАЛТ (лічбамі пазначаны суткі пасля трансплантацыі). Уверсе на гісталагічным фота паказана вобласць раны з двума ТТ, якія знаходзіліся на РП у гэты час, і ўчасткамі скуры па краях ад раны (на ім лічбамі пазначаны ўчасткі ў рамках, паказаныя ніжэй пры большым павелічэнні). Пад абодвума ТТ прысутнічаюць пласты алагенных ХЦ, якія акрамя дэфармацыі істотна не адрозніваюцца ад такіх жа пластоў аўтагенных ХЦ. На ўчастку 3 – пласт ХЦ алагеннага паходжання, які апынуўся пад ТТ пасля адрынання дэрмы з эпідэрміса. Літары «В» і «Н» пазначаюць верхні і ніжні краі раны адпаведна

Fig. 5. Changes in the appearance of four grafts on the WS in one of the rats in 5 weeks after transplantation and their appearance on the histological section on the day of slaughter (in 35 days after transplantation). On the left column of the photo, one EAUG is visible (it occupies the lower left corner on the RP) and three EALGs (the numbers indicate the day after transplantation). At the top, the histological photo shows the area of the wound inclusive with two grafts on the RP at this time and the skin areas along the edges of the wound (they show the areas within the frames with numbers. At the bottom, they are shown at higher magnification). Beneath two GFs, there are the allogeneic LHC layers which, apart from deformation, do not differ significantly from the same autogenous LHC layers. Plot 3 demonstrates the LHC layer of allogeneic origin that appeared under the grafts after dermis rejection from E. The letters “U” and “L” denote the upper and lower edges of the wound, respectively



Мал. 6. Выгляд участка скуры на месцы былога ПСД як звонку, так і на папярочным гісталагічным зрэзе праз 210 сут пасля трансплантацыі ВАУТ і ВАЛТ. На першым фотаздымку (1) паказаны знешні выгляд вобласці былога ПСД праз 210 сут пасля трансплантацыі; справа – вобласць таго ж ПСД пры большым павелічэнні (поўсць выдалена, жоўтая лінія паказвае кірунак, паралельна якому праходзілі зрэзы). На гісталагічным зрэзе (фота 2) бачны краі інтактнай скуры вакол былой РП (пярэдні край знаходзіцца злева). Бліжэй да пярэдняга края знаходзіцца ВАУТ (бачны роўны пласт ХЦ, над якімі знаходзіцца эпідэрміс, вытворныя эпідэрміса і дэрма), правей – пласты жыццяздольных алатрансплантаваных ХЦ, якія знаходзяцца на месцы былога ВАЛТ і дэфармаваны сіламі кантракцыі. Пры большым павелічэнні (фота 3) бачна, што над гэтымі пластамі зноходзіцца рубцовая тканка, пакрытая эпідэрмісам

Fig. 6. View of the skin area at the site of the former FSD both externally and on a histological cross-sectional section 210 days after transplantation EAUG and EALG. The first photo (1) shows the appearance of the area of the former PSD in 210 days after transplantation; on the right is the area of the same PSD at a higher magnification (the hair is removed, the yellow line shows the direction parallel to which the slices passed). The histological section (photo 2) shows the edges of intact skin around the former RP (the anterior edge is on the left). Closer to the front edge is EAUG (an even layer of HC is visible, above which there is epidermis, derivatives of epidermis and dermis), to the right – layers of viable allatransplanted HC, which are located at the site of the former EAUG, deformed by the forces of contraction. At higher magnification (photo 3), it can be seen that above these layers there is scar tissue covered by epidermis

Такім чынам, у гісталагічнай частцы даследавання дадаткова да адзначанага выяўлены феномен, калі ў пацукоў пасля трансплантацыі ВАЛТ назіраецца заканамернае і даволі хуткае (найчасцей на працягу другаго і трэцяга тыдняў пасля трансплантацыі) адрынанне іх дэрмальнай часткі разам з эпідэрмісам і яго вытворнымі, а алагенныя ХЦ дадзеных ТТ пагружаюцца пад

паверхню раны і захоўваюцца там у жыццяздольным стане больш за 7 мес. Такі феномен варта лічыць з'явай частковага адрынання ВАЛТ, які можа быць абумоўлены імуналагічна бар'ернай уласцівасцю пласта ХЦ.

Вядома, што ў арганізмах хрыбтовых і чалавека імуналагічна забар'ернымі (імунапрывілеяванымі) з'яўляюцца некаторыя структуры цэнтральнай нярвовай сістэмы, шчытападобнай залозы, вока, семеннікоў, сістэмы маці–плод [15–17]. Да часткі антыгенаў, якія прысутнічаюць у дадзеных органах, няма імуналагічнай талерантнасці, якая ў норме развіваецца на пэўнай стадыі антагенэзу да ўсіх аўтаантыгенаў. Гэта значыць, што ў дарослым арганізме існуюць клоны лімфацытаў, здольныя даваць імунны адказ на некаторыя антыгены ў названых органах, але імуналагічныя бар'еры робяць немагчымым кантакт імунакампетэнтных клетак з імі [15–17].

Так, яшчэ паўтара стагоддзя таму нямецкі афтальмолаг van Dooremaal заўважыў адсутнасць адрынання змешчаных у пярэднюю камеру вока сабакі ТТ скуры мышэй [18]. Значна пазней Medawar увеў паняцце «імунная прывілеяванасць», дадаткова апісаўшы гэтую з'яву і ў галаўным мазгу (P. B. Medawar, 2003).

Гістагематычныя імуналагічныя бар'еры адрозніваюцца адзін ад аднаго сваёй будовай і фізіялагічнымі ўласцівасцямі. Так, гематаафтальмічны бар'ер (уключае сасуды весялковай абалонкі, эпітэлій цыліярнага цела, пігментны эпітэлій, сасуды сятчаткі) перашкаджае доступу Т-клетак і антыцел да рагавіцы, яе эндатэлія, цыліярнага цела, весялковай абалонкі, пігментнага эпітэлія сятчаткі [19, 20].

Гематаэнцэфалічны бар'ер (разам з гематалікварным бар'ерам) ізалюе цэнтральную нервовую сістэму і спінамазгавую вадкасць ад сістэмы краватоку і імуннай сістэмы за кошт спецыялізаваных і звязаных паміж сабой эндатэліяльных клетак, базальнай мембраны капіляраў, перыцытаў, астрацытаў і нейронаў, якія разам утвараюць «нейраваскулярную адзінку» [21, 22].

Гемататэсцікулярны бар'ер знаходзіцца паміж кравяноснымі сасудамі і семяннымі канальцамі. У яго склад уваходзяць эндатэлій капіляраў, базальная мембрана эндатэлія, перыцыты, праслойкі рыхлай злучальнай тканкі, абалонкі звітога семяннога канальца, базальная мембрана эпітэліяспермальнага слою, клеткі Сертолі [23].

Гемататырэоідны бар'ер робіць недаступным для імуннай сістэмы тырыяглабін, які ў норме не паступае ў кроў. У склад гемататырэоіднага бар'еру ўваходзяць эндатэлій гемакапіляра, базальная мембрана эндатэлію, праслойка рыхлай валакністай неаформленай злучальнай тканкі і сам цірацыт [24].

У час цяжарнасці паміж мацярынскім арганізмам і плодам усталёўваюцца складаныя ўзаемаадносіны, якія ўяўляюць сабой функцыянальную сістэму маці – плацэнта – плод. Імуналагічна бар'ерная функцыя плацэнты (а яна неабходна, бо плод – імуналагічна чужародны аб'ект) забяспечваецца пластамі сінцыятрафабласта, клеткавым трафабластам, злучальнай тканкай варсінак і сценкамі сасудаў. Плацэнтарны бар'ер пранікальны для матчыных антыцелаў, якія абараняюць нованароджанае немаўля ад інфекцыйных захворванняў да таго часу, пакуль не пачне функцыянаваць яго ўласная імунная сістэма. Аднак ён жа перашкаджае ўзаемнаму пранікненню клеткавых антыгенаў [25–27].

Вядома, што забар'ернай з'яўляецца і храстковая тканка млекакормячых. Гэтая яе ўласцівасць выкарыстоўваецца для АЛТ храсткоў у пластычнай хірургіі [28].

Грунтуючыся на прыведзеных даных, можна выказаць меркаванне, што алагенныя пласты ХЦ вушных ракавін лабараторных пацукоў таксама належаць да імунапрывілеяваных забар'ерных структур. Такая іх уласцівасць, найверагодней, абумоўлена наяўнасцю вакол ХЦ тонкіх эластычных абалонак. Апошнія ўтрымліваюць пэўныя рэчывы, якія ў такой форме выяўляюць у тым ліку і сваю біялагічную актыўнасць (не даюць магчымасці імуннай сістэме арганізма гаспадара кантактаваць з чужароднамі антыгенамі алагенных ХЦ).

Заключэнне. Распрацаваны лёгка выканальны метад выяўлення генетычнай блізкасці паміж лабараторнымі пацукамі, заснаваны на пераносе вушных скурна-хандрацытарных аўта- і алатрансплантатаў на паверхню ПСД. Паказана, што пацукоў Вістар нельга называць лініяй, а толькі пародай.

У гэтых жывёл прадэманстравана ў дынаміцы прыжыўленне і адрынанне (пераважна на працягу 8–21 сут) скурных алатрансплантатаў на фоне прыжыўлення і пажыццёвага захавання аўтатрансплантатаў. Аднак у вушных алатрансплантатаў гінуць і адрынаюцца толькі эпідэрміс, дэрма, вытворныя эпідэрміса. Пласты ж ХЦ дэфармуюцца і пагружаюцца пад ГТ і застаюцца там у жыццяздольным стане на працягу не менш за 210 сут. Такім чынам, выяўлены феномен частковага адрынання вушных алатрансплантатаў. Захаванне пластоў алагенных ХЦ у целе рэцыпіента, верагодна, абумоўлена эластычнымі абалонкамі, якія пакрываюць гэтыя клеткі і праяўляюць біялагічную актыўнасць імуннага бар'ера.

Канфлікт інтарэсаў. Аўтары заяўляюць аб адсутнасці канфлікту інтарэсаў.

Спіс выкарыстаных крыніц

1. Staats, J. Standardized nomenclature for inbred strains of mice: third listing / J. Staats // Cancer Res. – 1964. – Vol. 24. – P. 147–168.

2. Бескова, Т. Б. Модификация метода реципрокной трансплантации кожи у лабораторных мышей / Т. Б. Бескова // Биомедицина. – 2007. – № 6. – С. 161–163.

3. Исследование гомозиготности двух сублиний BALB/cY и BALB/cP высокоинбредной линии BALB/c / Х. Х. Семенов [и др.] // Биомедицина. – 2009. – № 1. – С. 49–54.

4. Survival of skin graft between transgenic cloned dogs and non-transgenic cloned dogs / A. G. Kim [et al.] // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9, N 11. – P. e108330. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108330

5. Skin graft survival in genetically identical cloned pigs / J. M. Martin [et al.] // Clon. Stem Cells. – 2003. – Vol. 5, N 2. – P. 117–121. https://doi.org/10.1089/153623003322234713

6. Skin graft survival in genetically identical bone marrow mesenchymal stem cells cloned pigs with different mitochondrial haplotypes / H. H. Kwak [et al.] // Transpl. J. – 2012. – Vol. 94, N 10. – P. 574.

7. New approach to assess the readiness of the wound surface for acceptance of a skin graft / A. A. Bakunovich [et al.] // Priority directions of science development : abstr. 5th Int. sci. and pract. conf. (Lviv, Ukraine, March 2–3, 2020) / ed. M. L. Komarytskyy. – Lviv, 2020. – P. 75–79.

8. Sanzone, C. F. The development of the elastic cartilage of the mouse pinna / C. F. Sanzone, E. J. Reith // Am. J. Anat. – 1976. – Vol. 146, N 1. – P. 31–71. https://doi.org/10.1002/aja.1001460103

9. Ahmed, Y. A. Adipochondrocytes in rabbit auricular cartilage / Y. A. Ahmed, M. Abdelsabour-Khalaf // Assiut Veterin. Med. J. – 2018. – Vol. 64, N 156. – P. 105–109. https://doi.org/10.21608/avmj.2018.168704

10. Kostović-Knežević, L. Ultrastructure of elastic cartilage in the rat external ear / L. Kostović-Knežević, Ž. Bradamante, A. Švajger // Cell Tissue Res. – 1981. – Vol. 218, N 1. – P. 149–160. https://doi.org/10.1007/bf00210101

11. Differentiation of the secondary elastic cartilage in the external ear of the rat / Ž. Bradamante [et al.] // Int. J. Dev. Biol. – 1991. – Vol. 135, N 3. – P. 311–320.

12. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур : ГОСТ 33215-2014. – М. : Стандартинформ, 2019. – 12 с.

13. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами : ГОСТ 33216-2014. – М. : Стандартинформ, 2019. – 9 с.

14. Надлежащая лабораторная практика : ТКП 125-2008 (02040). – Минск : М-во здравоохранения Респ. Беларусь, 2008. – 35 с.

15. Immunobiology: the immune system in health and disease / Ch. A. Janeway Jr. [et al.]. – 5th ed. – New York : Garland Publishing, 2001. – 884 p.

16. Simpson, E. A. historical perspective on immunological privilege / E. A. Simpson // Immunol. Rev. – 2006. – Vol. 213, N 1. – P. 12–22. https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2006.00434.x

17. Immune privilege or privileged immunity? / J. V. Forrester [et al.] // Mucosal Immunol. – 2008. – Vol. 1, N 5. – P. 372–381. https://doi.org/10.1038/mi.2008.27

18. Niederkorn, J. Y. See no evil, hear no evil, do no evil: the lessons of immune privilege / J. Y. Niederkorn // Source Doc. Nat. Immunol. – 2006. – Vol. 7, N 4. – P. 354–359. https://doi.org/10.1038/ni1328

19. Kaplan, H. J. Anatomy and function of the eye / H. J. Kaplan // Immune Response and the Eye / eds. : J. Y. Niederkorn, H. J. Kaplan. – Basel, 2007. – Vol. 92. – P. 4–10.

20. Niederkorn, J. Y. History and physiology of immune privilege / J. Y. Niederkorn, J. Stein-Streilein // Ocul. Immunol. Inflamm. – 2010. – Vol. 18, N 1. – P. 19–23. https://doi.org/10.3109/09273940903564766

21. Obermeier, B. The blood–brain barrier / B. Obermeier, A. Verma, R. M. Ransohoff // Handbook of Clinical Neurology / ed. S. J. Pittock, A. Vincent. – Amsterdam, 2016. – Vol. 133. – P. 39–59.

22. Banks, W. A. The blood–brain barrier in neuroimmunology: Tales of separation and assimilation / W. A. Banks // Brain, Behav. Immun. – 2015. – Vol. 44. – P. 1–8. https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.08.007

23. Kaur, G. An overview of a Sertoli cell transplantation model to study testis morphogenesis and the role of the Sertoli cells in immune privilege / G. Kaur, S. Vadala, J. M. Dufour // Env. Epigen. – 2017. – Vol. 3, N 3. – Art. dvx012. https://doi.org/10.1093/eep/dvx012

24. Transgenic expression of fas ligand on thyroid follicular cells prevents autoimmune thyroiditis / F. Batteux [et al.] // J. Immunol. – 2000. – Vol. 164, N 4. – P. 1681–1688. https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.4.1681

25. Structure-based modelling in reproductive toxicology: (Q)SARs for the placental barrier / M. Hewitt [et al.] // SAR and QSAR Env. Res. – 2007. – Vol. 18, N 1–2. – P. 57–76. https://doi.org/10.1080/10629360601053893

26. Challier, J. C. The placental barrier: structure, resistance, asymmetry / J. C. Challier // Reprod. Nutr. Dev. – 1989. – Vol. 29, N 6. – P. 703–716.

27. Bhattacharya, N. Placenta: a massive biological resource for clinical applications in regenerative medicine / N. Bhattacharya, P. Sengupta // Madridge J. Int. Emerg. Med. – 2019. – Vol. 3, N 1. – P. 84–89. https://doi.org/10.18689/mjiem-1000119

28. Cheng, X. Allotransplantation of cryopreserved fetal cartilage in plastic surgery / X. Cheng, T. Zhao, G. Li // Zhonghua. – 1999. – Vol. 15, N 1. – P. 43–45.

References

1. Staats J. Standardized nomenclature for inbred strains of mice: third listing. *Cancer Research*, 1964, vol. 24, pp. 147–168.

2. Beskova T. B. Modification of skin grafting method in laboratory mice. *Biomeditsina* [Biomedicine], 2007, no. 6, pp. 161–163 (in Russian).

3. Semenov Kh. Kh., Karkishchenko N. N., Beskova T. B., Matveenko E. L. The study of homozygosis in two substrains BALB/cY and BALB/cP of high inbread BALB/c strain. *Biomeditsina* [Biomedicine], 2009, no. 1, pp. 49–54 (in Russian).

4. Geon A. Kim, Hyun Ju Oh, Min Jung Kim, Young Kwang Jo, Jin Choi, Jung Eun Park [et al.]. Survival of skin graft between transgenic cloned dogs and non-transgenic cloned dogs. *PLoS ONE*, 2014, vol. 9, no. 11, p. e108330. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108330

5. Martin M. J., Yin D., Adams C., Houtz J., Shen J., Chong A. S., Sharma A., Byrne G. W., Wiseman B. S., Logan J. S. Skin graft survival in genetically identical cloned pigs. *Cloning and Stem Cells*, 2003, vol. 5, no. 2, pp. 117–121. https://doi.org/10.1089/153623003322234713

6. Kwak H. H., Park K.-M., Nam H.-S., Park S.-M., Woo H.-M. Skin graft survival in genetically identical bone marrow mesenchymal stem cells cloned pigs with different mitochondrial haplotypes. *Transplantation Journal*, 2012, vol. 94, no. 10, p. 574.

7. Bakunovich A. A., Astrowski A. A., Yarashenka Y. V., Buko V. U. New approach to assess the readiness of the wound surface for acceptance of a skin graft. *Priority directions of science development. Abstracts of V International scientific and practical conference (Lviv, Ukraine, March 2–3, 2020).* Lviv, 2020, pp. 75–79.

8. Sanzone C. F., Reith E. J. The development of the elastic cartilage of the mouse pinna. *American Journal of Anatomy*, 1976, vol. 146, no. 1, pp. 31–71. https://doi.org/10.1002/aja.1001460103

9. Ahmed Y. A., Abdelsabour-Khalaf M. Adipochondrocytes in rabbit auricular cartilage. *Assiut Veterinary Medical Journal*, 2018, vol. 64, no. 156, pp. 105–109. https://doi.org/10.21608/avmj.2018.168704

10. Kostović-Knežević L., Bradamante Ž., Švajger A. Ultrastructure of elastic cartilage in the rat external ear. *Cell Tissue Research*, 1981, vol. 218, no. 1, pp. 149–160. https://doi.org/10.1007/bf00210101

11. Bradamante Ž., Kostović-Knežević L., Levak-Švajger B., Švajger A. Differentiation of the secondary elastic cartilage in the external ear of the rat. *International Journal of Development Biology*, 1991, vol. 135, no. 3, pp. 311–320.

12. State Standart 33215-2014. *Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for equipping premises and organizing procedures.* Moscow, Standartinform Publ., 2019. 12 p. (in Russian).

13. State Standart 33216-2014. *Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for the maintenance and care of laboratory rodents and rabbits.* Moscow, Standartinform Publ., 2019. 9 p. (in Russian).

14. TKP 125-2008 (02040). *Good Laboratory Practice.* Minsk. Ministry of Health of the Republic of Belarus, 2008. 35 p. (in Russian).

15. Janeway Ch. A., Travers Jr. P., Walport M., Shlomchik M. J. *Immunobiology: the immune system in health and disease. 5th ed*. New York, Garland Publishing, 2001. 884 p.

16. Simpson E. A. Historical perspective on immunological privilege. *Immunological Reviews*, 2006, vol. 213, no. 1, pp. 12–22. https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2006.00434.x

17. Forrester J. V., Xu H., Lambe T., Cornall R. Immune privilege or privileged immunity? *Mucosal Immunology*, 2008, vol. 1, no. 5, pp. 372–381. https://doi.org/10.1038/mi.2008.27

18. Niederkorn J. Y. See no evil, hear no evil, do no evil: the lessons of immune privilege. *Source of the Document Nature Immunology*, 2006, vol. 7, no. 4, pp. 354–359. https://doi.org/10.1038/ni1328

19. Kaplan H. J. Anatomy and function of the eye. *Immune Response and the Eye. Vol. 92.* Basel, 2007, pp. 4–10.

20. Niederkorn J. Y., Stein-Streilein J. History and physiology of immune privilege. *Ocular Immunology and Inflammation*, 2010, vol. 18, no. 1, pp. 19–23. https://doi.org/10.3109/09273940903564766

21. Obermeier B., Verma A., Ransohoff R. M. The blood–brain barrier. *Handbook of Clinical Neurology.* Amsterdam, 2016, vol. 133, pp. 39–59.

22. Banks W. A. The blood–brain barrier in neuroimmunology: tales of separation and assimilation. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2015, vol. 44, pp. 1–8. https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.08.007

23. Kaur G., Vadala S., Dufour J. M. An overview of a Sertoli cell transplantation model to study testis morphogenesis and the role of the Sertoli cells in immune privilege. *Environmental Epigenetics*, 2017, vol. 3, no. 3, art. dvx012. https://doi.org/10.1093/eep/dvx012

24. Batteux, F., Lores P., Bucchini D., Chiocchia G. transgenic expression of fas ligand on thyroid follicular cells prevents autoimmune thyroiditis. *Journal of Immunology*, 2000, vol. 164, no. 4, pp. 1681–1688. https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.4.1681

25. Hewitt M., Madden J. C., Rowe P. H., Cronin M. T. D. Structure-based modelling in reproductive toxicology: (Q)SARs for the placental barrier. *SAR and QSAR in Environmental Research*, 2007, vol. 18, no. 1–2, pp. 57–76. https://doi.org/10.1080/10629360601053893

26. Challier J. C. The placental barrier: structure, resistance, asymmetry. *Reproduction Nutrition Development*, 1989, vol. 29, no. 6, pp. 703–716.

27. Bhattacharya N., Sengupta P. Placenta: a massive biological resource for clinical applications in regenerative medicine. *Madridge Journal of Internal and Emergency Medicine*, 2019, vol. 3, no. 1, pp. 84–89. https://doi.org/10.18689/mjiem-1000119

28. Cheng X., Zhao T., Li G. Allotransplantation of cryopreserved fetal cartilage in plastic surgery. *Zhonghua*, 1999, vol. 15, no. 1, pp. 43–45.

Інфармацыя пра аўтараў

Астроўскі Аляксандр Аляксандравіч – д-р мед. навук, прафесар, кіраўнік групы. Інстытут біяхіміі біялагічна актыўных злучэнняў НАН Беларусі (БЛК, 50, 230030, г. Гродна, Рэспубліка Беларусь). E-mail: astrowski@gmail.com

Радута Алена Францаўна – ст. навук. супрацоўнік. Інстытут біяхіміі біялагічна актыўных злучэнняў НАН Беларусі (БЛК, 50, 230030, г. Гродна, Рэспубліка Беларусь). E-mail: elenamaria@mail.ru

Бакуновіч Аляксей Аляксеевіч – мал. навук. супрацоўнік. Інстытут біяхіміі біялагічна актыўных злучэнняў НАН Беларусі (БЛК, 50, 230030, г. Гродна, Рэспубліка Беларусь). E-mail: baptist.alexei@mail.ru

Юлія Уладзіславаўна Ярашэнка – мал. навук. супрацоўнік. Інстытут біяхіміі біялагічна актыўных злучэнняў НАН Беларусі (БЛК, 50, 230030, г. Гродна, Рэспубліка Беларусь). E-mail: Julia2222@yandex.ru

Шурыберка Аляксей Уладзіслававіч – загадчык сектарам. Інстытут біяхіміі біялагічна актыўных злучэнняў НАН Беларусі (БЛК, 50, 230030, г. Гродна, Рэспубліка Беларусь). E-mail: the_chemistry@tut.by

Шатрова Вера Алегаўна – выкладчык. Гродзенскі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт (вул. Горкага, 80, 230009, г. Гродна, Рэспубліка Беларусь). E-mail: msbiology@mail.ru

Бука Вячаслаў Вячаслававіч – д-р біял. навук, прафесар. Інстытут біяхіміі біялагічна актыўных злучэнняў НАН Беларусі (БЛК, 50, 230030, г. Гродна, Рэспубліка Беларусь). E-mail: vu.buko@tut.by

Семяненя Ігар Мікалаевіч – д-р мед. навук, прафесар, дырэктар. Інстытут біяхіміі біялагічна актыўных злучэнняў НАН Беларусі (БЛК, 50, 230030, г. Гродна, Рэспубліка Беларусь). E-mail: insemenenya@yandex.by

Information about the authors

Alexander A. Astrowski – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the group. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: astrowski@gmail.com

Helena F. Raduta – Senior Researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: elenamaria@mail.ru

Alexey A. Bakunovich – Junior Researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: baptist.alexei@mail.ru

Yulia V. Yarashenka – Junior Researcher. Institute of of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: Julia2222@yandex.ru

Alexey V. Shuryberka – Head of the Sector. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: the_chemistry@tut.by

Vera O. Shatrova – Lecturer. Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: msbiology@mail.ru

Vyacheslav U. Buko – D. Sc. (Med.), Professor. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: vu.buko@tut.by

Igor N. Semenenya – D. Sc. (Med.), Professor, Director. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: insemenenya@yandex.by

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616.314.17-008.1-002-008.87-071:325(4)
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-433-444

Поступила в редакцию 11.03.2021
Received 11.03.2021

Е. А. Тихомирова[1], И. В. Зудина[2], Е. С. Слажнева[1], Л. Ю. Орехова[3], Ю. Л. Денисова[4], С. П. Рубникович[4], Е. С. Лобода[3], В. Г. Атрушкевич[1]

[1]Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова, Москва, Российская Федерация
[2]Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Саратов, Российская Федерация
[3]Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Российская Федерация
[4]Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

ИЗУЧЕНИЕ КОРРЕЛЯЦИОННОЙ СВЯЗИ МЕЖДУ КЛИНИЧЕСКИМИ ПРОЯВЛЕНИЯМИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА И МИКРОБИОМОМ ПАРОДОНТОПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ У МОЛОДЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СМЕШАННОЙ ПОПУЛЯЦИИ ЕВРОПЕЙСКОГО РЕГИОНА

Аннотация. За последние десятилетия прослеживается тенденция к снижению возраста манифестации воспалительных заболеваний пародонта (ВЗП). Цель работы – изучение корреляции между составом пародонтопатогенов в содержимом зубодесневой борозды/пародонтального кармана (ЗДБ/ПК) и клиническими проявлениями ВЗП у лиц молодого возраста.

Обследовано 28 человек с катаральным гингивитом (КГ), 24 человека с агрессивным пародонтитом (АП) и 87 человек без клинических признаков ВЗП (Контроль). У всех пациентов определяли индекс гигиены и пародонтологический статус. В содержимом ЗДБ/ПК методом ПЦР идентифицировали ДНК пяти пародонтопатогенов. Статистическая обработка данных проводилась в программе Statistica 13.3. Критический уровень значимости – $p \leq 0{,}05$.

Не содержали ДНК пародонтопатогенов 60,9 % образцов контрольной группы и 7,1 % образцов группы пациентов с КГ, в остальных случаях бактерии обнаруживались как в одиночном состоянии, так и в составе комплексов. Наиболее часто в трех группах выявлялись *P. gingivalis* (P.g.) и *T. forsythia* (T.f.). В группе Контроль значимый вклад в формирование зубного налета вносили P.g. ($U = 474$, $p < 0{,}01$) и *A. actinomycetemcomitans* (A.a.) ($U = 209$, $p < 0{,}05$), у пациентов с КГ и АП – *T. denticola* (T.d.) ($U = 37{,}5$, $p < 0{,}05$ и $U = 34$, $p < 0{,}05$ соответственно). В группе пациентов с АП чаще регистрировались гноетечение и наличие в содержимом пародонтального кармана T.d. ($\chi^2 = 5{,}53$, $p < 0{,}05$; $V = 0{,}48$). Исключительно с ВЗП были ассоциированы T.f. + *P. intermedia* (P.i.) и P.g. + T.f. + P.i. Комплексы из четырех бактерий встречались только при АП.

Выявлена ассоциация пародонтопатогенов и их комплексов с различными формами ВЗП.

Ключевые слова: пародонтопатогены, комплексы пародонтопатогенов, воспалительные заболевания пародонта, катаральный гингивит, агрессивный пародонтит

Для цитирования: Изучение корреляционной связи между клиническими проявлениями воспалительных заболеваний пародонта и микробиомом пародонтопатогенной микрофлоры у молодых представителей смешанной популяции Европейского региона / Е. А. Тихомирова [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 4. – С. 433–444. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-433-444

Ekaterina A. Tikhomirova[1], Irina V. Zudina[2], Ekaterina S. Slazhneva[1], Liudmila Yu. Orekhova[3], Yuliya L. Denisova[4], Sergey P. Rubnikovich[4], Ekaterina S. Loboda[3], Victoria G. Atrushkevich[1]

[1]Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A. I. Yevdokimov, Moscow, Russian Federation
[2]Saratov National Research State University named after N. G. Chernyshevsky, Saratov, Russian Federation
[3]Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russian Federation
[4]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

STUDY OF THE CORRELATION BETWEEN THE CLINICAL MANIFESTATIONS OF THE INFLAMMATORY PERIODONTAL DISEASES AND THE MICROBIOME OF PERIODONTAL PATHOGENIC MICROFLORA IN YOUNG REPRESENTATIVES OF A MIXED POPULATION OF THE EUROPEAN REGION

Abstract. The age of inflammatory periodontal disease (PD) manifestations has tended to decrease over the past decades. The study of the range of periodontal pathogens in young people and their influence on the PD manifestation contributes to the predictor identification for the early prevention of this pathology.

The aim was to study the correlation between the range of periodontal pathogens in the dentoalveolar sulcus/periodontal pocket (DS/PC) contents and the clinical PD manifestations in young people.

We examined 28 patients (23.1 ± 0.93 years) with dental biofilm-induced gingivitis (BG), 24 patients (30.7 ± 0.6 years) with aggressive periodontitis (AgP), and 87 clinically periodontally healthy patients (21.1 ± 0.49 years) (Control). The hygiene index and the periodontal status were determined in all patients. DNA of five periodontal pathogens was identified by PCR in the DS/PC contents. The statistical analysis was performed in Statistica 13.3. The critical significance level was $p \leq 0.05$.

DNA was not observed in 60.9 % of the control group samples and 7.1 % of the BG group samples. In other cases, the bacteria were found separately and as part of bacterial complexes. P.g. and T.f. were most often detected in all groups. P.g. ($U = 474$, $p < 0.01$) and A.a. ($U = 209$, $p < 0.05$) significantly contributed to the plaque formation in the control group, T.d. – in BG and AgP groups ($U = 37.5$, $p < 0.05$ and $U = 34$, $p < 0.05$, respectively). In the AgP group, purulent discharge was more often recorded if T.d. was detected in the PC contents ($\chi^2 = 5.53$, $p < 0.05$). T.f. + P.i. and P.g. + T.f. + P.i. complexes were exclusively associated with PD. Complexes of four bacteria were found only in the AgP group.

The association of periodontal pathogens and their complexes with different PD forms was revealed.

Keywords: periodontal pathogens, polybacterial pathogenic consortium, inflammatory periodontal diseases, dental biofilm-induced gingivitis, aggressive periodontitis

For citation: Tikhomirova E. A., Zudina I. V., Slazhneva E. S., Orekhova L. Yu., Denisova Yu. L., Rubnikovich S. P., Loboda E. S., Atrushkevich V. G. Study of the correlation between the clinical manifestations of the inflammatory periodontal diseases and the microbiome of periodontal pathogenic microflora in young representatives of a mixed population of the European region. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 4, pp. 433–444 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-433-444

Введение. Воспалительные заболевания пародонта (ВЗП) по-прежнему остаются одной из самых важных проблем общественного здравоохранения в Европейском регионе ВОЗ. Так, по разным оценкам, тяжелые формы пародонтита выявляются у 5–20 % взрослых людей среднего возраста (35–44 года) и примерно у 40 % людей пожилого возраста (65–74 года) [1]. Однако за последние десятилетия все более отчетливо прослеживается тенденция к снижению возраста пациентов с ВЗП. Проведенные на территории Российской Федерации эпидемиологические исследования показали, что к 35 годам клинически здоровый пародонт сохраняется лишь у 4–5 % молодых людей, а первые признаки воспаления мягких тканей пародонта (гингивит) диагностируются в раннем возрасте (15 лет) у 45 % обследованных [2]. Тяжелая форма агрессивного пародонтита (АП), развивающаяся, как правило, у молодых людей, сопровождается быстрым разрушением круговой связки зуба, резорбцией костной ткани челюстей и потерей интактных зубов, что влечет за собой нарушение процесса жевания, ухудшение речи, психологический дискомфорт для пациента и необходимость сложного, длительного пародонтологического лечения и протезирования [3]. В связи с этим ВЗП представляют собой тяжелое бремя с серьезными социальными и экономическими последствиями как для индивидуума, так и для всего общества.

По мнению большинства зарубежных и отечественных исследователей, отправной точкой развития ВЗП – гингивита и пародонтита – является воспалительная реакция, возникающая в десне вследствие дисбаланса между сапрофитной и патогенной микрофлорой. Среди ключевых микробных индукторов воспалительной реакции называют такие пародонтопатогенные виды, как *Porphyromonas gingivalis* (P.g.), *Tannerella forsythia* (T.f.), *Prevotella intermedia* (P.i.), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a.) и *Treponema denticola* T.d.) [4–6].

В процессе эволюции у пародонтопатогенов развился целый ряд свойств, которые позволяют им успешно выживать в полости рта в условиях жесточайшей конкурентной борьбы. Прежде всего это способность конкурировать с аэробной сахаролитической нормофлорой полости рта и постепенно вытеснять ее за пределы микробного сообщества, формировать биопленки, устойчивые к воздействию бактериоцинов и антибиотиков, уклоняться разными способами от защитных систем макроорганизма [7, 8]. Существование микроорганизмов в виде биопленки существенно меняет их свойства, повышая степень вирулентности и резистентности, облегчая обмен генетической информацией между бактериями [8]. Интересно, что пародонтопатогены и их комплексы обнаруживаются также и у пациентов без клинических проявлений ВЗП. Вероятно, это связано с тем, что на начальных этапах паразитирование пародонтопатогенных бактерий протекает бессимптомно [9, 10]. Однако без должного гигиенического ухода за полостью рта в мягких тканях пародонта постепенно развивается воспалительная реакция, которая может быстро переходить

в более тяжелую форму с такими клиническими симптомами, как кровоточивость, разрушение круговой связки зуба, формирование пародонтального кармана, гноетечение, резорбция костной ткани, подвижность и выпадение зуба. В настоящее время уделяется большое внимание изучению комплексов пародонтопатогенов для того, чтобы понять, в какой момент состояние здоровья переходит в состояние болезни и какие сочетания бактерий являются предикторами ВЗП.

Цель данной работы – изучение корреляционной связи между составом пародонтопатогенной микрофлоры в содержимом зубодесневой борозды/пародонтального кармана (ЗДБ/ПК) и клиническими проявлениями воспалительных заболеваний пародонта у лиц молодого возраста из Европейского региона.

Задачи: составить репрезентативную выборку молодых людей в возрасте от 18 до 35 лет с ВЗП и без клинических признаков ВЗП; определить представленность комплексов ключевых пародонтопатогенов в содержимом ЗДБ/ПК; установить с помощью статистических методов наличие связи клинических проявлений разных форм ВЗП с микробным спектром.

Материалы и методы исследования. В исследовании приняло участие 139 молодых людей смешанной популяции Европейского региона в возрасте от 18 до 35 лет (средний возраст – 22,79 ± 0,46 года), среди которых было 50 мужчин и 89 женщин. Возраст обследованных лиц для участия в исследовании был обусловлен периодом манифестации АП.

На основании клинических данных, в соответствии с критериями включения, невключения и исключения все пациенты были разделены на две группы: 52 человека вошли в группу пациентов с ВЗП, а 87 человек (возраст 21,1 ± 0,49 года) – в группу пациентов без клинических признаков ВЗП (Контроль). В группе ВЗП было выявлено 28 человек (возраст 23,1 ± 0,93 года) с признаками катарального гингивита (КГ) и 24 человека (возраст 30,7 ± 0,6 года) с проявлениями АП.

Критерии включения пациентов в группу КГ:

наличие воспаления в десне с сохранением целостности зубодесневого прикрепления;

отсутствие пародонтальных карманов;

отсутствие резорбции костной ткани (костный индекс (КИ) = 1).

Критерии включения пациентов в группу АП:

потеря пародонтального прикрепления (CAL) более 4 мм;

неравномерная резорбция костной ткани, как правило, вертикальная и блюдцеобразная, преимущественно у резцов и первых моляров;

быстрое прогрессирование заболевания;

отсутствие самопроизвольной ремиссии;

возраст манифестации заболевания – до 35 лет.

Критерии включения пациентов в контрольную группу:

отсутствие воспалительных изменений в десне;

отсутствие кровоточивости десен либо не более 10 % кровоточащих при зондировании пародонтальным зондом участков (по индексу BOP);

глубина зондирования в области зубодесневой борозды ≤3 мм;

отсутствие патологической подвижности зубов;

отсутствие резорбции костной ткани (КИ = 1);

отсутствие в анамнезе воспалительных заболеваний пародонта.

Критерии невключения пациентов в исследование:

наличие беременности и период лактации;

пациенты с сопутствующей общесоматической патологией в стадии декомпенсации;

прием антибактериальных препаратов в последние 3 мес.

Критерии исключения пациентов: отказ пациента от участия в клиническом исследовании.

Все пациенты прошли пародонтологическое обследование, которое включало: определение индекса гигиены (ИГ) (Silness, Loe, 1967); индекса кровоточивости десневых сосочков (PBI) (Muhlemann, 1975); потери прикрепления зубодесневого соединения (CAL), мм; подвижности зубов по шкале Миллера (ПЗ) (S. C. Miller, 1938) в модификации Флезара (Flezar et al., 1980). Состояние костной ткани челюстей оценивали по ортопантомограмме, рассчитывая при этом КИ Фукса (Fuchs M., 1946). Третьи моляры при расчете не учитывали.

В процессе пародонтологического обследования у пациентов собирали содержимое зубодесневой борозды и пародонтального кармана в области 8 зубов разных групп верхней и нижней челюстей, используя стерильные кюреты Грейси и бумажные штифты. Собранный материал помещали в маркированные пластиковые пробирки (Eppendorf, Германия) и хранили при температуре –25 °С без размораживания.

ДНК пяти основных пародонтопатогенов (P.g., T.f., P.i., A.a и T.d.) выявляли в два этапа. Сначала из собранного клинического материала выделяли тотальную ДНК с помощью набора реагентов Diatom™ DNA Prep100 (ООО «Лаборатория Изоген», г. Москва). Затем проводили одноступенчатую мультиплексную ПЦР с использованием набора «Мультидент-5» (ООО «НПФ Генлаб», г. Москва). Аналитическая чувствительность данного набора составляет не менее 10^4 копий каждого возбудителя в 1 мл пробы.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли методами непараметрического анализа с использованием программ Statistica 13.3 и Microsoft Office Excel 2016. Количественные показатели представлены в виде M ± m, где M – среднеарифметическое значение, m – стандартная ошибка средней. Значимость различий между независимыми выборками устанавливали с помощью критерия χ^2 Пирсона, *U*-критерия Манна–Уитни, *H*-критерия Краскела–Уоллиса апостериорным критерием Данна. Для выявления связи между количественными показателями и оценки ее тесноты использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r_S). Силу связи между категориальными признаками оценивали с помощью *V*-критерия Крамера. Критическим считали уровень значимости при $p \leq 0{,}05$.

Результаты и их обсуждение. ***Данные клинического осмотра.*** При пародонтологическом обследовании было выявлено, что гигиена полости рта у пациентов с ВЗП ($ИГ_{КГ}$ = 1,11 ± 0,07; $ИГ_{АП}$ = 1,67 ± 0,18) была значительно хуже, чем у пациентов без клинических проявлений ВЗП (0,35 ± 0,04) (H = 69,6, $p < 0{,}01$), а также у пациентов с КГ (0,85 ± 0,09) и АП (1,23 ± 0,14). Наблюдалась выраженная кровоточивость десны (рис. 1), однако уровень гигиены и кровоточивость в группах КГ и АП статистически значимо не различались ($H_{ИГ}$ = –3,15, $p > 0{,}05$; $H_{РВІ}$ = –2,64, $p > 0{,}05$). В группе АП отмечались высокие показатели потери клинического прикрепления десны (6,2 ± 0,35) и патологической подвижности зубов (1,32 ± 0,1), а также выраженная резорбция костной ткани (0,63 ± 0,03).

Как видно из рис. 2, у лиц без клинических признаков ВЗП бóльшая часть образцов (60,9 %) не содержала ДНК пародонтопатогенных бактерий, тогда как у пациентов с ВЗП доля таких проб была существенно ниже (χ^2 = 27,98, $p < 0{,}01$). Так, в группе КГ патогены не были обнаружены у 7,1 % пациентов, а в группе АП все образцы содержали ДНК пародонтопатогенов.

Бактерии в исследуемом материале обнаруживались как в одиночном состоянии, так и в составе комплексов. Случаи выявления в образцах только одного из пяти пародонтопатогенов распределились следующим образом: в контрольной группе – 19,6 %, в группе КГ – 32,2, в группе АП – 8,3 %. Интересно, что каких-либо существенных различий по этому показателю между контрольной группой и пациентами с ВЗП не установлено (χ^2 = 1,9, $p > 0{,}05$), тогда как группы КГ и АП различались между собой статистически значимо (χ^2 = 4,39, $p < 0{,}05$). В целом у пациентов групп КГ и Контроль больше трех пародонтопатогенов в комплексе не встречалось. Следует отметить, что чем тяжелее проявления ВЗП, тем большее число исследуемых пародонтопатогенов определялось в биологическом материале. Так, четыре пародонтопатогена встречались только у пациентов с АП, пять пародонтопатогенов не обнаружено ни в одном случае, даже у пациентов с АП.

Более глубокий анализ видового состава выявленной пародонтопатогенной микрофлоры показал, что в образцах, собранных у представителей трех обследуемых групп, наиболее часто обнаруживались пародонтопатогенные виды P.g. и T.f. (рис. 3).

Среди всех пародонтопатогенов вид P.g. лидирует по частоте встречаемости у пациентов с КГ и без клинических проявлений ВЗП и широко распространен у пациентов с АП. Статистически значимые различия в частоте встречаемости P.g. были выявлены между контрольной группой и пациентами с ВЗП (χ^2 = 32,4, $p < 0{,}01$), но не между группами КГ и АП (χ^2 = 2,8, $p > 0{,}05$), что еще раз подтверждает статус этой грамотрицательной, асахаролитической, анаэробной коккобациллы как важного члена пародонтопатической микробиоты, участвующей в развитии и прогрессировании воспалительных заболеваний пародонта.

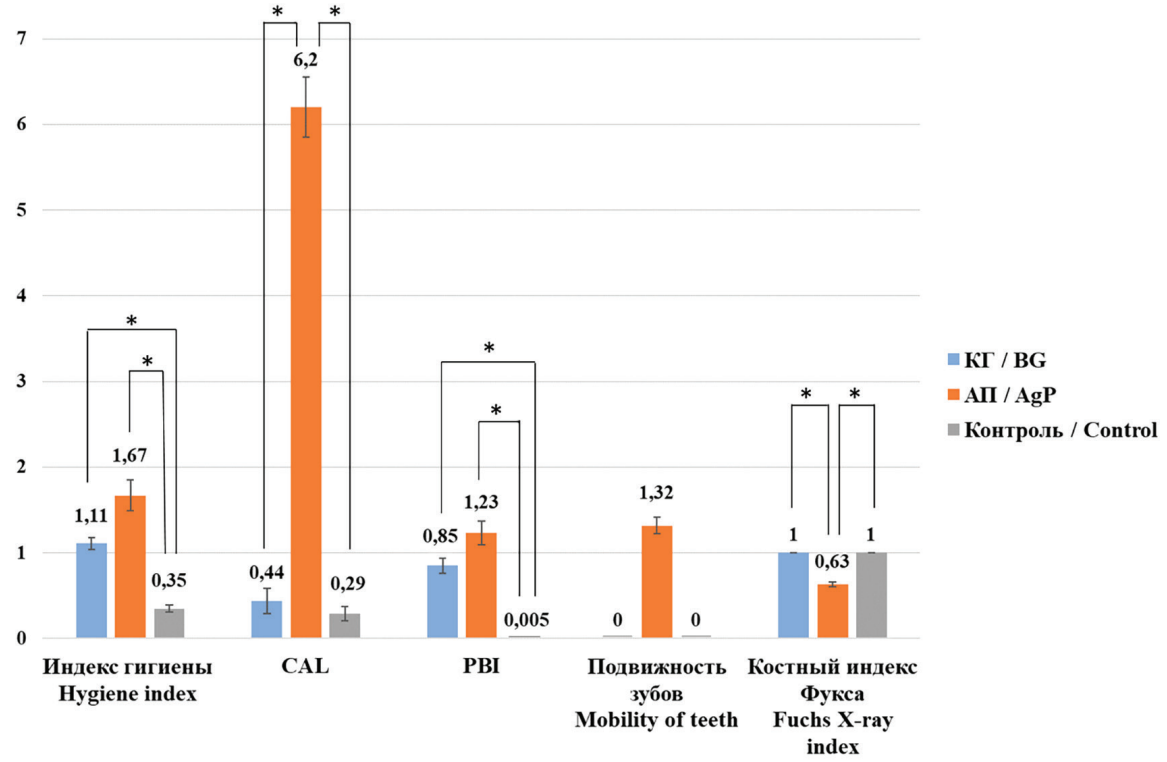


Рис. 1. Сравнительная оценка состояния тканей пародонта у пациентов, страдающих катаральным гингивитом (КГ), агрессивным пародонтитом (АП), и у лиц без клинических проявлений ВЗП (Контроль).
Здесь и на рис. 3, 4: * – статистически значимые различия ($p < 0,05$) между группами

Fig. 1. Comparative assessment of the periodontal tissue conditions in patients with dental biofilm-induced gingivitis (BG), aggressive periodontitis (AgP), and in periodontally healthy subjects (Control). Here and in Fig. 3, 4: * – statistically significant differences ($p < 0.05$) between the groups

Данные лабораторного исследования. На рис. 2 представлены результаты молекулярно-биологического анализа содержимого десневой борозды и пародонтальных карманов у пациентов с КГ, АП и у лиц контрольной группы.

Все три группы пациентов статистически значимо различались между собой по представленности T.f. ($\chi^2 = 53,4$, $p < 0,01$). Этот вид лидировал по частоте встречаемости среди всех пародонтопатогенов у пациентов с АП (рис. 3). По сравнению с P.g. вид T.f. выявлялся почти в 2 раза реже у пациентов с КГ и без клинических признаков ВЗП. Ряд зарубежных исследователей также обнаружили, что в поддесневой бляшке у лиц, страдающих пародонтитом, более распространен вид T.f., чем P.g. [11, 12].

Патогенная спирохета T.d. гораздо чаще выявлялась у пациентов с ВЗП, тогда как у лиц без клинических признаков ВЗП этот пародонтопатоген присутствовал в содержимом десневой борозды только в 3,4 % случаев, причем разница в частоте встречаемости в группах Контроль и ВЗП была статистически значимой ($\chi^2 = 23,4$, $p < 0,01$). При этом не было статистически значимых различий по частоте обнаружения T.d. между группами КГ и АП ($\chi^2 = 0,5$, $p > 0,05$). Эти результаты вполне согласуются с сообщением E. Chan с соавт. (2000) о том, что спирохеты составляют до 50 % полимикробной популяции поддесневых бляшек при пародонтите и менее 1 % у людей с клинически здоровым пародонтом [13].

Частота встречаемости вида P.i. в группах Контроль и АП существенно различалась ($\chi^2 = 8,9$, $p < 0,01$). Однако, несмотря на то что ДНК бактерии P.i. выявлялась в содержимом пародонтальных карманов у лиц, страдающих АП, в 2 раза чаще, чем в содержимом десневой борозды у пациентов с КГ, эта разница оказалась статистически не значимой ($\chi^2 = 1,65$, $p > 0,05$). Как видно из рис. 3, патоген A.a. детектировался реже остальных пародонтопатогенов, причем с частотой, близкой к таковой у пациентов с ВЗП и группы Контроль ($\chi^2 = 3,45$, $p > 0,05$).

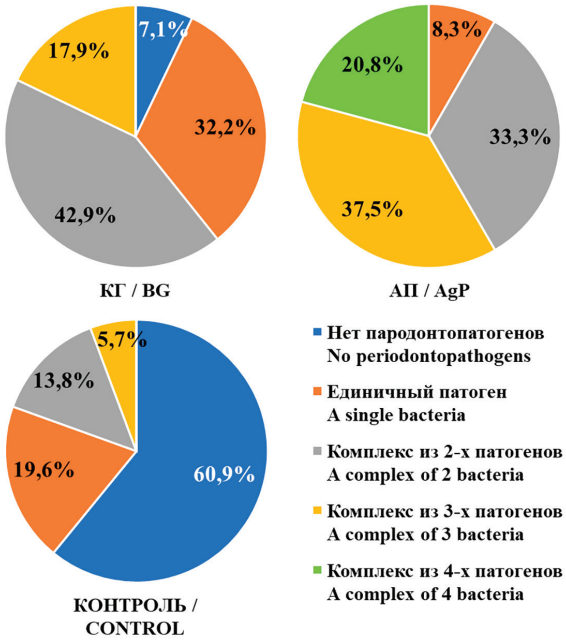


Рис. 2. Частота встречаемости единичных пародонтопатогенов и бактериальных комплексов в биологическом материале, собранном у пациентов с катаральным гингивитом (КГ), агрессивным пародонтитом (АП) и у лиц без клинических проявлений ВЗП (Контроль)

Fig. 2. Occurrence rate of single periodontal pathogens and bacterial complexes in the biological material collected in patients with dental biofilm-induced gingivitis (BG), aggressive periodontitis (AgP), and in patients with clinically healthy periodontium (Control)

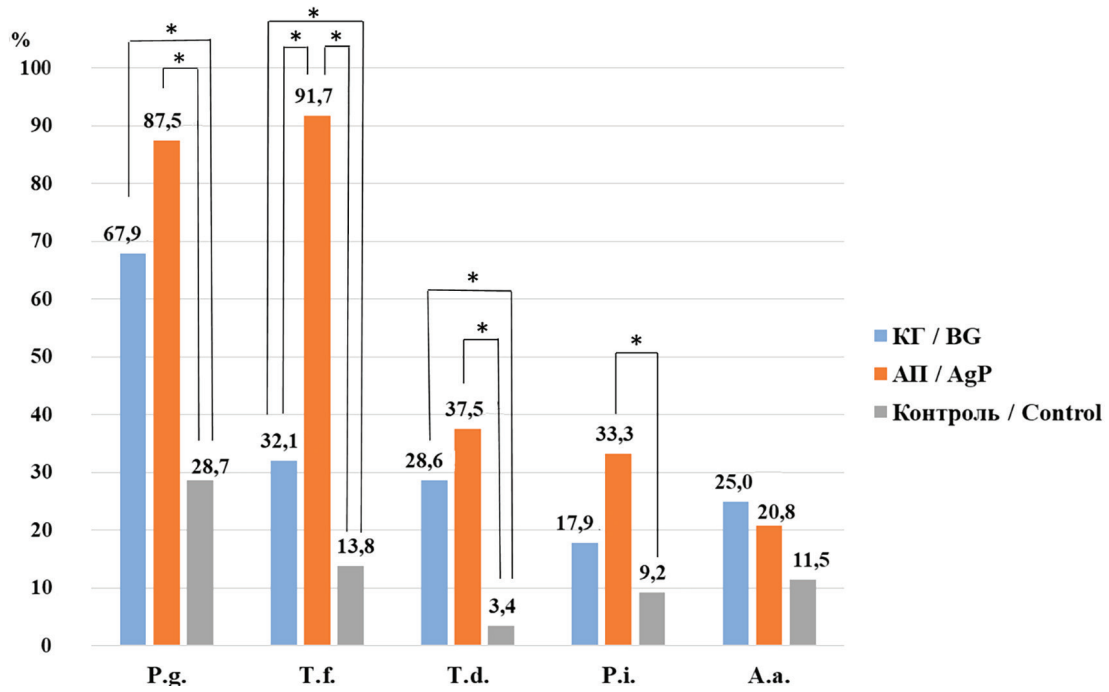


Рис. 3. Встречаемость пародонтогенов *P. gingivalis* (P.g.), *T. forsythia* (T.f.), *P. intermedia* (P.i.), *A. actinomycetemcomitans* (A.a.) и *T. denticola* (T.d.) в содержимом десневой борозды/пародонтальных карманов у пациентов с катаральным гингивитом (КГ), агрессивным пародонтитом (АП) и у лиц без клинических проявлений ВЗП (Контроль)

Fig. 3. Occurrence of the periodontal pathogens *P. gingivalis* (P.g.), *T. forsythia* (T.f.), *P. intermedia* (P.i.), A. *actinomycetemcomitans* (A.a.), and *T. denticola* (T.d.) in the contents of the gingival sulcus/periodontal pockets in patients with dental biofilm-induced gingivitis (BG), aggressive periodontitis (AgP), and in patients with clinically healthy periodontium (Control)

Результаты изучения частоты случаев вегетирования каждого из пяти пародонтопатогенных видов вне комплекса с другими патогенами представлены в таблице.

Частота вегетирования одиночных пародонтопатогенов в содержимом зубодесневой борозды/ пародонтального кармана у лиц из трех обследуемых групп

Detection rate of single periodontal pathogens in the content of the dentoalveolar sulcus/periodontal pocket in the individuals of three examined groups

Вид пародонтопатогена	Частота встречаемости в группе					
	КГ (*n* = 28)		АП (*n* = 24)		Контроль (*n* = 87)	
	абс. знач.	%	абс. знач.	%	абс. знач.	%
P. gingivalis	7	25	1	4,2	10	11,5
T. forsythia	0	0	1	4,2	2	2,3
T. denticola	0	0	0	0	1	1,1
P. intermedia	1	3,6	0	0	2	2,3
A. actinomycetemcomitans	1	3,6	0	0	2	2,3

В одиночном состоянии только вид P.g. с невысокой частотой обнаруживался в собранном биологическом материале как у лиц контрольной группы, так и у страдающих КГ и АП ($\chi^2 = 5,4$, $p > 0,05$). Все остальные виды пародонтопатогенов крайне редко выявлялись вне консорциума с другими патогенами. Эти данные демонстрируют важность полимикробной инфекции для инициации и прогрессирования ВЗП.

В процессе исследования удалось выявить 16 различных комплексов пародонтопатогенов, из которых 7 были образованы двумя видами бактерий, 6 – тремя и 3 – четырьмя видами (рис. 4).

У молодых людей из группы Контроль наиболее часто выявлялись двухкомпонентные комплексы, содержащие вид P.g.: в 4,6 % случаях обнаруживался комплекс P.g. + P.i., в 3,4 % случаях – комплексы P.g. + T.f. и P.g. + A.a. Только в контрольной группе и с крайне низкой частотой персистировали комплексы, содержащие вид A.a.: T.f. + A.a. (1,1 %) и P.g. + A.a. + P.i. (2,3 %).

Комплекс P.g. + P.i. в целом был одинаково распространен во всех трех группах пациентов.

Комплексы T.f. + P.i. и P.g. + T.f. + P.i. были ассоциированы исключительно с ВЗП.

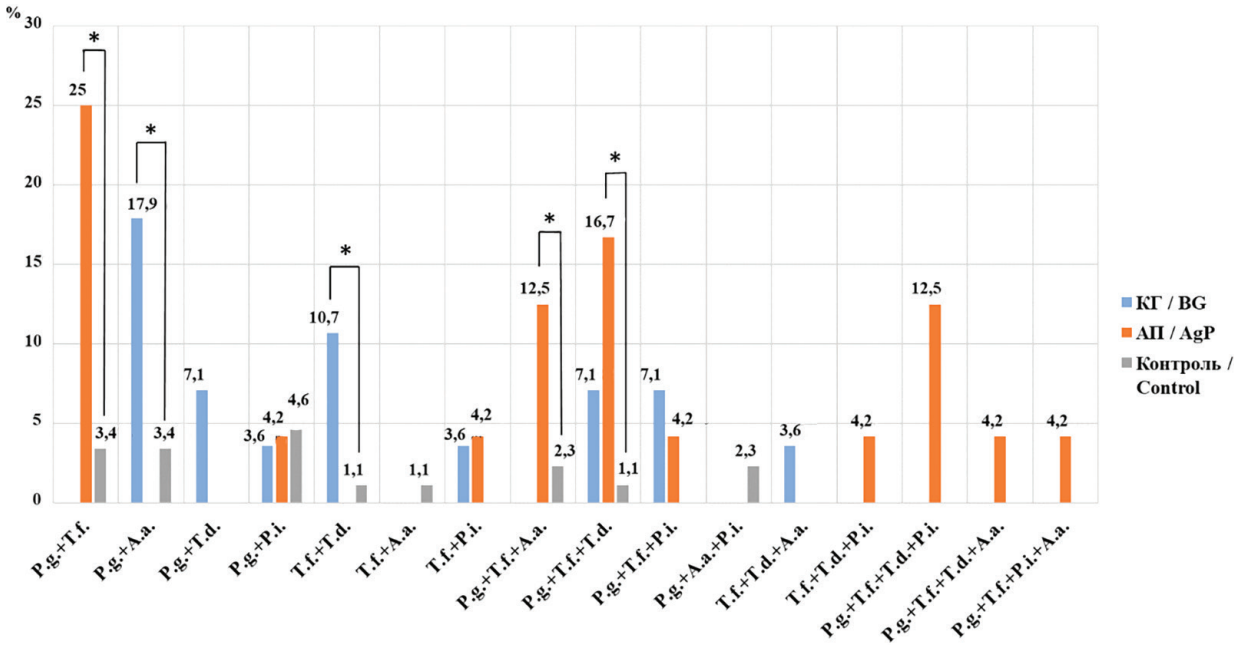


Рис. 4. Распределение выявленных комплексов пародонтогенов в группах пациентов катаральным гингивитом (КГ), агрессивным пародонтитом (АП) и у лиц без клинических проявлений ВЗП (Контроль)

Fig. 4. Distribution of the detected periodontal complexes in the groups of the patients with dental biofilm-induced gingivitis (BG), aggressive periodontitis (AgP), and in patients with clinically healthy periodontium (Control)

У пациентов с КГ также превалировали двухкомпонентные комплексы, среди которых чаще других выявлялись P.g. + A.a. (17,9 %) и T.f. + T.d. (10,7 %). Интересно, что оба эти комплекса обнаружены также у лиц со здоровым пародонтом (3,4 и 1,1 % соответственно), но не встречались у представителей группы АП. Только у пациентов с КГ были выявлены комплексы P.g. + T.d. (7,1 %) и T.f. + T.d. + A.a. (3,6 %).

В группе АП самыми распространенными были комплексы P.g. + T.f. (25,0 %), P.g. + T.f. + T.d. (16,7 %) и P.g. + T.f. + A.a. (12,5 %), которые достаточно редко встречались у пациентов без клинических проявлений ВЗП. Четыре комплекса – T.f. + T.d. + P.i. (4,2 %), P.g. + T.f. + T.d. + P.i. (12,5 %), P.g. + T.f. + T.d. + A.a. (4,2 %) и P.g. + T.f. + P.i. + A.a. (4,2 %) – обнаружены только у пациентов с АП.

Итак, из 14 бактериальных комплексов, выявленных у пациентов с ВЗП, 11 комплексов имели в своем составе вид T.f., 10 – вид P.g., 7 – вид T.d., 6 – вид P.i. и 5 – вид A.a. Эти результаты согласуются с предположением, высказанным V. Zijnge с соавт. (2010), что T.f. может быть видом-предшественником, необходимым для колонизации биопленки такими видами, как T.d. и P.g. [14]. Данной группе исследователей удалось установить, что колонии T.f., как правило, находятся в среднем слое поддесневого налета, тогда как микроколонии P.g. расположены в верхнем слое, а спирохеты T.d. – в верхнем слое биопленки, контактируя с десневым эпителием. Более того, оказалось, что виды P.g. и T.d. редко обнаруживаются без T.f. и образуют так называемый «красный комплекс», что обусловлено сильной метаболической взаимозависимостью между этими тремя пародонтопатогенами [15]. С меньшей частотой выявлялись два других вида, которые чаще ассоциированы с «зеленым» (A.a.) и «оранжевым» (P.i.) комплексами [16]. Два эти патогена являются более ранними колонизаторами поверхности зуба, рост которых обычно предшествует размножению грамотрицательных бактерий красного комплекса.

Для выявления и оценки тесноты связи между степенью колонизации пародонта патогенной микрофлорой и стоматологическими показателями в трех обследованных группах вычисляли коэффициент корреляции Спирмена (r_S). Анализ показал существование средней прямой корреляции между числом пародонтопатогенов в исследуемом материале и возрастом обследуемых ($r_S = 0{,}54$, $p < 0{,}05$), при этом не обнаружено значимых различий в распространенности отдельных пародонтопатогенов между мужчинами и женщинами ($\chi^2_{P.g.} = 1{,}64$, $p > 0{,}05$; $\chi^2_{T.f.} = 3{,}0$, $p > 0{,}05$; $\chi^2_{T.d.} = 1{,}99$, $p > 0{,}05$; $\chi^2_{P.i.} = 0{,}07$, $p > 0{,}05$; $\chi^2_{A.a.} = 0{,}28$, $p > 0{,}05$). Это означает, что у молодых людей вне зависимости от их гендерной принадлежности случаи манифестации АП появляются преимущественно на фоне формирования и созревания бактериальных сообществ, образованных несколькими пародонтопатогенами.

О влиянии каждого из пяти пародонтопатогенов на развитие патологических изменений в тканях пародонта судили по наличию статистически значимых различий между группой Контроль и группами пациентов с ВЗП в зависимости от представленности каждого из этих видов бактерий в собранном материале (U-критерий Манна–Уитни). Установлено, что в группе Контроль значимый вклад в формирование наддесневого зубного налета вносили виды P.g. ($U = 474$, $p < 0{,}01$) и A.a. ($U = 209$, $p < 0{,}05$), тогда как у пациентов с КГ и АП значение ИГ зависело от присутствия патогенной спирохеты T.d. ($U = 37{,}5$, $p < 0{,}05$ и $U = 34$, $p < 0{,}05$ соответственно). В то же время следует отметить, что M. Yamada с соавт. (2005) ранее экспериментально доказали, что P.g. и T.d. при совместном культивировании образуют значительно большее количество биопленок по сравнению с монокультурами и они более плотно прилипают к субстрату, что существенно облегчает процесс бактериальной инвазии и обширного повреждения тканей пародонта [17]. Персистенция T.d. в содержимом пародонтальных карманов у пациентов с АП усугубляла течение заболевания, что выражалось в существенном повышении значений CAL ($U = 22$, $p < 0{,}01$) и уменьшении индекса Фукса ($U = 30$, $p < 0{,}05$).

Также было обнаружено, что при наличии патогена T.d. у пациентов с АП чаще, чем при его отсутствии, регистрировались случаи гноетечения ($\chi^2 = 5{,}53$, $p < 0{,}05$), причем расчет критерия Крамера показал, что связь между наличием T.d. и гноетечением была относительно сильной ($V = 0{,}48$). Использование критерия χ^2 Пирсона позволило выявить прямую зависимость частоты возникновения гноетечения от числа пародонтопатогенов в микробном комплексе ($\chi^2 = 38$,

$p < 0{,}01$). Статистически значимых различий по частоте встречаемости конкретных комплексов при гноетечении не обнаружено ($\chi^2 = 16{,}2$, $p > 0{,}05$).

Наблюдаемое у пациентов с ВЗП значительное учащение случаев гноетечения может быть обусловлено различными поверхностными компонентами T.d. В частности, белок Msp обладает цитопатической порообразующей активностью в отношении эпителиальных клеток, способен увеличивать адгезию моноцитов к эндотелиальным клеткам и их трансэндотелиальную миграцию с последующим повреждением тканей [18]. Липополисахарид T.d. стимулирует экспрессию матриксной металлопротеиназы, что также может усугублять патологию пародонта [19].

Для всех бактерий «красного» комплекса характерен высокий уровень внеклеточной протеолитической активности, которая опосредуется протеазами, расположенными на поверхности клетки. Химотрипсин-подобная протеаза T.d. – дентилизин (PrtP) – способна разрушать белки межклеточной адгезии клеток хозяина, облегчая тем самым проникновение спирахет в слои эпителиальных клеток [20]. Также было высказано предположение, что T.d. и P.g. синергически гидролизуют фибриноген и тем самым способствуют разрушению сосудов, кровотечению и развитию воспаления, что замедляет восстановление тканей [21].

Заключение. Таким образом, проведенное исследование показало, что в изученных образцах, собранных у 139 молодых людей как с ВЗП, так и без клинических проявлений ВЗП, наиболее часто обнаруживались виды P.g. и T.f. Патоген P.g. ранее был признан ключевым индуктором воспалительных процессов в тканях пародонта [7, 22]. Важная роль в развитии пародонтита отводится также T.f. [11, 12]. Эти бактерии встречались в основном в консорциуме с другими пародонтопатогенами, реже – как самостоятельный вид. Причем чем большее число патогенов выявлялось в биологическом материале, тем тяжелее была форма ВЗП. Кроме того, полученные данные подтверждают и тот факт, что пародонтопатогенный вид T.d. устойчиво ассоциируется с деструкцией тканей пародонта и может значительно повышать риск потери зубов [23]. Результаты исследования демонстрируют также важность полимикробной инфекции для инициации и прогрессирования ВЗП.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. World Health Organization. Regional office for Europe. Data and statistics [Electronic resource]. – Mode of access: https://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/oral-health/data-and-statistics. – Date of access: 03.03.2021.

2. Кузьмина, Э. М. Стоматологическая заболеваемость населения России / Э. М. Кузьмина, О. О. Янушевич, И. Н. Кузьмина. – М. : Авторский тираж, 2019. – 304 с.

3. Impact of aggressive periodontitis and chronic periodontitis on oral health-related quality of life / A. H. Llanos [et al.] // Braz. Oral. Res. – 2018. – Vol. 32. – P. e006. https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0006

4. Harvey, J. D. Periodontal microbiology / J. D. Harvey // Dent. Clin. North. Am. – 2017. – Vol. 61, N 2. – P. 253–269. https://doi.org/10.1016/j.cden.2016.11.005

5. The periodontal war: microbes and immunity / J. L. Ebersole [et al.] // Periodontology 2000. – 2017. – Vol. 75, N 1. – P. 52–115. https://doi.org/10.1111/prd.12222

6. Oral biofilms: pathogens, matrix and polymicrobial interactions in microenvironments / W. H. Bowen [et al.] // Trends Microbiol. – 2018. – Vol. 26, N 3. – P. 229–242. https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.09.008

7. Holt, S. C. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the “red complex”, a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis / S. C. Holt, J. L. Ebersole // Periodontology 2000. – 2005. – Vol. 38, N 1. – P. 72–122. https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2005.00113.x

8. Zhu, W. Surface interactions between two of the main periodontal pathogens: *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythia* / W. Zhu, S.-W. Lee // J. Periodont. Implant Sci. – 2016. – Vol. 46, N 1. – P. 2–9. https://doi.org/10.5051/jpis.2016.46.1.2

9. *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, and *Treponema denticola*/*Prevotella intermedia* co-infection are associated with severe periodontitis in a Thai population / K. Torrungruang [et al.] // PloS ONE. – 2015. – Vol. 10, N 8. – P. e0136646. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136646

10. Subgingival microbiota in individuals with severe chronic periodontitis / C.-Y. Tsai [et al.] // J. Microbiol. Immunol. Infect. – 2018. – Vol. 51, N 2. – P. 226–234. https://doi.org/10.1016/j.jmii.2016.04.007

11. Identification of intracellular oral species within human crevicular epithelial cells from subjects with chronic periodontitis by fluorescence in situ hybridization / A. V. Colombo [et al.] // J. Periodontal. Res. – 2007. – Vol. 42, N 3. – P. 236–243. https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2006.00938.x

12. Haffajee, A. D. Association of Eubacterium nodatum and *Treponema denticola* with human periodontitis lesions / A. D. Haffajee, R. P. Teles, S. S. Socransky // Oral Microbiol. Immunol. – 2006. – Vol. 21, N 5. – P. 269–282. https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2006.00287.x

13. Chan, E. C. S. Taxonomy and virulence of oral spirochetes / E. C. S. Chan, R. McLaughlin // Oral Microbiol. Immunol. – 2000. – Vol. 15, N 1. – P. 1–9. https://doi.org/10.1034/j.1399-302x.2000.150101.x

14. Oral biofilm architecture on natural teeth / V. Zijnge [et al.] // PLoS ONE. – 2010. – Vol. 5, N 2. – P. e9321. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009321

15. Detection of red complex organisms in chronic periodontitis by multiplex polymerase chain reaction / A. Nayak [et al.] // J. Adv. Clin. Res. Insights. – 2018. – Vol. 5, N 5. – P. 139–144. https://doi.org/10.15713/ins.jcri.231

16. Microbial complexes in subgingival plaque / S. S. Socransky [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 1998. – Vol. 25, N 2. – P. 134–144. https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1998.tb02419.x

17. Yamada, M. Synergistic biofilm formation by *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* / M. Yamada, A. Ikegami, H. K. Kuramitsu // FEMS Microbiol. Lett. – 2005. – Vol. 250, N 2. – P. 271–277. https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.07.019

18. Fenno, J. C. *Treponema denticola* interactions with host proteins / J. C. Fenno // J. Oral. Microbiol. – 2012. – Vol. 4, N 1. – P. 9929. https://doi.org/10.3402/jom.v4i0.9929

19. Induction of osteoclastogenesis and matrix metalloproteinase expression by the lipooligosaccharide of *Treponema denticola* / B. K. Choi [et al.] // Infect. Immun. – 2003. – Vol. 71, N 1. – P. 226–233. https://doi.org/10.1128/iai.71.1.226-233.2003

20. *Treponema denticola* invasion into human gingival epithelial cells / S. Inagaki [et al.] // Microb. Pathog. – 2016. – Vol. 94. – P. 104–125. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.01.010

21. The chymotrypsin-like protease complex of *Treponema denticola* ATCC 35405 mediates fibrinogen adherence and degradation / C. V. Bamford [et al.] // Infect. Immun. – 2007. – Vol. 75, N 9. – P. 4364–4372. https://doi.org/10.1128/IAI.00258-07

22. Honda, K. *Porphyromonas gingivalis* sinks teeth into the oral microbiota and periodontal disease / K. Honda // Cell Host Microbe. – 2011. – Vol. 10, N 5. – P. 423–425. https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.10.008

23. Detection of oral bacteria on the tongue dorsum using PCR amplification of 16S ribosomal RNA and its association with systemic diseases in middle-aged and elderly patients / C. Y. Su [et al.] // Biomed. Rep. – 2019. – Vol. 10, N 1. – P. 70–76. https://doi.org/10.3892/br.2018.1175

References

1. *World Health Organization. Regional office for Europe. Data and statistics*. Available at: https://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/oral-health/data-and-statistics (accessed 03.03.2021).

2. Kuz'mina E. M., Yanushevich O. O., Kuz'mina I. N. *Dental morbidity of the russian population*. Moscow, Avtorskii tirazh Publ., 2019. 304 p. (in Russian).

3. Llanos A. H., Silva C. G. B., Ichimura K. T., Rebeis E. S., Giudicissi M., Romano M. M., Saraiva L. Impact of aggressive periodontitis and chronic periodontitis on oral health-related quality of life. *Brazilian Oral Research*, 2018, vol. 32, p. e006. https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0006

4. Harvey J. D. Periodontal microbiology. *Dental Clinics of North America*, 2017, vol. 61, no. 2, pp. 253–269. https://doi.org/10.1016/j.cden.2016.11.005

5. Ebersole J. L., Dawson D. 3rd, Emecen-Huja P., Nagarajan R., Howard K., Grady M. E., Thompson K. [et al.]. The periodontal war: microbes and immunity. *Periodontology*, 2000, 2017, vol. 75, no. 1, pp. 52–115. https://doi.org/10.1111/prd.12222

6. Bowen W. H., Burne R. A., Wu H., Koo H. Oral biofilms: pathogens, matrix and polymicrobial interactions in microenvironments. *Trends in Microbiology*, 2018, vol. 26, no. 3, pp. 229–242. https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.09.008

7. Holt S. C., Ebersole J. L. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the "red complex", a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontology 2000*, 2005, vol. 38, no. 1, pp. 72–122. https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2005.00113.x

8. Zhu W., Lee S.-W. Surface interactions between two of the main periodontal pathogens: *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythia*. *Journal of Periodontal and Implant Science*, 2016, vol. 46, no. 1, pp. 2–9. https://doi.org/10.5051/jpis.2016.46.1.2

9. Torrungruang K., Jitpakdeebordin S., Charatkulangkun O., Gleebbua Y. *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, and *Treponema denticola*/*Prevotella intermedia* co-infection are associated with severe periodontitis in a Thai population. *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, no. 8, p. e0136646. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136646

10. Tsai C.-Y., Tang C. Y., Tan T.-S., Chen K.-H., Liao K.-H., Liou M.-L. Subgingival microbiota in individuals with severe chronic periodontitis. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 2018, vol. 51, no. 2, pp. 226–234. https://doi.org/10.1016/j.jmii.2016.04.007

11. Colombo A. V., da Silva C. M., Haffajee A., Colombo A. P. V. Identification of intracellular oral species within human crevicular epithelial cells from subjects with chronic periodontitis by fluorescence in situ hybridization. *Journal of Periodontal Research*, 2007, vol. 42, no. 3, pp. 236–243. https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2006.00938.x

12. Haffajee A. D., Teles R. P., Socransky S. S. Association of Eubacterium nodatum and Treponema denticola with human periodontitis lesions. *Oral Microbiology and Immunology*, 2006, vol. 21, no. 5, pp. 269–282. https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2006.00287.x

13. Chan E. C. S., McLaughlin R. Taxonomy and virulence of oral spirochetes. *Oral Microbiology and Immunology*, 2000, vol. 15, no. 1, pp. 1–9. https://doi.org/10.1034/j.1399-302x.2000.150101.x

14. Zijnge V., Leeuwen M. B., Degener J. E., Abbas F., Thurnheer T., Gmür R., Harmsen H. J. M. Oral biofilm architecture on natural teeth. *PLoS ONE*, 2010, vol. 5, no. 2, p. e9321. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009321

15. Nayak A., Bhat K., Shivanaikar S., Pushpa P., Kugaji M., Kumbar V. Detection of red complex organisms in chronic periodontitis by multiplex polymerase chain reaction. *Journal of Advanced Clinical and Research Insights,* 2018, vol. 5, no. 5, pp. 139–144. https://doi.org/10.15713/ins.jcri.231

16. Socransky S. S., Haffajee A. D., Cugini M. A., Smith C., Kent R. L. Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of Clinical Periodontology*, 1998, vol. 25, no. 2, pp. 134–144. https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1998.tb02419.x

17. Yamada M., Ikegami A., Kuramitsu H. K. Synergistic biofilm formation by *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis*. *FEMS Microbiology Letters*, 2005, vol. 250, no. 2, pp. 271–277. https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.07.019

18. Fenno J. C. Treponema denticola interactions with host proteins. *Journal of Oral Microbiology*, 2012, vol. 4, no. 1, p. 9929. https://doi.org/10.3402/jom.v4i0.9929

19. Choi B. K., Lee H. J., Kang J. H., Jeong G. J., Min C. K., Yoo Y. J. Induction of osteoclastogenesis and matrix metalloproteinase expression by the lipooligosaccharide of *Treponema denticola*. *Infection and Immunity*, 2003, vol. 71, no. 1, pp. 226–233. https://doi.org/10.1128/iai.71.1.226-233.2003

20. Inagaki S., Kimizuka R., Kokubu E., Saito A., Ishihara K. *Treponema denticola* invasion into human gingival epithelial cells. *Microbial Pathogenesis*, 2016, vol. 94, pp. 104–125. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.01.010

21. Bamford C. V., Fenno J. C., Jenkinson H. F., Dymock D. The chymotrypsin-like protease complex of *Treponema denticola* ATCC 35405 mediates fibrinogen adherence and degradation. *Infection and Immunity*, 2007, vol. 75, no. 9, pp. 4364–4372. https://doi.org/10.1128/IAI.00258-07

22. Honda K. *Porphyromonas gingivalis* sinks teeth into the oral microbiota and periodontal disease. *Cell Host and Microbe*, 2011, vol. 10, no. 5, pp. 423–425. https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.10.008

23. Su C. Y., Shigashi H., Nishimura R., Ohta K., Suguyama M. Detection of oral bacteria on the tongue dorsum using PCR amplification of 16S ribosomal RNA and its association with systemic diseases in middle-aged and elderly patients. *Biomedical Reports*, 2019, vol. 10, no. 1, pp. 70–76. https://doi.org/10.3892/br.2018.1175

Информация об авторах

Тихомирова Екатерина Александровна – аспирант. Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова (ул. Делегатская, 20, стр. 1, 127473, г. Москва, Российская Федерация). E-mail: lukaly1990@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-4439-9661

Зудина Ирина Витальевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского (ул. Астраханская, 83, 410012, г. Саратов, Российская Федерация). E-mail: ivzudina@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-0137-7761

Слажнева Екатерина Сергеевна – ассистент. Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова (ул. Делегатская, 20, стр. 1, 127473, г. Москва, Российская Федерация). E-mail: katushkor@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-4527-7471

Орехова Людмила Юрьевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (ул. Льва Толстого, 6-8, 197022, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация). E-mail: prof_orekhova@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-8026-0800

Денисова Юлия Леонидовна – д-р мед. наук, профессор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). https://orcid.org/0000-0003-0917-7972

Рубникович Сергей Петрович – д-р мед. наук, профессор, ректор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: rubnikovichs@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-7450-3757

Information about the authors

Ekaterina A. Tikhomirova – Postgraduate student. Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A. I. Yevdokimov (20, build 1, Delegatskaya Str., 127473, Moscow, Russian Federation). E-mail: lukaly1990@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-4141-1370

Irina V. Zudina – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Saratov National Research State University named after N. G. Chernyshevsky (83, Astrakhanskaya Str., 410012, Saratov, Russian Federation). E-mail: ivzudina@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-0137-7761

Ekaterina S. Slazhneva – Assistant. Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A. I. Yevdokimov (20, build 1, Delegatskaya Str., 127473, Moscow, Russian Federation). E-mail: katushkor@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-4527-7471

Liudmila Yu. Orekhova – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (6-8, Lev Tolstoi Str., 197022, Saint Petersburg, Russian Federation**).** E-mail: prof_orekhova@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-8026-0800

Yuliya L. Denisova – D. Sc. (Med.), Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). https://orcid.org/0000-0003-0917-7972

Sergey P. Rubnikovich – D. Sc. (Med.), Professor, Rector. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: rubnikovichs@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-7450-3757

Ekaterina S. Loboda – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (6-8, Lev Tolstoi Str., 197022, Saint Petersburg, Russian Federation). E-mail: ekaterina.loboda@gmail.com. https://orcid.org/0000-0003-1094-7209

Лобода Екатерина Сергеевна – канд. мед. наук, доцент. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (ул. Льва Толстого, 6-8, 197022, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация**).** E-mail: ekaterina.loboda@gmail.com. https://orcid.org/0000-0003-1094-7209

Атрушкевич Виктория Геннадьевна – д-р мед. наук, профессор. Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова (ул. Делегатская, 20, стр. 1, 127473, г. Москва, Российская Федерация). E-mail: atrushkevichv@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-4141-1370

Victoria G. Atrushkevich – D. Sc. (Med.), Professor. Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A. I. Yevdokimov (20, build 1, Delegatskaya Str., 127473, Moscow, Russian Federation). E-mail: atrushkevichv@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-4141-1370

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616-006.6:577.121
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-445-455

Поступила в редакцию 26.02.2021
Received 26.02.2021

А. Д. Таганович[1], Н. Н. Ковганко[1], В. И. Прохорова[2], Л. А. Державец[2], А. В. Колб[1], Д. И. Мурашко[1]

[1]Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
[2]Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова, аг. Лесной, Минский район, Республика Беларусь

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО НА ОСНОВЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИТОКИНОВ И ИХ РЕЦЕПТОРОВ В КРОВИ

Аннотация. К настоящему времени сформировалось представление о том, что цитокиновые биомаркеры могут быть перспективным инструментом не только для обнаружения рака легкого в начальной стадии, но и для прогнозирования течения этого заболевания. Однако они не нашли широкого практического применения из-за низких диагностической чувствительности (ДЧ) и (или) диагностической специфичности (ДС).

Целью работы являлась разработка оригинальной комбинации белков крови для повышения эффективности диагностики I и II стадий немелкоклеточного рака легкого (НМКРЛ).

Обследовано 152 пациента (93 мужчины и 59 женщин) с впервые диагностированным первичным НМКРЛ: у 91 была аденокарцинома (АК), у 61 – плоскоклеточный рак легкого (ПКРЛ). В качестве контроля обследовано 36 здоровых людей и 13 пациентов с гамартомой. Экзаменационные выборки включали 17 пациентов с АК, 14 – с ПКРЛ, 9 – с гамартомой и 12 здоровых людей. В сыворотке крови обследуемых определяли уровни CYFRA 21-1, SCC, CXCL5 (иммуноферментным методом), С-реактивного белка (СРБ) (турбидиметрическим методом) и плотность расположения рецепторов CXCR2 на лимфоцитах (методом проточной цитометрии). Диагностическая эффективность анализируемых по отдельности тестов на CYFRA 21-1, CXCL5, MFI CXCR2 и СРБ у пациентов с АК и ПКРЛ составила <75 %.

Разработаны регрессионные уравнения, использующие комбинацию из значений четырех маркеров для диагностики начальной фазы развития АК и ПКРЛ. С помощью ROC-анализа установлены оптимальные значения порогов классификации. В интервале 0,307–0,483 вероятность наличия АК I и II стадий составляет 97,9 %. При ПКРЛ интервал пороговых значений находится в пределах 0,321–0,529. Прогностическая ценность положительного результата – 96,7 %. Проверка работоспособности моделей на экзаменационной выборке пациентов показала, что при АК ДЧ составляет 76,3 %, ДС – 82,8 %, при ПКРЛ – 76,3 и 81,5 % соответственно.

Ключевые слова: аденокарцинома, плоскоклеточный рак легкого, ранняя диагностика, биомаркеры, комбинации белков крови

Для цитирования: Диагностические модели немелкоклеточного рака легкого на основе определения цитокинов и их рецепторов в крови / А. Д. Таганович [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 4. – С. 445–455. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-445-455

Anatoli D. Tahanovich[1], Nikolay N. Kauhanka[1], Violetta I. Prokhorova[2], Lilia A. Derzhavets[2], Alexander V. Kolb[1], Darya I. Murashka[1]

[1]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
[2]N. N. Alexandrov National Centre of Oncology and Medical Radiology, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus

DIAGNOSTIC MODELS OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER BASED ON DETERMINATION OF BLOOD CYTOKINES AND THEIR RECEPTORS

Abstract. Cytokine biomarkers have been suggested to be a promising tool for detecting lung cancer at the initial stage of its development. However, they have not found wide application in practice due to the low diagnostic sensitivity and specificity.

The aim of the work was to develop an original combination of the blood level of proteins that could increase the efficiency of their use in the diagnosis of I and II stages of non-small cell lung cancer (NSCLC).

152 patients (93 men and 59 women) with newly diagnosed NSCLC were examined: 91 had adenocarcinoma (AC) and 61 had squamous cell lung cancer (SCLC). As a control, 36 healthy patients and 13 patients with hamartoma were examined.

The serum level of CYFRA 21-1, SCC, CXCL5 by the immunoassay procedure, of the C-reactive protein (CRP) by the turbidimetric method, and the fluorescence intensity of CXCR2 (MFI CXCR2) receptors on blood lymphocytes by flow cytometry were evaluated. The diagnostic efficacy of the individually analyzed results of measuring CYFRA 21-1, CXCL5, MFI CXCR2, and CRP in AK patients and the level of SCC, CXCL5, MFI CXCR2, and CRP in SCLC was less than 75 %.

Two regression equations were developed using a combination of the values of each 4 markers for the diagnosis of the initial disease phase. The ROC-analysis revealed the optimal values of thresholds. In the range 0.307–0.483, the probability of AC on I and II stages was 97.9 %. In SCLC, the threshold range was 0.321–0.529. The predictive value of a positive result was 96.7 %.

The examination groups included 17 patients with AK, 14 patients with SCLC, 9 patients with hamartoma, and 12 healthy people. Checking the model performance on an example sample of patients with AC showed that the diagnostic sensitivity was 76.3 %, and the diagnostic specificity was 82.8 %, in SCLC – 76.3 and 81.5 %, respectively.

Keywords: adenocarcinoma, squamous carcinoma, early detection, biomarkers, combinations of blood proteins

For citation: Tahanovich A. D., Kauhanka N. N., Prokhorova V. I., Derzhavets L. A., Kolb A. V., Murashka D. I. Diagnostic models of non-small cell lung cancer based on determination of blood cytokines and their receptors. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 4, pp. 445–455 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-445-455

Введение. Рак легкого остается серьезной проблемой и является одним из самых частых и неблагоприятных, в плане исхода, онкологических заболеваний. Каждый год в мире регистрируется 1,83 млн новых случаев рака легкого и 1,59 млн умерших от него [1]. Самой распространенной гистологической формой является немелкоклеточный рак легкого (НМКРЛ), который составляет 80 % от всех случаев рака легкого. Основными подтипами НМКРЛ являются аденокарцинома (АК) и плоскоклеточный рак легкого (ПКРЛ). У подавляющего числа пациентов заболевание обнаруживается только на поздних стадиях заболевания, когда опухолевые проявления уже получают системное распространение и эффективность проводимого лечения, как хирургического, так и химиотерапевтического и лучевого, невелика.

Для выявления заболевания на ранних стадиях, когда клиническая симптоматика еще отсутствует, предпочтение отдается проведению скрининговых исследований. Для этих целей используются три направления – визуализация опухоли, гистологические и биохимические методы. К сожалению, на сегодняшний день имеющиеся методы визуализации опухоли имеют ограничения, обусловленные, с одной стороны, их разрешающей способностью и облучением организма, с другой – экономическими причинами, связанными с высокой стоимостью такого оборудования. Гистологическое исследование предполагает наличие биопсийного материала опухолевой ткани, который, как правило, можно получить только инвазивным путем.

Многообещающим диагностическим инструментом служат циркулирующие биомаркеры рака легкого, которые обнаруживаются в кровотоке на ранней стадии опухолевого процесса. Их определение позволяет быстро, экономично, неинвазивными средствами провести серийные измерения у людей на стадии установления диагноза НМКРЛ, сделать выбор в пользу того или иного вида химиотерапии и оценить эффективность проводимого лечения.

Классические «опухолевые» маркеры являются гликопротеинами или гликолипидами. Они вымываются с поверхности опухолевых клеток во внеклеточную жидкость, в том числе в кровоток. Наиболее чувствительными маркерами НМКРЛ являются фрагменты цитокератина, такие как CYFRA 21-1 или тканеспецифический полипептидный антиген TPA, а также специфичная для плоскоклеточного рака подфракция ингибитора сериновой протеазы SCC [2].

К настоящему времени сформировалось представление о том, что цитокиновые биомаркеры, являясь частью панели иммунокомпетентных биомаркеров, могут быть перспективным инструментом не только для обнаружения рака легкого в начальной стадии, но и для прогнозирования течения этого заболевания. Результаты ранее проведенных нами исследований позволили продемонстрировать изменение в крови уровня цитокинов CXCL5 и CXCL8, их рецепторов CXCR1 и CXCR2 на поверхности клеток у пациентов с НМКРЛ. Установлена связь данных показателей с характеристиками опухолевого процесса, рассчитана диагностическая эффективность их определения при этом заболевании, которая в ряде случаев превысила таковую для классических маркеров [3].

Полученные данные позволяли рассчитывать на то, что комбинация нескольких из определяемых параметров может увеличить чувствительность и специфичность биомаркеров для диагностики рака легкого. Попытки в этом направлении уже предпринимались. Так, в панель из 6 различных параметров были включены интерферон-γ и ФНО-α. Результаты их определения дали возможность с чувствительностью 88 % и специфичностью 87 % отличать пациентов с раком легкого и метастазами в лимфатические узлы от пациентов без метастазов [4].

Целью работы являлась разработка панели лабораторных показателей, позволяющей в результате их определения в крови пациентов повысить эффективность диагностики немелкоклеточного рака легкого.

Материалы и методы исследования. Обследовано 152 пациента (93 мужчины и 59 женщин) при поступлении их в стационар РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова, у которых впервые диагностирован НМРЛ. На основании гистологического исследования у 91 пациента обнаружена АК, у 61 – ПКРЛ (табл. 1). Средний возраст пациентов составил 56 ± 22,5 года. Преобладающей локализацией была опухоль нижней доли (63,1 %) левого легкого (55,3 %).

Таблица 1. **Распределение пациентов по стадиям и гистологическому типу НМКРЛ**

Table 1. **Distribution of the patients by stage and histological type of non-small cell lung cancer**

Гистологический тип	Стадия				T		N		M		Grade	
	I	II	III	IV	1-2	3-4	0	1-3	0	1	1-2	3
АК	31	20	29	11	48	43	46	45	49	42	47	44
ПКР	21	14	18	8	32	29	34	27	35	26	33	28

Примечание. АК – аденокарцинома, ПКР – плоскоклеточный рак; T1-2 – размер опухоли <5 см, T3-4 – >5 см; N – метастатическое поражение регионарных лимфоузлов: 0 – отсутствует, 1–3 – имеется; M – отдаленные метастазы: 0 – отсутствуют, 1 – имеются; Grade – степень злокачественности: 1–2 – низкая и промежуточная, 3 – высокая.

В качестве группы контроля обследовано 36 человек (12 мужчин и 24 женщины, средний возраст – 55 ± 12 лет) без онкопатологии на момент обследования и в анамнезе. Группа сравнения включала результаты обследования 13 пациентов (8 мужчин и 5 женщин, средний возраст – 57 ± 9 лет) с доброкачественной опухолью легкого – гамартомой.

Контроль корректной работы регрессионных моделей был проведен на экзаменационной выборке, которая включала 17 пациентов с АК, 14 – с ПКРЛ, 12 здоровых людей и 9 пациентов с гамартомой.

Все испытуемые дали письменное добровольное согласие на участие в исследовании. Проведение исследования было одобрено решением Комитета по биомедицинской этике учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Забор крови из локтевой вены производили натощак в вакутайнер с ЭДТА-К2. Концентрацию антигена CYFRA 21-1 (фрагмента цитокератина-19) и концентрацию биомаркера плоскоклеточного рака SCC (подфракция ингибитора сериновой протеазы ТА-4) в сыворотке крови определяли на автоматическом анализаторе Cobas e411 (Rosche Diagnostics GmbH, Германия), использующем принцип электрохемилюминесценции. Концентрацию С-реактивного белка (СРБ) измеряли с помощью биохимического анализатора AU680 (Beckman Coulter, США), концентрацию хемокина CXCL5 в сыворотке крови пациентов с НМКРЛ и здоровых людей – с помощью автоматического ИФА-анализатора Brio (Seac, Италия), используя ИФА-наборы Fine Test (КНР). Оптическую плотность ИФА-наборов измеряли при длине волны 450 нм и референсной длине волны 620 нм на планшетном фотометре Sirio (Seac, Италия).

Рецептор CXCR2 на поверхности лимфоцитов определяли, используя проточный цитофлуориметр Navios (Beckman Coulter, США). В пробирку помещали 100 мкл крови, стабилизированной ЭДТА-К2 в качестве антикоагулянта, и 10 мкл соответствующих антител, содержащих флуоресцентные метки: CD182(CXCR2)-PE (BioLegend, США) и CD45-Pacific Orange (Exbio, Чехия). Через 15 мин инкубации в темноте с антителами, содержащими флуоресцентную метку, к смеси добавляли 1 мл лизирующего раствора VersaLyse (Beckman Coulter, Франция). Для фиксации антител на поверхности клеток использовали фиксирующий раствор IQ Test 3 (Beckman Coulter, Франция).

Интегральную диагностическую информативность лабораторных тестов оценивали с помощью метода построения характеристических ROC-кривых с последующим вычислением площа-

ди под ROC-кривой (AUC). О диагностической ценности анализируемых показателей судили по чувствительности, специфичности, предсказательной ценности положительного и отрицательного результатов и диагностической эффективности теста. Для этого использовали расчетные значения истинноположительных, истинноотрицательных, ложноположительных и ложноотрицательных результатов диагностического теста. Расчет производили по общепринятым формулам. Пороговое значение определяли как величину оптимального сочетания чувствительности и специфичности теста при построении кривых зависимости чувствительности от вероятности получения ложноположительных результатов.

Построение диагностической модели осуществляли с помощью метода бинарной логистической регрессии. Использовали метод пошагового включения предикторов, который ранжирует признаки в соответствии с их вкладом в модель. Относительный вклад отдельных предикторов выражали с помощью статистики Вальда (распределение χ-квадрат), а также стандартизованного коэффициента регрессии. Качество приближения регрессионной модели оценивали при помощи функции правдоподобия, мерой которой служит отрицательное удвоенное значение логарифма этой функции ($-2LL$), меру определенности – с использованием критериев Кокса–Снелла и Найджелкерка. Оценку соответствия модели и реальных данных производили с помощью теста Хосмера–Лемешева. Прогностическую ценность полученной регрессионной модели проверяли при помощи ROC-анализа. При всех видах статистического анализа критическое значение уровня значимости принимали равным 5 %.

Результаты и их обсуждение. Предыдущие исследования показали, что в крови пациентов с I и II стадиями НМКРЛ, а также с размером опухоли <5 см, отсутствием метастазов в региональные лимфоузлы, отсутствием отдаленных метастазов и степенью злокачественности 1-2 имеются существенные различия уровня опухолеассоциированных белков CYFRA 21-1, SCC, СРБ, плотности расположения рецепторов CXCR2 в лимфоцитах (MFI CXCR2), а также концентрации их лиганда – цитокина CXCL5 по сравнению с таковыми при более выраженном течении опухолевого процесса. Согласно результатам анализа, отмечалась также коррелятивная связь вышеуказанных показателей с перечисленными характеристиками опухоли [3]. Более того, установлено, что ДЭ определения уровня MFI CXCR2 и CXCL5 в крови для диагностики I и II стадий НМКРЛ и других характеристик начального периода развития опухоли соизмерима или имеет преимущество по сравнению с ДЭ определения уровня CYFRA 21-1.

В последние два десятилетия неоднократно проводились исследования, направленные на повышение диагностической ценности самых разных метаболитов в крови при опухолях различной локализации, в том числе при НМКРЛ. В частности, довольно распространенным подходом были попытки использовать комбинации нескольких показателей метаболизма опухолевых клеток [4–9]. Данные показатели трудно сравнивать, так как условия проведения исследований были различны и далеко не всегда корректны. К примеру, о ценности пограничных значений для диагностики судили на основании сравнения только со здоровыми людьми или не разделяя стадии заболевания, а предложенные модели не проверяли на работоспособность с помощью экзаменационной выборки.

Представленные по результатам настоящего исследования данные показали, что диагностическая эффективность анализируемых по отдельности тестов на CYFRA 21-1, CXCL5, MFI CXCR2 и СРБ в большинстве случаев не превысила 75 % (табл. 2, 3). Только для CYFRA 21-1 и СРБ и только у пациентов с аденокарциномой ДЭ прогнозируемые размеры опухоли T 1-2 или T 3-4 для рассчитанных пороговых значений этих показателей составили 79,1 и 78 % соответственно. ПЦПР для всех этих тестов была относительно высока. Это означает, что у обследованных пациентов с положительным результатом теста (значение теста для CYFRA 21-1 – $>2{,}1\cdot10^{-6}$ г/л, но $<4{,}6\cdot10^{-6}$ г/л, для CXCL5 – $>96{,}9\cdot10^{-9}$ г/л, но $<213{,}9\cdot10^{-9}$ г/л, для MFI CXCR2 – >11,2, но <14,8, для СРБ – >0,15 мг %, но <0,95 мг %) вероятность наличия АК в ранней стадии ее развития составляет 81,6–87,2 %, т. е. вероятность ложноположительных результатов относительно невысока. Вместе с тем пороговые значения этих показателей в случае наличия у пациентов доброкачественной гамартомы отличаются от аналогичных показателей у здоровых людей, за-

нимая промежуточное значение (табл. 2). Соответственно, диагностическая эффективность их использования для дифференциальной диагностики ранних стадий АК и гамартомы в случае раздельного определения каждого из показателей составляет 64,1–70,3 %.

У пациентов с плоскоклеточной карциномой наиболее информативными для диагностики начальных этапов развития опухоли были уровни SCC, CXCL5, MFI CXCR2 и СРБ. Диагностическая эффективность их раздельного определения для рассчитанных пограничных значений по сравнению со здоровыми людьми составила 69,0–73,2 %, а при наличии гамартомы – 60,4–66,7 % (табл. 3). Вместе с тем, судя по значениям диагностической чувствительности (ДЧ), на начальных этапах развития опухоли более чем у 30 % пациентов уровень исследуемых показателей был ниже порогового как в случае АК, так и в случае ПКРЛ.

Согласно результатам проведенного ROC-анализа, ни один из анализируемых параметров крови как при АК, так и при ПКРЛ не обладает в отдельности достаточно высокими диагностическими чувствительностью и специфичностью одновременно (табл. 2, 3). Поэтому с помощью выделенных на предыдущем этапе исследования показателей для прогнозирования степени риска опухолевой прогрессии у пациенток, страдающих НМКРЛ, были разработаны статистические модели в виде регрессионных уравнений (*P*1 и *P*2), которые позволяют судить о вероятности наличия у пациентов НМКРЛ начальной стадии развития опухоли. Для этого использовали метод пошагового включения указанных выше показателей с тем, чтобы обосновать их оптимальную комбинацию, способную улучшить диагностические параметры.

Уравнение логистической регрессии для комбинированного определения концентрации антигенов Cyfra 21-1 (*X*1), CXCL5 (*X*2), СРБ (*X*3) в сыворотке крови и интенсивности флуоресценции рецептора CXCR2 (MFI CXCR2) на лимфоцитах крови (*X*4) у пациентов с АК:

$$P1 = \exp(-7{,}374 + 0{,}049X1 + 0{,}208X2 + 0{,}857X3 + 0{,}507X4)/$$
$$1 + \exp(-7{,}374 + 0{,}049X1 + 0{,}208X2 + 0{,}857X3 + 0{,}507X4),$$

где *P*1 – интегрированный результат регрессионного вычисления комбинации значений определяемых показателей; числа перед значениями концентраций – коэффициенты логистической регрессии; exp (≈2,718) – основание натурального логарифма (те же обозначения в приведенном ниже уравнении логистической регрессии для комбинированного определения концентрации антигенов SCC (*X*5), CXCL5 (*X*2), СРБ (*X*3) в сыворотке крови и интенсивности флуоресценции рецептора CXCR2 (MFI CXCR2) в лимфоцитах крови (*X*4) у пациентов с АК).

Таблица 2. **Диагностическая значимость индивидуального и комбинированного определения белков крови у пациентов с АК легкого**

Table 2. **Diagnostic significance of individual and combined determination of blood proteins in patients with lung adenocarcinoma**

Показатель	ПЗ	ДЧ	ДС	ПЦПР	ПЦОР	AUC	ДЭ
Группы сравнения: I–II ст. АК/здоровые люди							
CYFRA 21-1, г/л ($\times10^{-6}$)	>2,1	66,7	86,1	87,2	64,6	0,729	74,7
CXCL5, г/л ($\times10^{-9}$)	>96,9	62,7	83,3	84,2	61,2	0,711	71,3
MFI CXCR2, лимфоциты	>11,2	60,8	80,6	81,6	59,2	0,685	69,0
СРБ, мг %	>0,15	70,6	77,8	81,8	65,1	0,729	73,6
Комбинация (*P*1)	**>0,281**	**90,2**	**91,7**	**93,9**	**86,9**	**0,891**	**90,8**
Группы сравнения: I–II ст. АК/гамартома							
CYFRA 21-1, г/л ($\times10^{-6}$)	>2,7	62,7	76,9	91,4	34,4	0,651	65,6
CXCL5, г/л ($\times10^{-9}$)	>98,4	58,8	84,6	93,9	33,9	0,634	64,1
MFI CXCR2, лимфоциты	>13,3	64,7	76,9	91,9	34,8	0,665	67,2
СРБ, мг %	>0,25	66,7	84,6	94,7	38,0	0,702	70,3
Комбинация (*P*1)	**>0,307**	**84,3**	**92,3**	**97,9**	**58,2**	**0,848**	**85,9**
Группы сравнения: I–II/III–IV ст. АК							
CYFRA 21-1, г/л ($\times10^{-6}$)	>4,6	65,0	86,3	78,8	75,9	0,754	76,9
CXCL5, г/л ($\times10^{-9}$)	>213,9	67,5	76,5	69,3	75,0	0,716	72,5

Окончание табл. 2

Показатель	ПЗ	ДЧ	ДС	ПЦПР	ПЦОР	AUC	ДЭ
MFI CXCR2, лимфоциты	>14,8	62,5	78,4	69,4	72,7	0,705	71,4
СРБ, мг %	>0,95	70,0	80,4	73,7	77,4	0,741	75,8
Комбинация (*P*1)	**>0,483**	**82,5**	**86,3**	**82,5**	**86,3**	**0,839**	**84,6**
Группы сравнения: T1-2/T3-4							
CYFRA 21-1, г/л ($\times10^{-6}$)	>4,7	74,4	83,3	80,0	78,4	0,787	79,1
CXCL5, г/л ($\times10^{-9}$)	>189,3	69,8	72,9	69,8	72,9	0,711	71,4
MFI CXCR2, лимфоциты	>17,1	65,1	79,2	73,7	71,7	0,712	72,5
СРБ, мг %	>1,15	74,4	81,3	78,1	78,0	0,776	78,0
Комбинация (*P*1)	**>0,375**	**79,1**	**91,7**	**89,5**	**83,0**	**0,848**	**85,7**
Группы сравнения: N0/N1-3							
CYFRA 21-1, г/л ($\times10^{-6}$)	>2,6	60,0	67,4	64,3	63,3	0,634	63,7
CXCL5, г/л ($\times10^{-9}$)	>183,2	62,2	69,6	66,7	65,3	0,645	65,9
MFI CXCR2, лимфоциты	>12,6	57,8	71,7	66,6	63,5	0,635	64,8
СРБ, мг %	>0,85	64,4	67,4	65,9	65,9	0,651	65,9
Комбинация (*P*1)	**>0,407**	**73,3**	**89,1**	**86,8**	**77,3**	**0,816**	**81,3**
Группы сравнения: M0/M1							
CYFRA 21-1, г/л ($\times10^{-6}$)	>4,8	64,3	67,3	62,8	68,7	0,644	65,9
CXCL5, г/л ($\times10^{-9}$)	>165,2	61,9	65,3	60,5	66,7	0,625	63,7
MFI CXCR2, лимфоциты	>17,1	66,7	69,4	65,1	70,9	0,674	68,1
СРБ, мг %	>0,9	71,4	67,3	65,2	73,3	0,689	69,2
Комбинация (*P*1)	**>0,407**	**88,1**	**73,5**	**74,0**	**87,8**	**0,797**	**80,2**
Группы сравнения: Grade 1,2/Grade 3							
CYFRA 21-1, г/л ($\times10^{-6}$)	>4,6	65,9	70,2	67,4	68,7	0,679	68,1
CXCL5, г/л ($\times10^{-9}$)	>243,4	63,6	68,1	65,1	66,6	0,653	65,9
MFI CXCR2, лимфоциты	>15,3	68,2	72,3	69,7	70,8	0,701	70,3
СРБ, мг %	>1,3	61,4	76,6	71,1	67,9	0,690	69,2
Комбинация (*P*1)	**>0,521**	**77,3**	**87,2**	**85,0**	**80,4**	**0,825**	**82,4**

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 3: ПЗ – пограничное значение; ДЧ – диагностическая чувствительность; ДС – диагностическая специфичность; ДЭ – диагностическая эффективность, ПЦПР и ПЦОР – предсказательная ценность положительного и отрицательного результата теста соответственно.

Т а б л и ц а 3. **Уровень показателей, характеризующих сравнительную диагностическую значимость индивидуального и комбинированного определения белков крови при ПКРЛ**

T a b l e 3. **Level of indicators characterizing the comparative diagnostic significance of individual and combined determination of blood proteins in squamous cell lung cancer**

Показатель	ПЗ	ДЧ	ДС	ПЦПР	ПЦОР	AUC	ДЭ
Группы сравнения: I–II ст. ПКРЛ/здоровые люди							
SCC, нг/мл	>1,48	68,6	77,8	75,0	71,8	0,726	73,2
CXCL5, г/л ($\times10^{-9}$)	>98,5	65,7	72,2	69,7	68,4	0,671	69,0
MFI CXCR2, лимфоциты	>12,2	71,4	69,4	69,4	71,4	0,697	70,4
СРБ, мг %	>0,19	68,6	75,0	72,7	71,1	0,703	71,8
Комбинация (*P*2)	**>0,287**	**88,6**	**91,7**	**91,2**	***89,2***	**0,896**	**90,1**
Группы сравнения: I–II ст. ПКРЛ/гамартома							
SCC, нг/мл	>1,7	65,7	69,2	85,2	42,8	0,658	66,7
CXCL5, г/л ($\times10^{-9}$)	>99,2	60,0	61,5	80,8	36,3	0,596	60,4
MFI CXCR2, лимфоциты	>14,6	62,9	69,2	84,6	40,9	0,631	64,6
СРБ, мг %	>0,25	62,9	61,5	81,5	38,1	0,618	62,5
Комбинация (*P*2)	**>0,321**	**82,9**	**92,3**	**96,7**	**66,7**	**0,837**	**85,4**
Группы сравнения: I–II/III–IV ст.							
SCC, нг/мл	>2,35	69,2	68,6	62,1	75,0	0,680	68,9
CXCL5, г/л ($\times10^{-9}$)	>213,9	65,4	65,7	58,6	71,9	0,646	65,6
MFI CXCR2, лимфоциты	>16,8	61,5	71,4	61,5	71,4	0,653	67,2

Окончание табл. 3

Показатель	ПЗ	ДЧ	ДС	ПЦПР	ПЦОР	AUC	ДЭ
СРБ, мг %	>0,95	57,7	68,6	57,7	68,6	0,628	63,9
Комбинация (*P*2)	**>0,529**	**76,9**	**88,6**	**83,4**	**83,8**	**0,824**	**83,6**
Группы сравнения: T1-2/T3-4							
SCC, нг/мл	>2,45	58,6	75,0	68,0	66,7	0,669	67,2
CXCL5, г/л ($\times 10^{-9}$)	>199,1	55,2	71,9	64,0	63,9	0,627	63,9
MFI CXCR2, лимфоциты	>19,8	62,1	68,8	64,3	66,7	0,642	65,6
СРБ, мг %	>1,25	65,5	59,4	59,4	65,5	0,618	62,3
Комбинация (*P*2)	**>0,392**	**75,9**	**90,6**	**88,0**	**80,6**	**0,822**	**83,6**
Группы сравнения: N0/N1-3							
SCC, нг/мл	>2,7	66,7	70,6	64,3	72,8	0,682	68,9
CXCL5, г/л ($\times 10^{-9}$)	>189,3	63,0	67,6	60,7	69,7	0,647	65,6
MFI CXCR2, лимфоциты	>15,1	59,3	73,5	64,0	69,5	0,659	67,2
СРБ, мг %	>0,95	55,6	76,5	65,3	68,5	0,661	67,2
Комбинация (*P*2)	**>0,399**	**74,4**	**82,4**	**77,0**	**80,2**	**0,775**	**78,7**
Группы сравнения: M0/M1							
SCC, нг/мл	>2,55	61,5	68,6	59,3	70,6	0,649	65,6
CXCL5, г/л ($\times 10^{-9}$)	>169,2	57,7	65,7	55,5	67,6	0,618	62,3
MFI CXCR2, лимфоциты	>18,1	53,8	71,4	58,3	67,5	0,621	63,9
СРБ, мг %	>0,8	65,4	62,9	56,7	71,0	0,23	63,9
Комбинация (*P*2)	**>0,403**	**69,2**	**74,3**	**66,7**	**76,5**	**0,718**	**72,1**
Группы сравнения: Grade 1,2/Grade 3							
SCC, нг/мл	>2,8	60,7	66,7	60,7	66,7	0,627	63,9
CXCL5, г/л ($\times 10^{-9}$)	>239,6	53,6	60,6	53,6	60,6	0,563	57,4
MFI CXCR2, лимфоциты	>16,3	53,6	75,8	65,3	65,8	0,642	65,6
СРБ, мг %	>1,35	57,1	63,6	57,1	63,6	0,598	60,7
Комбинация (*P*2)	**>0,537**	**75,0**	**81,8**	**77,8**	**79,4**	**0,777**	**78,7**

Уравнение логистической регрессии для комбинированного определения концентрации антигенов SCC ($X5$), CXCL5 ($X2$), С-реактивного белка ($X3$) в сыворотке крови и интенсивности флуоресценции рецептора CXCR2 (MFI CXCR2) в лимфоцитах крови ($X4$) у пациентов с ПКРЛ:

$$P2 = \exp(-3{,}207 + 0{,}103X2 + 0{,}217X3 + 0{,}075X4 + 0{,}608X5)/$$
$$1 + \exp(-3{,}207 + 0{,}103X2 + 0{,}217X3 + 0{,}075X4 + 0{,}608X5).$$

Все отобранные показатели вносили существенный вклад в регрессионные модели. Это следует из того обстоятельства, что отрицательное удвоенное значение логарифма функции правдоподобия из уравнения, содержащего только константу (начальный $-2LL$), составляет 78,2 для $P1$ и 75,5 для $P2$. После добавления переменных влияния $-2LL$ снижается до 60,9 для $P1$ и до 58,7 для $P2$. Снижение, или «качество приближения», составляет 17,3 для $P1$ и 16,8 для $P2$ (в обоих случаях $p < 0{,}05$).

Критерий Хосмера–Лемешева показал соответствие моделей исходным данным. Об этом свидетельствует уровень значимости, при котором не отвергается гипотеза о допустимых незначительных расхождениях между фактической и модельной классификацией как у пациентов с АК, так и у пациентов с ПКРЛ. Для всех сравниваемых групп (I–II ст./здоровые, I–II ст./гамартома, I–II/III–IV ст., T1-2/T3-4, N0/N1-3, M0/M1, Grade 1-2/Grade 3) он был больше 0,05.

Надежность регрессионных уравнений, каждое из которых использует комбинацию из значений четырех маркеров для диагностики начальной фазы развития НМКРЛ, подтверждается результатами ROC-анализа. Вычисленные площади под ROC-кривыми для всех вышеназванных групп сравнения были больше 0,7, но меньше 0,9, что соответствует «очень хорошему» и «хорошему» качеству созданных моделей согласно экспертной шкале AUC. При помощи анализа ROC-кривых установлены оптимальные значения порогов классификации (вероятности для чувствительности и специфичности модели) (табл. 2, 3). Если они больше, чем 0,307, но меньше, чем 0,483, вероятность наличия АК в начальной стадии ее развития составляет 97,9 %, т. е. вероятность ложноположительных результатов низкая.

В случае ПКРЛ аналогичный интервал пороговых значений находится в пределах 0,321–0,529. У таких пациентов вероятность наличия опухоли в начальной стадии ее развития составляет 96,7 %, о чем свидетельствует величина ПЦПР. Использование комбинации исследуемых белков в крови в составе регрессионного уравнения позволило существенно увеличить прогностическую ценность отрицательного результата в среднем на 20 %. Тем самым увеличилась вероятность того, что у тех пациентов, у которых $P1 < 0{,}307$ в случае АК, а $P2 < 0{,}321$ в случае ПКРЛ, действительно отсутствует эта патология.

Следует отметить, что созданные модели для ранней диагностики АК и ПКРЛ демонстрируют высокую диагностическую ценность при использовании их для прогнозирования не только стадии заболевания, но и других характеристик опухоли: размеров, метастазирования, степени злокачественности (см. табл. 2, 3).

Т а б л и ц а 4. **Классификационная таблица проверки логистической регрессионной модели *P*1 на экзаменационной выборке пациентов с АК легкого**

T a b l e 4. **Classification table for checking the logistic regression model *P*1 on the examination sample of the patients with lung adenocarcinoma**

К-во пациентов и здоровых людей			ДЧ	ДС	ПЦПР	ПЦОР	ДЭ
Фактически	Прогноз						
	I–I ст.	Здоровые					
I–II ст. (*n* = 9)	8	1	88,9	83,3	80,0	90,9	85,7
Здоровые (*n* = 12)	2	10					
Фактически	Прогноз		77,8	88,9	87,5	80,0	83,3
	I–II ст.	Гамартома					
I–II ст. (*n* = 9)	7	2					
Гамартома (*n* = 9)	1	8					
Фактически	Прогноз		75,0	88,9	85,7	80,0	82,4
	III–IV ст.	I – II ст.					
III–IV ст. (*n* = 8)	6	2					
I–II ст. (*n* = 9)	1	8					
Фактически	Прогноз		75,0	88,9	85,7	80,0	82,4
	T3-4	T1-2					
T3-4 (*n* = 8)	6	2					
T1-2 (*n* = 9)	1	8					
Фактически	Прогноз		66,7	87,5	85,7	70,0	76,5
	N1-3	N0					
N1-3 (*n* = 9)	6	3					
N0 (*n* = 8)	1	7					
Фактически	Прогноз		85,7	70,0	66,7	87,5	76,5
	M1	M0					
M1 (*n* = 7)	6	1					
M0 (*n* = 10)	3	7					
Фактически	Прогноз		71,4	80,0	71,4	80,0	76,5
	Grade 3	Grade 1-2					
Grade 3 (*n* = 7)	5	2					
Grade 1-2 (*n* = 10)	2	8					

Т а б л и ц а 5. **Классификационная таблица проверки логистической регрессионной модели *P*2 на экзаменационной выборке пациентов с ПКРЛ**

T a b l e 5. **Classification table for checking the logistic regression model *P*2 on the examination sample of the patients with squamous cell lung cancer**

К-во пациентов и здоровых людей			ДЧ	ДС	ПЦПР	ПЦОР	ДЭ
Фактически	Прогноз						
	I–II ст.	Здоровые					
I–II ст. (*n* = 8)	7	1	87,5	83,3	77,8	90,9	85,0
Здоровые (*n* = 12)	2	10					

Окончание табл. 5

К-во пациентов и здоровых людей			ДЧ	ДС	ПЦПР	ПЦОР	ДЭ
Фактически	Прогноз		75,0	88,9	85,7	80,0	82,4
	I–II ст.	Гамартома					
I–II ст. (*n* = 8)	6	2					
Гамартома (*n* = 9)	1	8					
Фактически	Прогноз		66,7	87,5	80,0	77,8	78,6
	III–IV ст.	I–II ст.					
III–IV ст. (*n* = 6)	4	2					
I–II ст. (*n* = 8)	1	7					
Фактически	Прогноз		66,7	87,5	80,0	77,8	78,6
	T3-4	T1-2					
T3-4 (*n* = 6)	4	2					
T1-2 (*n* = 8)	1	7					
Фактически	Прогноз		60,0	77,8	60,0	77,8	71,4
	N1-3	N0					
N1-3 (*n* = 5)	3	2					
N0 (*n* = 9)	2	7					
Фактически	Прогноз		60,0	66,7	50,0	75,0	64,3
	M1	M0					
M1 (*n* = 5)	3	2					
M0 (*n* = 9)	3	6					
Фактически	Прогноз		66,7	75,0	66,7	75,0	71,4
	N1-3	N0					
Grade 3 (*n* = 6)	4	2					
Grade 1-2 (*n* = 8)	2	6					

При проверке моделей на работоспособность использовались экзаменационные выборки, включавшие 17 пациентов с АК, 14 – с ПКРЛ, 9 – с гамартомой и 12 здоровых людей (табл. 4, 5). Оценку стадии и других характеристик опухоли у них проводили с использованием построенных логистических регрессионных моделей. Результаты анализа показали, что из 9 пациентов с I и II стадиями АК у 7 (88,9 %) человек значения уравнения логистической регрессии были в пределах интервала пограничных значений (0,307–0,483), т. е. прогнозируется наличие АК в начальных стадиях. У 6 из 8 пациентов с III и IV стадиями АК (75 %) результат *P*1 был больше пограничного значения 0,483, что соответствовало стадии заболевания. Вместе с тем у 2 из 12 здоровых людей (ДС – 83,3 %) и у 1 из 9 пациентов с гамартомой (ДС – 88,9 %) результаты *P*1 были выше – 0,281 и 0,307 соответственно, т. е. были ложноположительными. Таким образом, из 38 обследованных прогноз для 29 (ДЧ – 76,3 %) был предсказан верно. Для 24 из 29 обследованных вне I и II стадий заболевания значения *P*1 были истинноотрицательными (ДС – 82,8 %). Таким образом, суммарная ДЭ модели, использующей комбинацию измерения уровня CYFRA 21-1, CXCL5, MFI CXCR2 и СРБ у пациентов с АК при I и II стадиях заболевания составила 79,1 %.

Из 8 пациентов с ПКРЛ I и II стадий у 7 значения *P*2 были больше пограничного значения 0,287 (для здоровых людей), у 6 – больше пограничного значения для доброкачественной гамартомы (0,321), но меньше 0,529 (пограничное значение для III и IV стадий ПКРЛ) (табл. 5). Таким образом, 26 из 35 обследованных были правильно отнесены к группам с наличием или отсутствием ПКРЛ. То есть ДЧ метода составила 76,3 %. Для 22 из 27 вне I и II стадий заболевания значения *P*2 были истинноотрицательными (ДС – 81,5 %). ДЭ модели, использующей комбинацию измерения SCC, CXCL5, MFI CXCR2 и СРБ у пациентов с ПКРЛ в начальных стадиях заболевания, составила 77,4 %.

Хорошим было также совпадение результатов уравнений *P*1 и *P*2 (они соответствовали установленным пограничным значениям). Это свидетельствовало о том, что течение заболевания у обследуемых пациентов прослеживается для наличия/отсутствия у них метастазов, размеров опухоли и степени ее злокачественности. Можно заключить, что построенная логистическая модель устойчиво работает на экзаменационной выборке.

Чувствительность, специфичность и в целом эффективность убедительно показывают, что использование комбинации определяемых в крови пациентов белков значительно увеличивает диагностический потенциал последних. Это доказывает целесообразность использования их у пациентов с уже диагностированным НМКРЛ для контроля динамики развития опухоли или в качестве критерия, уточняющего стадию заболевания.

Важным условием использования любой лабораторной модели, в том числе предложенной комбинации маркеров раннего распознавания опухоли легкого, является его стоимость. В табл. 6 приводятся расчеты на основании ресурсной базы данных РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова.

Таблица 6. **Расчет стоимости измерения комбинации белков крови для диагностики НМКРЛ, бел. руб.**

Table 6. **Calculation of the cost of measuring the blood protein combination for diagnosis of non-small cell lung cancer, bel. rub.**

Маркер	Метод	Стоимость трудозатрат	Стоимость материалов	Итого
SCC	Иммуноферментный	5,16	13,85	19,01
CYFRA 21-1	Иммуноферментный	5,16	14,42	19,58
СРБ	Иммунотурбидиметрический	0,17	1,99	2,16
CXCL5	Иммуноферментный	0,95	9,64	10,59
CXCR2	Проточная цитометрия	4,57	7,36	11,93

Таким образом, стоимость проведения лабораторного анализа с целью выявления АК в начальной стадии составляет 44,26 бел. руб., а в случае ПКРЛ – 43,69 бел. руб.

Заключение. Разработаны регрессионные уравнения, использующие комбинацию из значений четырех маркеров для диагностики начальной фазы развития АК и ПКРЛ. С помощью ROC-анализа установлены оптимальные пороговые значения. Показано, что в интервале 0,307–0,483 вероятность наличия АК в I и II стадиях ее развития составляет 97,9 %. При ПКРЛ интервал пороговых значений находится в пределах 0,321–0,529. Прогностическая ценность положительного результата – 96,7 %. Проверка работоспособности моделей на экзаменационной выборке пациентов показала, что при АК ДЧ составляет 76,3 %, а ДС – 82,8 %, при ПКРЛ – 76,3 и 81,5 % соответственно.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 / J. Ferlay [et al.] // Int. J. Cancer. – 2015. – Vol. 136, N 5. – P. E359–E386. https://doi.org/10.1002/ijc.29210

2. Usefulness of serum tumor markers, including progastrin-releasing peptide, in patients with lung cancer: correlation with histology / R. Molina [et al.] // Tumor Biol. – 2009. – Vol. 30, N 3. – P. 121–129. https://doi.org/10.1159/000224628

3. Хемокины CXCL5, CXCL8 и их рецепторы CXCR1, CXCR2 – потенциальные биомаркеры немелкоклеточного рака легкого / А. Д. Таганович [и др.] // Лаб. диагностика. Вост. Европа. – 2020 – Т. 9, № 3. – С. 252–271.

4. Inflammatory cytokines and non-small cell lung cancer in a CT-scan screening cohort: background review of the literature / C. DeCotiis [et al.] // Cancer Biomarkers. – 2016. – Vol. 16, N 2. – P. 219–233. https://doi.org/10.3233/CBM-150559

5. Prognostic value of circulating inflammatory factors in non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis / L. Chen [et al.] // Cancer Biomark. – 2014. – Vol. 14, N 6. – P. 469–481. https://doi.org/10.3233/CBM-140423

6. Diagnostic relevance of circulating biomarkers in patients with lung cancer / R. Molina [et al.] // Cancer Biomarkers. – 2010. – Vol. 6, N 3–4. – P. 163–178. https://doi.org/10.3233/CBM-2009-0127

7. The evaluation of serum biomarkers for non-small cell lung cancer (NSCLC) diagnosis / F. Rui [et al.] // Front. Physiol. – 2018. – Vol. 9. – Art. 1710. https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01710

8. Holdenrieder, S. Biomarkers along the continuum of care in lung cancer / S. Holdenrieder // Scand. J. Clin. Lab. Invest. – 2016. – Vol. 76, N 245. – P. S40–S45. https://doi.org/10.1080/00365513.2016.1208446

9. The predictive value of inflammation-related peripheral blood measurements in cancer staging and prognosis / J. L. Sylman [et al.] // Front. Oncol. – 2018. – Vol. 21, N 8. – 78. https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00078

References

1. Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Parkin D. M., Forman D., Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*, 2015, vol. 136, no. 5, pp. E359–E386. https://doi.org/10.1002/ijc.29210

2. Molina R., Auge J. M., Bosch X., Escudero J. M., Vinolas N., Marrades R., Ramırez J., Carcereny E., Filella X. Usefulness of serum tumor markers, including progastrin-releasing peptide, in patients with lung cancer: correlation with histology. *Tumor Biology*, 2009, vol. 30, no. 3, pp. 121–129. https://doi.org/10.1159/000224628

3. Taganovich A. D., Kovganko N. N., Prokhorova V. I., Got'ko O. V., Derzhavets L. A., Murashko D. I. Chemokines CXCL5, CXCL8 and their receptors CXCR1, CXCR2 are potential biomarkers of non-small cell lung cancer. *Laboratornaya diagnostika. Vostochnaya Evropa* [Laboratory diagnostics. Eastern Europe], 2020, vol. 9, no. 3, pp. 252–271 (in Russian).

4. DeCotiis C., Hu Y., Greenberg A. K., Huie M., Tsay J.-C. J., Pass H., Goldberg J. D., Rom W. N. Inflammatory cytokines and non-small cell lung cancer in a CT-scan screening cohort: background review of the literature. *Cancer Biomarkers*, 2016, vol. 16, no. 2, pp. 219–233. https://doi.org/10.3233/CBM-150559

5. Chen L., Zubin Y., Wei G., Qingyun L., Yanan W., Yafei L., Li B. Prognostic value of circulating inflammatory factors in non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Biomarkers*, 2014, vol. 14, no. 6, pp. 469–481. https://doi.org/10.3233/CBM-140423

6. Molina R., Holdenrieder S., Auge J., Schalhorn A., Hatz R., Stieber P. Diagnostic relevance of circulating biomarkers in patients with lung cancer. *Cancer Biomarkers*, 2010, vol. 6, no. 3–4, pp. 163–178. https://doi.org/10.3233/CBM-2009-0127

7. Rui F., Yong Z., Vedbar S. K., Fan Z., Bin J., Youping D. The evaluation of serum biomarkers for non-small cell lung cancer (NSCLC) diagnosis. *Frontiers in Physiology*, 2018, vol. 9, art. 1710. https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01710

8. Holdenrieder S. Biomarkers along the continuum of care in lung cancer. Scand. *Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 2016, vol. 76, no. 245, pp. S40–S45. https://doi.org/10.1080/00365513.2016.1208446

9. Sylman J. L., Mitrugno A., Atallah M., Tormoen G. W., Shatzel J. J., Yunga S. T., Wagner T. H., Leppert J. T., Mallick P., McCarty O. J. T. The predictive value of inflammation-related peripheral blood measurements in cancer staging and prognosis. *Frontiers in Oncology*, 2018, vol. 21, no. 8, art. 78. https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00078

Информация об авторах

Таганович Анатолий Дмитриевич – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: ataganovich@gmail.com

Ковганко Николай Николаевич – канд. хим. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mikalai44@tut.by

Прохорова Виолетта Игоревна – д-р мед. наук, профессор, заведующий отделом. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (223040, агр. Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: vprohorova@mail.ru

Державец Лилия Александровна – д-р биол. наук, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова (223040, агр. Лесной, Минский р-н, Республика Беларусь). E-mail: dzerzhavets@mail.ru

Колб Александр Владимирович – канд. биол. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: sanya.kolb@yandex.by

Мурашко Дарья Игоревна – аспирант, Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: dashamurashka@mail.ru

Information about the authors

Anatoli D. Tahanovich – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ataganovich@gmail.com

Nikolay N. Kauhanka – Ph. D. (Chem.), Associate Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mikalai44@tut.by

Violetta I. Prokhorova – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: vprohorova@mail.ru

Lilia A. Derzhavets – D. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory. N. N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus (223040, Lesnoy, Minsk region, Republic of Belarus). E-mail: dzerzhavets@mail.ru

Alexander V. Kolb – Ph. D. (Biol.), Associate Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sanya.kolb@yandex.by

Darya I. Murashka – Postgraduate student. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dashamurashka@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 614.446.9:614.47+578.834.1
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-456-465

Поступила в редакцию 23.07.2021
Received 23.07.2021

Т. В. Амвросьева, И. В. Бельская, З. Ф. Богуш, Н. В. Поклонская, Ю. Б. Колтунова, О. Н. Казинец

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь

ХАРАКТЕРИСТИКИ И ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПОСЛЕ ИММУНИЗАЦИИ ВАКЦИНАМИ «СПУТНИК V» И VERO CELL

Аннотация. В представленной работе проведен анализ данных о серопревалентности, напряженности и длительности сохранения гуморального поствакцинального иммунитета к коронавирусу SARS-CoV-2 у жителей Республики Беларусь после иммунизации двумя доступными вакцинными препаратами – «Спутник V» и Vero Cell.

Установлено, что сероконверсия после введения вакцины Vero Cell происходила достоверно позже, чем после применения вакцины «Спутник V» ($p < 0{,}001$). Вместе с тем двухэтапная иммунизация данными препаратами обеспечивала у привитых достаточно высокую эффективность выработки антител к S-белку возбудителя COVID-19: доля серопозитивных лиц составила 99,19 [96,89; 99,97] % для «Спутник V» и 96,03 [90,81; 98,53] % для Vero Cell. Эффективность образования антител после иммунизации вакциной Vero Cell была ниже у лиц старше 65 лет. Доля вакцинированных с высокой концентрацией IgG к S-белку SARS-CoV-2 на 42-й день от начала иммунизации после применения «Спутника V» была достоверно выше, чем после вакцинации Vero Cell ($p < 0{,}05$), и с течением времени постепенно уменьшалась. При этом существенного снижения доли серопозитивных лиц спустя 90 дней от начала иммунизации обоими вакцинными препаратами не выявлено. У ранее переболевших лиц, иммунизированных вакциной «Спутник V», количественные показатели поствакцинальных антител достигали пиковых значений уже после одной дозы препарата.

Полученные результаты дополняют накопленную мировой наукой и практикой информацию о формировании поствакцинального иммунитета после применения разных вакцинных препаратов против COVID-19.

Ключевые слова: COVID-19, коронавирус SARS-CoV-2, поствакцинальный иммунитет, антитело, вакцинация, гуморальный иммунитет

Для цитирования: Характеристики и особенности формирования гуморального иммунитета после иммунизации вакцинами «Спутник V» и Vero Cell / Т. В. Амвросьева [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 4. – С. 456–465. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-456-465

Tamara V. Amvrosieva, Inna V. Belskaya, Zoya F. Bohush, Natallia V. Paklonskaya, Yulia B. Kaltunova, Olga N. Kazinetz

Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus

CHARACTERISTICS AND FEATURES OF THE FORMATION OF HUMORAL IMMUNITY AFTER IMMUNIZATION WITH SPUTNIK V AND VERO CELL VACCINES

Abstract. The presented work contains an analysis of seroprevalence, tension, and duration of post-vaccination immunity to the SARS-CoV-2 coronavirus in the residents of the Republic of Belarus after immunization with two vaccine preparations available in the country: Sputnik V and Vero Cell.

It was found that seroconversion after the injection of the Vero Cell vaccine occurred significantly later than after the Sputnik V vaccine ($p < 0.001$). Nevertheless, two-stage immunization with the vaccines provided a sufficiently high efficiency of the inoculated antibodies to the S protein of the COVID-19 pathogen: the proportion of seropositive persons reached 99.19 [96.89; 99.97] % for Sputnik V and 96.03 [90.81; 98.53] % for Vero Cell. The efficiency of antibody formation after immunization with the Vero Cell vaccine was lower in older persons (in the group > 65 years). The proportion of individuals with the highest IgG score for the SARS-CoV-2 S protein was higher after the Sputnik V administration compared to that in response to the Vero Cell vaccine ($p < 0.05$), and gradually decreased over time. However, no significant decrease in the level of seropositive individuals after 90 days from the start of immunization with the both vaccine preparations was detected. In COVID-19 survivors immunized with the Sputnik V vaccine, the quantitative indicators of post-vaccination antibodies reached their peak values after 1 dose of the vaccine.

The obtained results complement the accumulated world science and practical information on the problem of the post-vaccination immunity formation in the context of the use of different drugs against COVID-19.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2 coronavirus, post-vaccination immunity, antibody, vaccination, humoral immunity

For citation: Amvrosieva T. V., Belskaya I. V., Bohush Z. F., Paklonskaya N. V., Kaltunova Yu. B., Kazinetz O. N. Characteristics and features of the formation of humoral immunity after immunization with Sputnik V and Vero Cell vaccines. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 4, pp. 456–465 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-456-465

Введение. Общепринятое мнение о том, что вакцинация – единственный выход из сложившейся эпидемической ситуации по COVID-19, побудило запуск разработки более 200 вакцинных препаратов на основе различных биотехнологических платформ [1]. После успешного завершения третьей фазы клинических испытаний созданных вакцин с декабря 2020 г. в мире началась кампания по массовой иммунизации населения [2, 3]. Эффективность вакцинопрофилактики была доказана значительным снижением смертности, тяжелых форм заболевания и случаев госпитализации в группах привитых [4, 5].

В настоящее время 23,6 % мирового населения получили хотя бы одну дозу вакцины, разрешенной к применению. Канада, Великобритания и Израиль сейчас являются лидерами по иммунизации своего населения (доля вакцинированных в этих странах – не менее 60 %) [6]. По состоянию на 13 июня 2021 г. доля жителей Беларуси, прошедших первый этап вакцинации, составила 7,4 %.

Как известно, в настоящее время для населения нашей страны доступны два вакцинных препарата: «Гам-КОВИД-Вак», известный под названием «Спутник V» (НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи, Россия), и Vero Cell («Синофарм», Китай). В основе разработки «Спутника V» – векторная платформа, предполагающая использование двух аденовирусов человека 26-го и 5-го типов, доставляющих в клетку ген, кодирующий шиповидный (S) белок коронавируса SARS-CoV-2. Vero Cell представляет собой инактивированную цельновирионную вакцину. Для двух вакцин регламентируется двукратное введение действующего вещества. Следует отметить, что разные технологии производства данных вакцин обусловливают различия в презентации вирусспецифических антигенов, а также в формировании иммунного ответа на коронавирус SARS-CoV-2 и длительности сохранения антител.

Гонка среди производителей вакцин, широкая информированность граждан из разных источников, а также быстро обновляющиеся данные (иногда противоречивые) о поствакцинальном иммунитете вызывают многочисленные опасения в плане безопасности и эффективности применения того или иного препарата, а также сохранности поствакцинальных антител.

Во многих странах, в том числе и в Беларуси, развернуты специальные научно-исследовательские работы по изучению специфического иммунитета к коронавирусу SARS-CoV-2 после иммунизации разными вакцинами. Такие исследования представляют несомненный интерес в плане накопления информации и ее дальнейшего использования для выбора наиболее результативного по эффективности вакцинного препарата и определения тактики вакцинации против COVID-19 в долгосрочной перспективе.

В РНПЦ эпидемиологии и микробиологии исследования по изучению поствакцинального иммунитета были начаты в феврале 2021 г. и продолжаются по настоящее время.

Цель работы – изучить первые результаты, характеризующие особенности формирования антительного ответа на коронавирус SARS-CoV-2 после иммунизации жителей Республики Беларусь применяемыми в настоящее время вакцинными препаратами.

Материалы и методы исследования. В исследованиях принял участие 381 иммунизированный доброволец, всего проанализировано 926 образцов венозной крови. Периодическую детекцию поствакцинальных антител в сыворотках крови проводили через 42, 90 и 135 дней от начала вакцинации «Спутник V» и через 42 и 90 дней от начала вакцинации Vero Cell (иммунизация этой вакциной была начата позже и данные о присутствии поствакцинальных антител спустя 135 дней на момент подготовки публикации еще не были получены). Изучение кинетики и частоты образования IgG к S-белку коронавируса SARS-CoV-2 после иммунизации «Спутником V» и Vero Cell проводили с использованием набора SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ («Вектор-Бест», Россия). В сыворотке/плазме крови лиц, иммунизированных препаратом Vero Cell, детектирова-

ли также IgG к N-белку коронавируса SARS-CoV-2 с помощью набора «SARS-CoV-2-NP-ИФА-G» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь).

Постановку иммуноферментного анализа (ИФА) и расчет значений коэффициента позитивности (КП) осуществляли в соответствии с инструкциями производителей. Доверительные интервалы долей рассчитывали по откорректированному методу Вальда.

Результаты и их обсуждение. Для изучения серостатуса к возбудителю COVID-19 после иммунизации с соблюдением всех принципов биоэтики были сформированы две группы добровольцев (всего 381 человек), которые дали согласие на участие в исследовании. Демографические характеристики обследованных привитых лиц представлены в таблице.

Характеристика групп привитых, участвовавших в серологическом тестировании (г. Минск)

Characteristic of the group of the residents who participated in serological testing (Minsk)

Параметр оценки	Доля привитых лиц, %	
	Вакцина «Спутник V» (n = 246)	Вакцина Vero Cell (n = 135)
Возраст, лет:		
18–34	17,1	27,4
35–49	33,7	29,6
50–64	37,0	31,1
старше 64	12,2	11,9
Пол:		
женщины	67,1	71,1
мужчины	32,9	28,9

На первом этапе исследований проводили анализ возникших у привитых нежелательных явлений (НЯ). Полученные результаты показали, что после иммунизации одной и двумя дозами «Спутника V» системные и местные НЯ регистрировались у 64,56 [56,83; 71,60] и 74,34 [66,83; 80,65] % привитых соответственно, а после Vero Cell – у 41,18 [32,11; 50,88] и 38,20 [28,78; 48,60] % привитых. Спектры поствакцинальных реакций соответствовали заявленным производителями вакцинных препаратов и были схожи, однако имелись определенные структурные различия (рис. 1). Так, после иммунизации вакциной «Спутник V» чаще всего привитые отмечали астению (16,7–24,7 %), общее недомогание (26,3–31,1 %), повышение температуры тела (22,4–25,3 %), непродолжительный гриппоподобный синдром (16,4–25,3 %), головную боль (20,4–24,7 %), боль в мышцах (19,7–24,7 %), суставах (16,4–20,9 %). В ряде случаев после получения первой дозы вакцины реакции отсутствовали, но регистрировались после второй дозы, и наоборот. Привитые вакциной Vero Cell чаще отмечали болезненность в месте инъекции (24,7–26,5 %), сонливость (12,4–14,7 %), слабость (12,4–12,7 %).

Установлено, что частота развития поствакцинальных НЯ после иммунизации вакциной Vero Cell была, за малым исключением, значительно ниже ($p < 0,05$).

Сероконверсия после иммунизации Vero Cell наступала достоверно позже ($p < 0,001$), чем после применения «Спутника V». В то же время изучение серостатуса иммунизированных лиц после двух этапов вакцинации показало достаточно высокую эффективность выработки у них антител к возбудителю COVID-19. Так, доля серопозитивных лиц в отношении иммуноглобулинов G к S-белку SARS-CoV-2 после двух этапов иммунизации «Спутником V» составила 99,19 [96,89; 99,97] %, после Vero Cell – 96,03 [90,81; 98,53] % (рис. 2). Полученные результаты согласуются с данными зарубежных коллег по определению частоты выявления антител после иммунизации «Спутником V»: по данным российских специалистов, поствакцинальные антитела обнаруживались у 91,60 % вакцинированных лиц [7].

Анализ серостатуса привитых в разрезе возрастных групп (рис. 3) показал, что после первой дозы «Спутника V» частота выявления IgG к S-белку колебалась в пределах от 46,67 % (в группе лиц старше 64 лет) до 88, 37 % (в группе лиц в возрасте 35–49 лет). После второй дозы 100 %-ное обнаружение противовирусных IgG имело место не во всех возрастных группах. У двух пациентов из групп 35–49 лет и 50–64 года поствакцинальные антитела не обнаружены. По анамнести-

ческим данным, у одного из них до и во время вакцинации имели место признаки респираторной инфекции, а кроме того, он принимал арпетол (известный индуктор интерферона, механизм действия которого препятствует проникновению вирусов в клетку и слиянию липидной оболочки вируса с клеточными мембранами). Вопрос о том, мог ли данный препарат повлиять на поствакцинальный иммунный ответ, остается открытым и требует специального изучения.

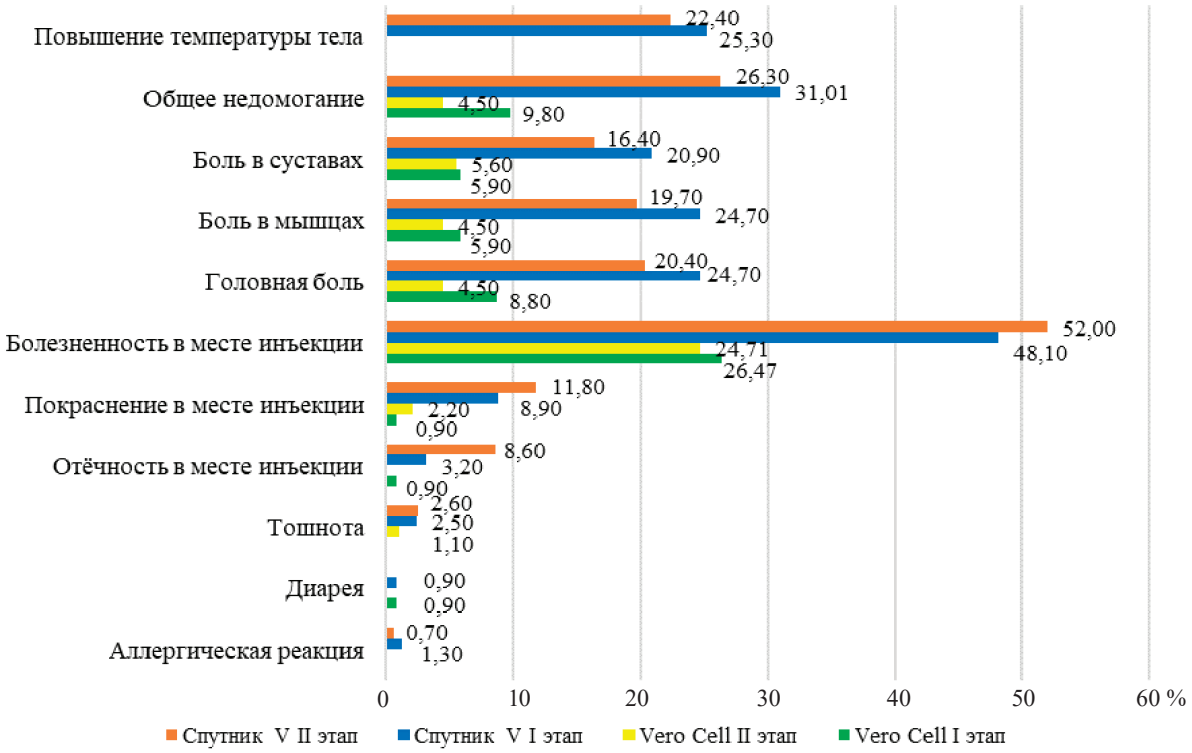


Рис. 1. Частота возникновения нежелательных явлений (%) после иммунизации вакцинами «Спутник V» (I этап – *n* = 158, II этап – *n* = 152) и Vero Cell (I этап – *n* = 102, II этап – *n* = 89)

Fig. 1. Incidence of adverse events (%) after immunization with Sputnik V (I stage – *n* = 158, II stage – *n* = 152) and Vero Cell (I stage – *n* = 102, II stage – *n* = 89)

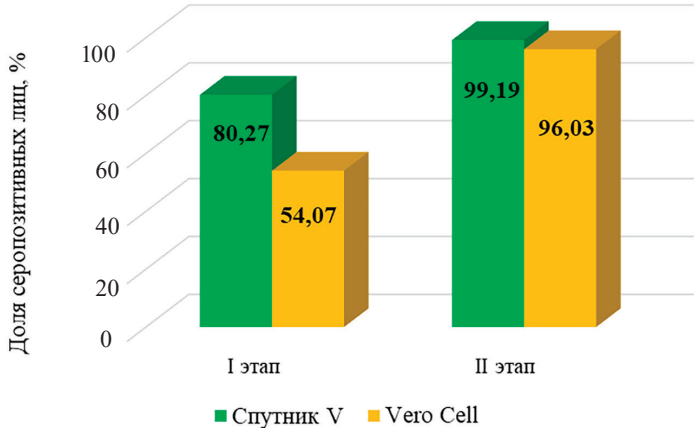


Рис. 2. Частота выявления противовирусных антител у привитых вакцинами «Спутник V» и Vero Cell

Fig. 2. Frequency of detection of antiviral antibodies in the persons immunized with the Sputnik V and Vero Cell vaccines

При сравнительном анализе поствакцинального антительного ответа в разных возрастных группах для вакцины Vero Cell установлено уменьшение доли серопозитивных лиц старше 65 лет (рис. 3).

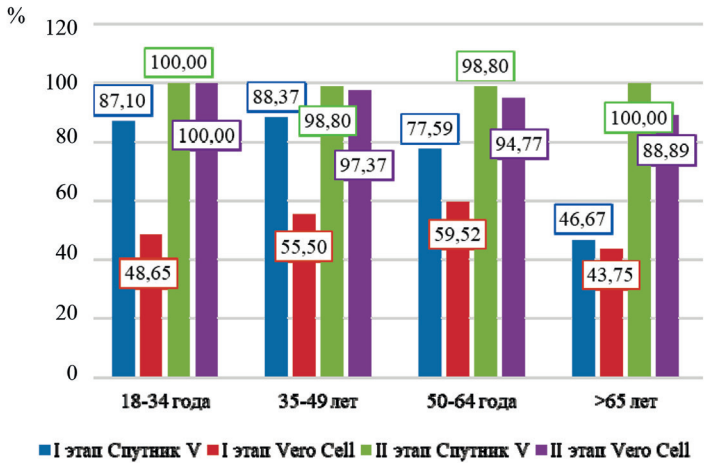


Рис. 3. Серостатус иммунизированных лиц в разных возрастных группах

Fig. 3. Serostatus of the immunized persons in different age groups

Как известно, при иммунизации цельновирионными вакцинами потенциальный спектр поствакцинальных антител может более широким в связи с бóльшим по сравнению с векторными и мРНКовыми вакцинами разнообразием введенных в организм вирусных антигенов. В связи с этим серологическое тестирование привитых вакциной Vero Cell проводили в отношении антител к двум наиболее иммуногенно значимым белкам SARS-CoV-2 – S и N. Исследования осуществляли спустя 42 дня после получения первой дозы вакцины. Как оказалось, результаты выявления антител к данным белкам были разными. Так, доля серопозитивных лиц к N-белку составила 34,19 [26,20; 43,18] %, а к S-белку – 96,03 [90,81; 98,53] %. Согласно результатам нашего исследования, а также других авторов [8], такие различия в выработке антител к разным белкам могут быть обусловлены смещением равновесия в сторону образования иммуноглобулинов, содержащих вируснейтрализующие эпитопы в составе S-белка (около 80 % от пула образующихся антител), а также более коротким периодом полужизни антител к N-белку [9].

Частота образования антител у привитых разных возрастных групп не коррелировала с полом. По имеющимся литературным данным, в отношении других известных инфекций особенности гормональной регуляции и естественный механизм иммуносупрессии в женском организме теоретически могут обусловливать различия в продукции вирусспецифических антител [10], однако на практике это предположение подтверждается редко.

При сравнительной оценке напряженности поствакцинального иммунитета установлено (рис. 4), что после двух этапов иммунизации значение КП > 4 регистрировалось у 92,28 [88,19; 95,06] и 87,30 [80,27; 92,13] % привитых вакцинами «Спутник V» и Vero Cell соответственно. При этом значительная часть пациентов – 67,90 [61,81; 73,41] % после иммунизации «Спутником V» и 42,1 [33,80; 50,80] после введения Vero Cell – имели чрезвычайно высокую концентрацию антител в крови, которая в 13 и более раз превышала минимальное пороговое положительное значение. Сравнительный анализ результатов, полученных после иммунизации двумя вакцинами, выявил определенные различия: после введения вакцины «Спутник V» доля лиц, имеющих максимально высокую концентрацию IgG к S-белку SARS-CoV-2, была выше, чем после введения вакцины Vero Cell.

В настоящее время вопрос о длительности сохранения антител после иммунизации против COVID-19 остается открытым вследствие ограниченности по времени реального наблюдения от начала вакцинации (как известно, вакцинация в Республике Беларусь началась в январе–феврале 2021 г.).

На 42-й день после первого этапа иммунизации «Спутником V» доля серопозитивных привитых по IgG к S-белку составила 99,18 %. Спустя 3 мес. от начала вакцинации она незначительно, но уменьшилась (до 96,95 %), при этом изменения в значениях КП, косвенно отражающих концентрацию противовирусных АТ, характеризовались более резким спадом по сравнению с таковыми, регистрируемыми на 42-й день после начала иммунизации (рис. 5). В более поздние сроки (135-й день) резкие колебания по напряженности гуморального иммунитета не регистрировались.

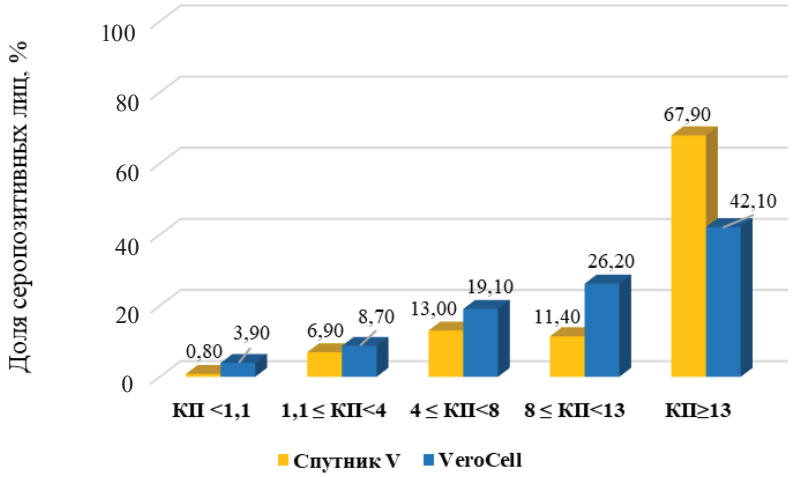


Рис. 4. Напряженность посвакцинального иммунитета по IgG к S-белку SARS-CoV-2 после иммунизации «Спутником V» и Vero Cell

Fig. 4. Vaccination immunity intensity in relation to IgG to the S-protein SARS-CoV-2 after vaccination with Sputnik V and Vero Cell

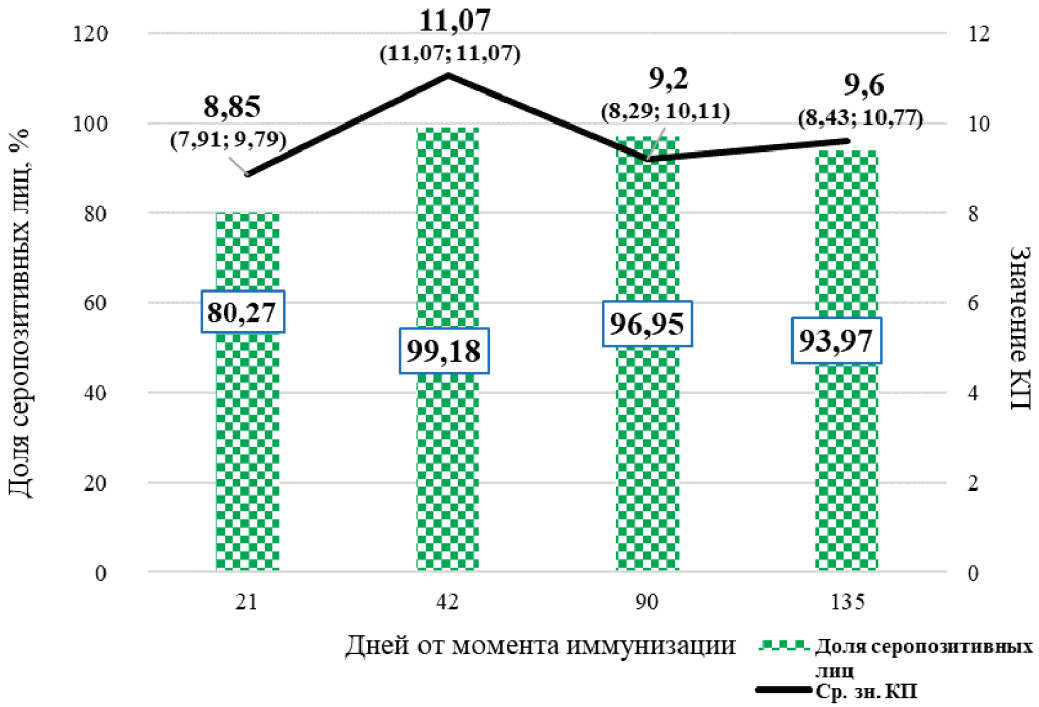


Рис. 5. Напряженность посвакцинального иммунитета по IgG к S-белку SARS-CoV-2 после вакцинации препаратом «Спутник V»

Fig. 5. Vaccination immunity intensity for IgG to the S-protein SARS-CoV-2 after vaccination with Sputnik V

Как упоминалось выше, после иммунизации препаратом Vero Cell сероконверсия наступала достоверно позже. Так, после введения одной дозы поствакцинальные антитела обнаруживались у 54,07 % иммунизированных (рис. 6), в то время как после применения препарата «Спутник V» антительный ответ на этом этапе регистрировался у 80,27 % привитых (см. рис. 5). На 42-й день от начала иммунизации доли серопозитивных лиц были сопоставимы (99,18 % для «Спутник V» и 96,03 % для Vero Cell) (рис. 5, 6). Первоначально регистрируемые концентрации антител после иммунизации Vero Cell (в отличие от таковых после «Спутника V») не имели существенных изменений в динамике наблюдения.

Далее на ограниченном количестве сывороток крови были проведены сравнительные исследования по изучению напряженности гуморального поствакцинального иммунитета методом иммунохемилюминесцентного анализа (ИХЛА) на приборе Architect (Abbott Laboratories, США) с использованием наборов, валидных для количественного определения IgG к RBD коронавируса SARS-CoV-2. Так, полученные с использованием ИФА-наборов показатели содержания IgG к полному S-белку (КП) и показатели по антителам к RBD-белку (AU/мл, метод ИХЛА) в целом коррелировали между собой (рис. 7, *A*, *B*). При этом концентрации поствакцинальных антител к обоим белкам у привитых реконвалесцентов (под номерами 15, 16) были существенно более высокими (в 10–150 раз), чем у ранее неинфицированных и непереболевших COVID-19 лиц (рис. 7, *B*). Полученные результаты свидетельствуют о наличии мощного бустерного эффекта у реконвалесцентов после их вакцинации.

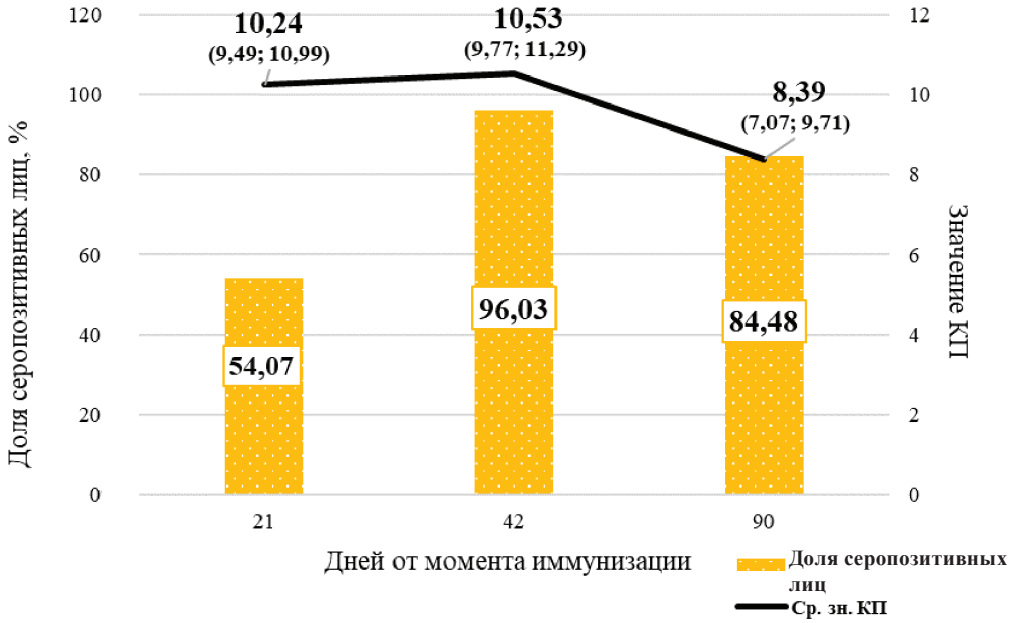
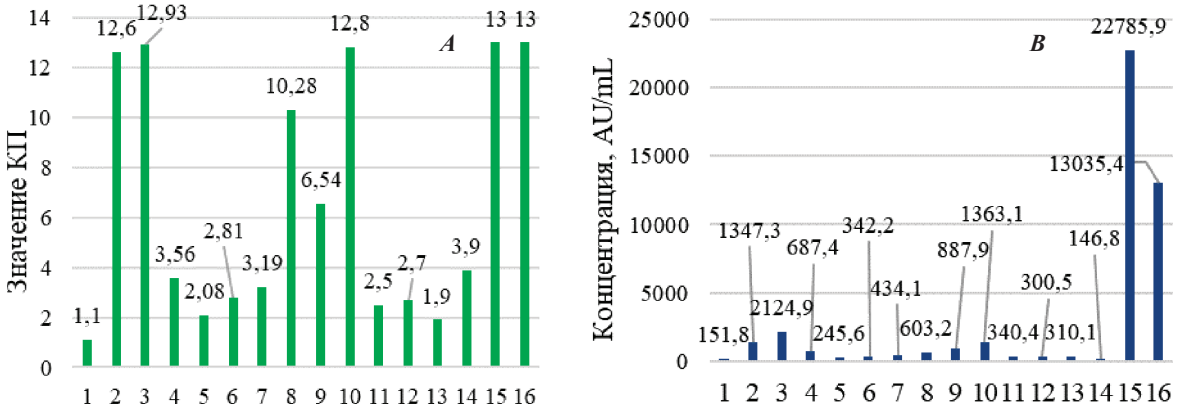


Рис. 6. Напряженность посвакцинального иммунитета по IgG к S-белку SARS-CoV-2 после вакцинации препаратом Vero Cell

Fig. 6. Vaccination immunity intensity for IgG to SARS-CoV-2 S-protein after vaccination with Vero Cell



1–16 – лица, иммунизированные препаратом «Гам-КОВИД-Вак»

Рис. 7. Напряженность иммунитета по IgG к S-белку SARS-CoV-2 и к RBD-белку у привитых на 65-й день после второго этапа иммунизации «Спутником V» (*A* – метод ИФА, *B* – метод ИХЛА)

Fig. 7. Immunity intensity for IgG to the S-protein SARS-CoV-2 and to the RBD protein in the vaccinated persons on the 65th day after the 2nd stage of immunization with Sputnik V (*A* – ELISA, *B* – CLIA)

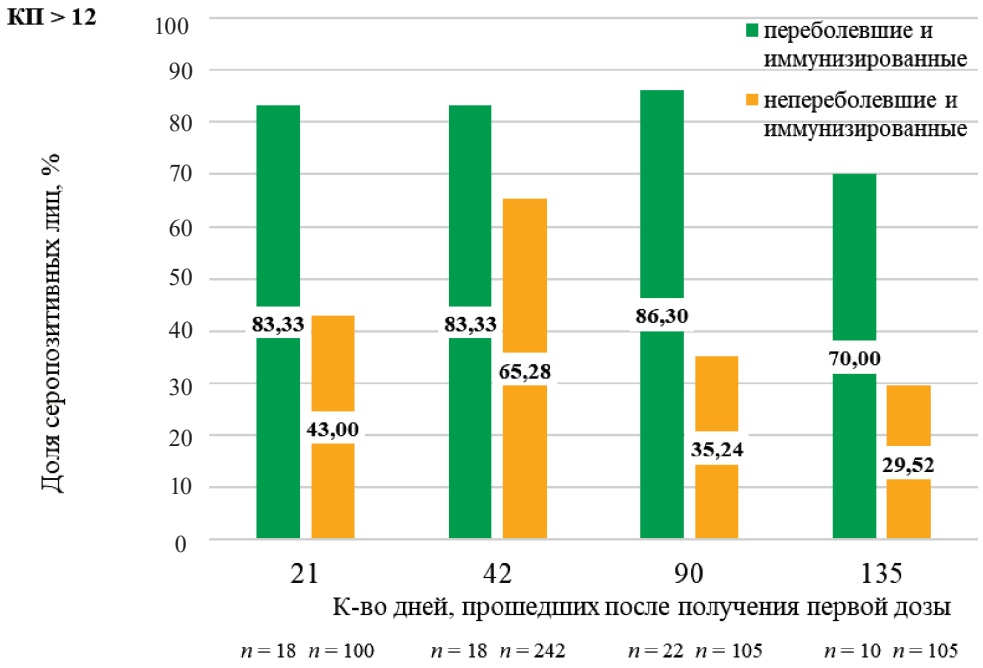


Рис. 8. Сравнительный анализ длительности сохранения высоких концентраций антител (КП > 12) после иммунизации вакциной «Спутник V» у переболевших COVID-19 и непереболевших лиц в динамике наблюдения

Fig. 8. Comparative analysis of the duration of retention of high concentrations of antibodies after immunization with the Sputnik V vaccine in those who had recovered from COVID-19 and those who did not recover in the observation dynamics

На основе полученной информации проведены дальнейшие исследования по сравнительному изучению характеристик антительного ответа у иммунизированных реконвалесцентов и непереболевших привитых лиц (рис. 8). Анализ напряженности поствакцинального иммунитета спустя 42 дня от начала иммунизации вакциной «Спутник V» показал, что 88,33 [59,95; 94,99] % переболевших привитых имели достаточно высокие концентрации антител к SARS-CoV-2 (КП > 12), в то время как только 65,28 [59,09; 71,01] % непереболевших привитых имели такие показатели. Более того, спустя 3 мес. от начала вакцинации у всех переболевших привитых сохранился такой же высокий уровень антител, тогда как более чем у половины непереболевших привитых он снизился. Аналогичные результаты в отношении «Спутника V» и мРНК вакцины получены зарубежными исследователями [11], показавшими что пиковые значения противовирусных антител достигаются уже после первого этапа иммунизации и практически не увеличиваются после второго этапа. Исходя из этого, в настоящее время среди специалистов активно обсуждается вопрос о достаточности для реконвалесцентов одной дозы вакцин, что предотвратит возможное истощение пула зрелых В-лимфоцитов.

Выводы

1. Двухэтапная иммунизация вакцинами «Спутник V» и Vero Cell обеспечивает достаточно высокую эффективность выработки у привитых антител к S-белку возбудителя COVID-19: доля серопозитивных лиц составила 99,19 [96,89; 99,97] % для «Спутника V» и 96,03 [90,81; 98,53] % для Vero Cell.

2. Частота выявления антител к S- и N-белкам после иммунизации вакциной Vero Cell была разной: иммуноглобулины класса G к N-белку детектировались у значительно меньшей доли привитых (96,03 [90,81; 98,53] и 34,19 [26,20; 43,18] % соответственно).

3. Сероконверсия после введения вакцины Vero Cell происходила достоверно позже, чем после вакцины «Спутник V» ($p < 0,001$).

4. Доля привитых, имеющих высокую концентрацию IgG к S-белку SARS-CoV-2 на 42-й день от начала иммунизации, была достоверно выше после применения вакцины «Спутник V», чем после применения в этот период Vero Cell ($p < 0,05$).

5. Эффективность образования антител после иммунизации вакциной Vero Cell была ниже у лиц старше 65 лет.

6. Существенного снижения доли серопозитивных лиц спустя 90 дней от начала иммунизации обоими вакцинными препаратами не выявлено.

7. У ранее переболевших лиц, иммунизированных вакциной «Спутник V», количественные показатели поствакцинальных антител достигали пиковых значений уже после одной дозы препарата.

8. Спектр выявленных поствакцинальных НЯ соответствовал указанным в инструкциях производителей вакцин, доля привитых, у которых они были зарегистрированы, оказалась достоверно ниже среди привитых вакциной Vero Cell ($p < 0,05$).

Полученные результаты дополняют накопленную мировой наукой и практикой информацию о формировании поствакцинального иммунитета в условиях применения разных вакцинных препаратов против COVID-19 и диктуют необходимость продолжения исследований по дальнейшему изучению характеристик и особенностей иммунного ответа, его протективности и устойчивости в разных группах населения и у пациентов с повышенным риском тяжелого течения инфекции (иммунодефицитных, с серьезными хроническими заболеваниями, в том числе аутоиммунными, аллергическими и др.).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Поиск вакцины против COVID-19 [Электронный ресурс]. – 2021. – Режим доступа: https://www.who.int/ru/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/covid-19-vaccines. – Дата доступа: 20.06.2021.

2. The Advisory Committee on Immunization Practices' Interim Recommendation for Use of Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine – United States / S. E. Oviver [et al.] // MMWR. Morb Mortal Wkly Rep. – 2020. – Vol. 69, N 50. – P. 1922–1924. https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6950e2

3. Ledford, H. Moderna COVID vaccine becomes second to get US authorization / H. Ledford // Nature. – 2020. https://doi.org/10.1038/d41586-020-03593-7

4. BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine in a nationwide mass vaccination setting / N. Dagan [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2021. – Vol. 384, N 15. – P. 1412–1423. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2101765

5. Summary of the Public Assessment Report for COVID-19 Vaccine AstraZeneca [Electronic source]. – 2021. – Mode of access: https://www.gov.uk/government/publications/regulatory-approval-of-covid-19-vaccine-astrazeneca/summary-of-the-public-assessment-report-for-astrazeneca-covid-19-vaccine. – Date of access: 19.07.2021.

6. Coronavirus (COVID-19) Vaccinations [Electronic source]. – 2021. – Mode of access: https://ourworldindata.org/covid-vaccinations – Date of access: 19.07.2021.

7. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia / D. Y. Logunov [et al.] // Lancet. – 2021. – Vol. 397, N 10275. – P. 671–681. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00234-8

8. Longitudinal follow-up of IgG anti-nucleocapsid antibodies in SARS-CoV-2 infected patients up to eight months after infection Russia / J. V. Elslande [et al.] // J. Clin. Virol. – 2021. – Vol. 136. – P. 104765. https://doi.org/10.1016/j.jcv.2021.104765

9. Estimated Half-Life of SARS-CoV-2 Anti-Spike Antibodies More Than Double the Half-Life of Anti-nucleocapsid Antibodies in Healthcare Workers / J. V. Elslande [et al.] // Clin. Infect. Dis. – 2021. https://doi.org/10.1093/cid/ciab219

10. Racial and gender-based differences in COVID-19 / J. Kopel [et al.] // Front. Public Health. – 2020. – Vol. 6. – Art. 418. https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00418

11. Antibody responses to the BNT162b2 mRNA vaccine in individuals previously infected with SARS-CoV-2 / J. E. Ebinger [et al.] // Nat. Med. – 2021. – Vol. 27, N 6. – P. 981–984. https://doi.org/10.1038/s41591-021-01325-6

References

1. *Searching for a vaccine against COVID-19* [Electronic resource]. Available at: https://www.who.int/ru/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/covid-19-vaccines (accessed 20.06.2021) (in Russian).

2. Oliver S. E., Gargano J. W., Marin M., Wallace M., Curran K. G., Chamberland M. [et al.]. The Advisory Committee on Immunization Practices' Interim Recommendation for Use of Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine – United States. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2020, vol. 69, no. 50, pp. 1922–1924. https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6950e2

3. Ledford H. Moderna COVID vaccine becomes second to get US authorization. *Nature*, 2020. https://doi.org/10.1038/d41586-020-03593-7

4. Dagan N., Barda N., Kepten E., Miron O. Perchik Sh., Katz M. A. [et al.]. BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine in a Nationwide Mass Vaccination Setting. *New England Journal of Medicine*, 2021, vol. 384, no. 15, pp. 1412–1423. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2101765

5. Summary of the Public Assessment Report for COVID-19 Vaccine AstraZeneca. Available at: https://www.gov.uk/government/publications/regulatory-approval-of-covid-19-vaccine-astrazeneca/summary-of-the-public-assessment-report-for-astrazeneca-covid-19-vaccine (accessed 19.07.2021).

6. Coronavirus (COVID-19) Vaccinations [Electronic source]. Available at: https://ourworldindata.org/covid-vaccinations (accessed 19.07.2021).

7. Logunov D. Y., Dolzhikova I. V., Shcheblyakov D. V., Tukhvatulin A. I., Zubkova O. V., Dzharullaeva A. S. [et al.]. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *Lancet*, 2021, vol. 397, no. 10275 pp. 671–681. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00234-8

8. Elslande J. V., Oyaert M., Ailliet S., Ranst M.V., Lorent N., Weygaerde Y. V., André E., Lagrou K., Vandendriessche S., Vermeersch P. Longitudinal follow-up of IgG anti-nucleocapsid antibodies in SARS-CoV-2 infected patients up to eight months after infection. *Journal of Clinical Virology*, 2021, vol. 136, p. 104765 https://doi.org/10.1016/j.jcv.2021.104765

9. Elslande J. V., Gruwier L., Godderis L., Vermeersch P. Estimated Half-Life of SARS-CoV-2 Anti-Spike Antibodies More Than Double the Half-Life of Anti-nucleocapsid Antibodies in Healthcare Workers. *Clinical Infectious Diseases*, 2021. https://doi.org/10.1093/cid/ciab219

10. Kopel J., Perisetti A., Roghanil A., Aziz M., Gajendran M., Goyal H. Racial and gender-based differences in COVID-19. *Frontiers in Public Health*, 2020, vol. 6, art. 418. https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00418

11. Ebinger J. E., Fert-Bober J., Printsev I., Wu M., Sun N., Prostko J. C. [et al.]. Antibody responses to the BNT162b2 mRNA vaccine in individuals previously infected with SARS-CoV-2. *Nature Medicine*, 2021, vol. 27, no. 6, pp. 981–984. https://doi.org/10.1038/s41591-021-01325-6

Информация об авторах

Амвросьева Тамара Васильевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: amvrosieva@gmail.com

Бельская Инна Валерьевна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com

Богуш Зоя Федоровна – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com

Поклонская Наталья Владимировна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com

Колтунова Юлия Борисовна – мл. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labsanvir@gmail.com

Казинец Ольга Николаевна – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь).

Information about the authors

Tamara V. Amvrosieva – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: amvrosieva@gmail.com

Inna V. Belskaya – Junior Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com

Zoya F. Bohush – Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com

Natallia U. Paklonskaya – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com

Yulia B. Kaltunova – Junior Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labsanvir@gmail.com

Olga N. Kazinetz – Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus).

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616.71-001.5-089.84
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-466-473

Поступила в редакцию 30.05.2021
Received 30.05.2021

А. К. Рушай, В. В. Скиба, Ю. С. Лисайчук, А. А. Мартынчук, М. В. Байда

Национальный медицинский университет им. А. А. Богомольца, Киев, Украина

ПЛАСТИКА ДЕФЕКТОВ КОСТЕЙ ГОЛЕНИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОЛЬЦЕВЫХ ФИКСАТОРОВ СПИЦЕ-СТЕРЖНЕВОГО ТИПА

Аннотация. Сегментарная потеря костной массы большеберцовой кости после переломов является актуальной, но не окончательно решенной проблемой. Основным методом лечения в настоящее время является дистракционный остеогенез по Илизарову. Усовершенствование этой технологии позволит улучшить результаты лечения.

Цель работы – усовершенствование технологии дистракционного остеосинтеза с использованием кольцевых фиксаторов, учитывая возникающие при этом проблемы.

Задачи: выявить недостатки метода дистракционного остеогенеза у больных с сегментарными дефектами костей голени после переломов и предложить их решение; проанализировать результаты.

Критериям включения в исследование соответствовали 78 пострадавших. В основную группу вошли 36 пациентов, прооперированных по предложенной нами методике, в группу сравнения – 42 пациента, лечение которых осуществлялось по общепринятой методике. Для оценки результатов использовали следующие критерии: время нахождения в аппарате внешней фиксации и индекс внешней фиксации, для финальной оценки – анатомо-функциональную шкалу Modified Functional Evaluation System by Karlstrom–Olerud.

Полученные нами результаты (хорошие и отличные – 77,8 %, неудовлетворительные – 2,8 %) сравнимы с данными большинства исследователей. Анатомо-функциональные показатели в основной группе с высокой долей вероятности (>95 %) превосходили аналогичные показатели в группе сравнения.

Имея в виду тяжесть поражения, такой результат следует считать обнадеживающим. Учитывая недостаточное количество наблюдений, предложенные усовершенствования в виде применения кольцевых фиксаторов (КФ) следует рекомендовать в лечении несращений костей голени после переломов и провести дальнейшее исследование эффективности КФ.

Таким образом, несращение большеберцовой кости требует комплексного лечения с использованием остеосинтеза КФ. Спице-стержневые конструкции аппаратов, щадящая техника, оптимальные способы проведения спиц, переход на финальную фиксацию с использованием систем Softcast/Scotchcast, медикаментозная коррекция нарушений регенерации позволили избежать многих осложнений при внеочаговой фиксации и получить хорошие результаты.

Ключевые слова: костные дефекты большеберцовой кости, дистракционный остеогенез, кольцевые фиксаторы

Для цитирования: Пластика дефектов костей голени с использованием кольцевых фиксаторов спице-стержневого типа / А. К. Рушай [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 4. – С. 466–473. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-466-473

Anatoliy K. Rushay, Vladimir V. Skiba, Yury S. Lisaichuk, Alexander A. Martinchuk, Maxim V. Baida

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

PLASTY OF SHIN BONE DEFECTS WITH SEGMENTAL LOSS USING RING FIXATORS OF THE WIRE-ROD TYPE

Abstract. The problem of segmental bone loss of the tibia after fractures is an urgent and not completely resolved problem. The use of distraction osteogenesis by bone transport according to Ilizarov is the leading method of treatment. Improving this technology is a generally accepted way of improving treatment outcomes.

To propose improvements in the technology of distraction osteosynthesis with the use of ring fixators, taking into account the problematic issues of their use; analyze the results obtained.

Tasks: to formulate the disadvantages and problematic issues of distraction osteogenesis in patients with segmental defects of the leg bones after fractures; to propose a solution to the existing disadvantages of the method; analyze the results.

78 victims met the inclusion criteria. 36 patients were operated on according to the proposed method; they made up the core group; 42 – comparison group, treatment was carried out according to the generally accepted method. The time spent in the external fixation apparatus and the index of external fixation were used as criteria for evaluating the results; the final assessment was carried out according to the anatomical and functional scale Modified Functional Evaluation System by Karlstrom–Olerud.

Our results (good and excellent 77.8 %; unsatisfactory in 2.8 % are comparable to those of most researchers. Anatomical and functional results in the main group with a high degree of probability (>95 %) exceeded the results in the comparison group.

Bearing in mind the severity of the defeat, we find this result encouraging. Given the insufficient number of observations, it is necessary to recommend the use of the proposed improvements in the use of RF in the treatment of nonunions of the shin bones after fractures and further study of their effectiveness.

Thus, nonunion of the tibia requires complex treatment using osteosynthesis with ring fixators. Spoke-rod designs of the apparatus, gentle technique, optimal ways of guiding the pins, transition to final fixation using Softcast/Scotchcast systems, drug correction of regeneration disorders made it possible to avoid many complications of extrafocal fixation and obtain good results.

Keywords: bone defects of the tibia, distraction osteogenesis, ring fixators

For citation: Rushay A. K., Skiba V. V., Lisaichuk Yu. S., Martinchuk A. A., Baida M. V. Plasty of shin bone defects with segmental loss using ring fixators of the wire-rod type. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 4, pp. 466–473 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-466-473

Введение. Сегментарная потеря костной массы большеберцовой кости после переломов является актуальной, но не окончательно решенной проблемой. Основными методами лечения сегментарных костных дефектов являются: пластика свободным васкуляризированным трансплантатом малоберцовой кости (FVG), дистракционный остеогенез (DO) и индуцированная мембранная техника (IMT) [1–3].

Проведение FVG требует привлечения бригады микрохирургов, специального оборудования (микроскопы и микрохирургический инструментарий). Перестройка малоберцовой кости (тибиализация) происходит достаточно длительно, при постоянной нагрузке, поэтому для профилактики ее перелома необходимо создать определенные условия (дополнительную иммобилизацию).

Техника IMT, используемая при дефектах до 5 см, включает несколько этапов, требует специального оборудования для получения значительного количества костной пульпы из бедренной кости аспирационно-ирригационным методом. Существуют риски рассасывания костного аутотрансплантата и его деформации. IMT подразумевает длительную иммобилизацию до полной перестройки зоны костного дефекта.

Дистракционная костная пластика в лечении дефектов и несращений длинных костей голени с помощью кольцевых фиксаторов (КФ), получившая распространение по всему миру, широко применяется наряду с аутопластикой васкуляризированной малоберцовой костью и с техникой IMT [4–6].

Каждый из этих методов имеет свои преимущества и недостатки, детерминирующие их использование.

Техника с использованием КФ малотравматична, создает жесткую фиксацию, достаточную для сращения. Метод имеет низкий риск глубокого инфицирования, экономически выгоден и технически выполним в условиях финансовых и технических ограничений.

В случаях дефектов костной ткани осуществление дистракционного замещения с использованием дистракционного остеогенеза по Илизарову (Ilizarov bone transport – BT) является ведущим методом, что обусловлено его преимуществами. Реализуется возможность образования высококачественной, биологически нормальной новой костной ткани достаточно больших размеров. Осуществить дистракционный остеосинтез можно в условиях не только современных специальных центров, но и в травматологических отделениях районных больниц. Возможно повторное использование модулей КФ после обработки и перемонтажа с применением новых расходных материалов – спиц и стержней. Это удешевляет операционное обеспечение, что достаточно важно в условиях ограниченного финансирования. В случаях сегментарных септических дефектов метод является наиболее рациональным и надежным по сравнению с другими видами пластики.

Все эти свойства делают использование КФ конкурентоспособным методом в современных условиях. Однако имеются и недостатки осуществления DO КФ, основными из которых являются следующие:

достаточно часто развиваются контрактуры суставов, что во многом обусловлено прохождением спиц через мышцы и сухожилия вблизи суставов;

в местах проведения спиц нередко наблюдаются явления воспаления, а при длительном применении КФ может развиться нестабильность системы аппарат–кость, обусловленная изменениями в системе внешней фиксации или явлениями остеопороза;

сращение в месте стыковки при дистракционном остеосинтезе происходит не всегда, что требует дополнительных вмешательств; из-за технических ошибок может произойти и неполноценный остеогенез;

после демонтажа КФ возможна деформация регенерированной кости.

Усовершенствование технологии лечения КФ позволит улучшить результаты лечения этой тяжелой патологии [7–9].

Цель работы − усовершенствовать технологию дистракционного остеосинтеза с использованием кольцевых фиксаторов, учитывая возникающие при их использовании недостатки.

Задачи: выявить недостатки использования КФ при осуществлении DO у больных с сегментарными дефектами костей голени после переломов; предложить технические и тактические решения существующих недостатков метода; проанализировать полученные результаты.

Материалы и методы исследования. Все пациенты проходили лечение в период с 2009 по 2019 г. по поводу несращений с сегментарной потерей костной массы, дефект которой составлял около 5 см. Критериями включения пострадавших были возраст от 18 до 60 лет, наличие сегментарных костных дефектов большеберцовой кости после переломов, которые наблюдались в сроки не менее 6 мес. после вмешательства. Из исследования исключались пациенты младше 18 лет, пациенты с системными или любыми скелетными заболеваниями и травмами, влияющими на консолидацию костей; пациенты, наблюдавшиеся менее 6 мес. после демонтажа фиксатора.

Критериям включения соответствовали 36 пациентов (31 (85,7 %) мужчина, 5 (13,9 %) женщин) с несращениями костей голени, которые были прооперированы по предложенной методике (основная группа).

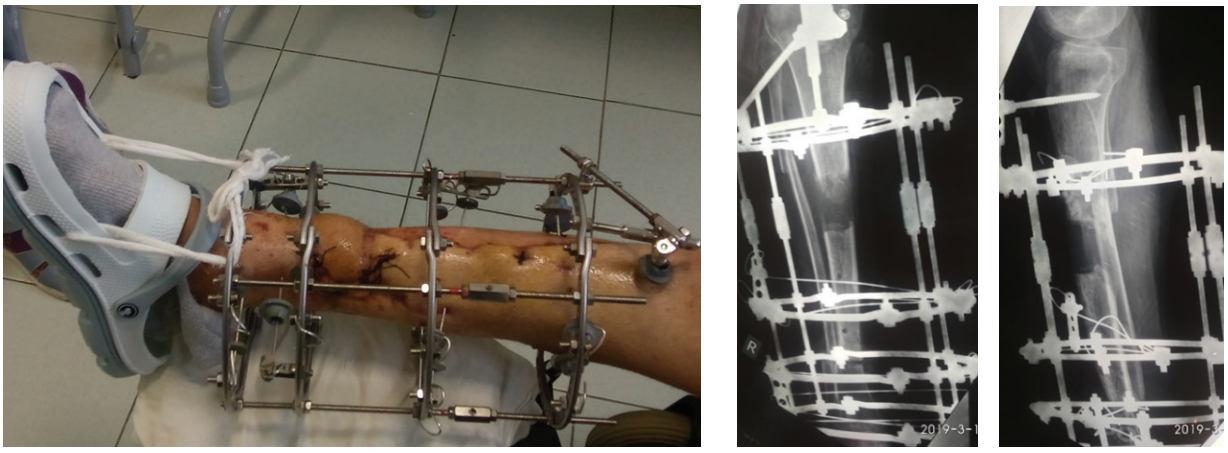
При осмотре были задокументированы: наличие сегментарного дефекта, его размеры, степень сосудисто-нервной недостаточности и состояние мягких тканей. Все пациенты были проинформированы о приблизительной продолжительности лечения и связанных с ним осложнениях до проведения реконструктивной хирургии. Для включения пациентов в исследование было получено их информированное согласие.

Группа сравнения состояла из 42 пострадавших. Критерии отбора соответствовали таковым в основной группе. Отличие состояло в том, что лечение проводилось с использованием традиционных методик дистракционного остеосинтеза. Аппараты были классической Илизаровской компоновки – в кольцах проводилось по паре перекрещенных спиц в горизонтальной плоскости. Перекрест двух спиц вблизи коленного сустава был потенциально опасен развитием контрактур. Спицы имели трехгранную заточку и проводились в режиме 200–300 оборотов в минуту. Остеотомирование большеберцовой кости для получения низводимого транспорта производилось осцилляционной пилой из хирургического доступа до 4–5 см с введением «защитников» – леваторов.

Результаты лечения оценивали по анатомо-функциональной шкале Modified Functional Evaluation System by Karlstrom–Olerud. Количество баллов в пределах шкалы колебалось от 21 до 33 (21–23 – плохие (неудовлетворительные) результаты; 24–26 – умеренное нарушение функции; 27–29 – удовлетворительное нарушение функции, 30 – хороший функциональный статус), тогда как 33 балла указывали на отличный функциональный статус. Проводимый анализ охватывал методы описания функции и статистическую обработку. Для определения статистической достоверности использовали программное обеспечение Office Excel.

Применение предложенного метода обеспечивало малую травматичность, достаточно жесткую динамическую фиксацию при отсутствии в зоне регенерации посторонних фиксаторов. Технология билокального остеосинтеза осуществлялась следующим образом. Сначала вводили стержень в верхнюю треть большеберцовой кости, после чего монтировали заранее подготовленный кольцевой модуль аппарата.

Профилактика развития контрактур суставов проводилась следующим образом. Исключалось проведение перекрещенных спиц в верхней трети голени; КФ представлял собой стержневого типа спицу, которую вводили в дистальный отдел большеберцовой кости. Стабильность фиксации стержня усиливалась монтировкой «треугольника жесткости».



A *B*

Рис. 1. Компоновка спице-стержневого аппарата с «ребром жесткости» на стержне (спицы диаметром 2,0 мм) с перекрестом в двух плоскостях (*A*); рентгенограмма полузакрытой остеотомии, низведение «транспорта», дистракционный регенерат большеберцовой кости (*B*)

Fig. 1. Layout of the spoke-rod apparatus with a "stiffening rib" on the rod (2.0 mm dia needles) with a cross in two planes (*A*); the radiograph of a semi-closed osteotomy, the lowering of the "transport", the distraction regenerate of the tibia (*B*)

Спицы в кольцах проводились в рекомендованных малофункциональных зонах голени. Лечебная физкультура (кинезотерапия) начинала проводиться сразу после наложения аппарата и в течение всего периода фиксации.

Спицы использовали с перьевой заточкой. Количество оборотов электродрели не превышало 200, после 10–15 с сверления делали перерыв. Натяжение спиц в кольцах постоянно контролировали, при необходимости спицы перенатягивали. Места выхода спиц ежедневно перевязывали и обрабатывали растворами антисептиков.

Для достижения стабильности системы использовали спицы Илизарова диаметром 2,0 мм, которые проводили с перекрестом не только во фронтальной, но и в сагиттальной плоскостях; при дистракционном остеосинтезе в низводимом кольцевом фрагменте аппарата, перемещающем остеотомированный фрагмент («транспорт»), связь аппарат–кость усиливалась за счет дополнительной спицы на выносных элементах с целью профилактики запрокидывания фрагмента (рис. 1).

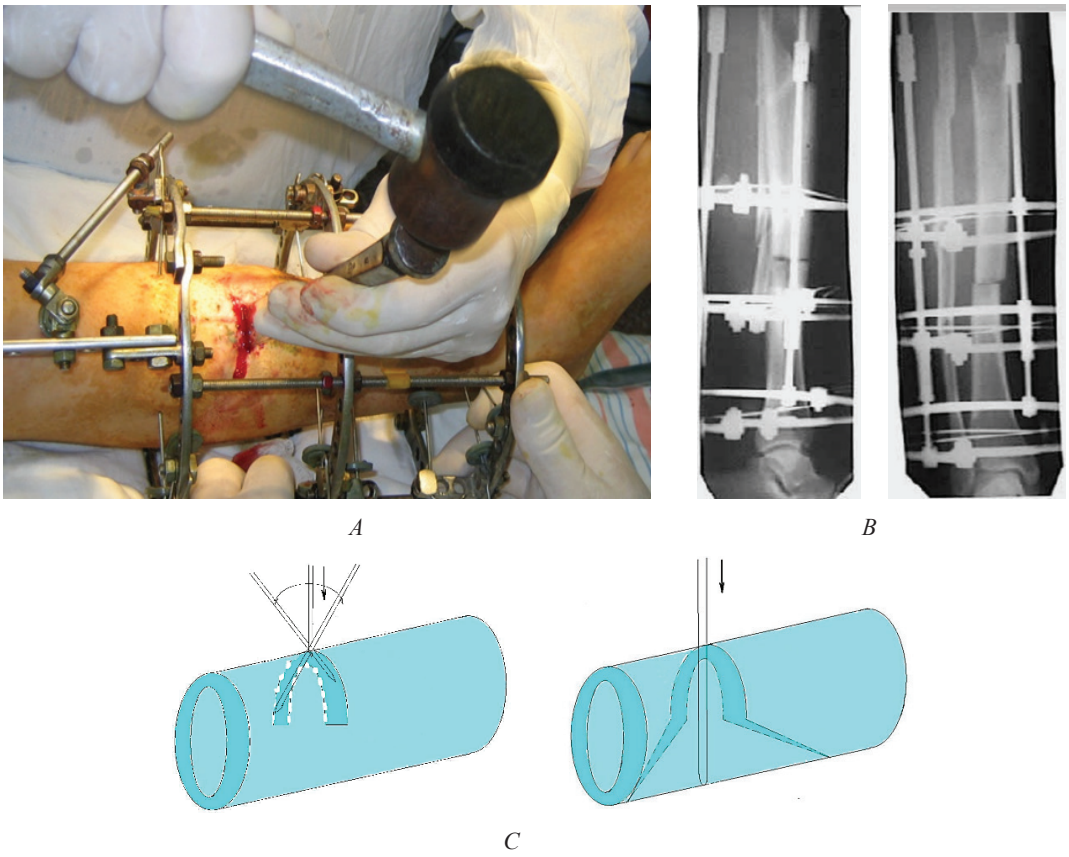
С целью получения полноценного дистракционного регенерата применяли следующие приемы. Производили полузакрытую остеотомию большеберцовой кости, которую осуществляли из продольного разреза мягких тканей длиной до 1 см с последующей остеотомией передней и боковых кортикальных стенок с помощью прямого малого долота; заднюю кортикальную стенку пересекали с использованием леватора. Косое направление пересечения кости, отсутствие скелетирования и большая площадь пересечения (в идеале – оскольчатая остеотомия) обеспечивали сохранение хорошего кровоснабжения и получение полноценного регенерата при дистракции (рис. 2).

Замещение дефекта производилось со скоростью 1 мм в сутки и сопровождалось медикаментозным обеспечением – мультимодальным обезболиванием в периоперационном периоде и эндотелиопротекцией в послеоперационном периоде (введение пентоксифиллина и растворов гидроэтилкрахмалов). Использование низкомолекулярного гепарина бемипарина натрия в профилактической дозе 2500 ЕД и транексамовой кислоты позволяло безопасно, без значительной периоперационной кровопотери провести профилактику микротромбозов. Назначение препаратов Са и витамина Д3 обеспечивало необходимое количество и концентрацию активного Са в виде кальцийтриола в зоне регенерата.

После рентгенологического контроля этапа замещения дефекта большеберцовой кости проводили оперативное вмешательство, целью которого было создание оптимальных условий сращения сопоставленных отломков. Из поперечного разреза с помощью долота и ложки Фолькмана удаляли мягкие ткани, торцы костных отломков насверливали спицей. В зону сопоставления

помещали смесь гидроксиапатита с заранее полученной Platelet-Rich Fibrin PRF-плазмой, гемостатической губкой. Все компоненты, стимулировавшие регенерацию, были надежно фиксированы на необходимое время.

После проведения DO КФ с целью профилактики деформаций регенерата после демонтажа аппарата и полноценной нагрузки голени осуществляли фиксацию индивидуальными полужесткими системами Softcast/Scotchcast, что позволяло до наступления полной перестройки регенерата и стойкой консолидации сопоставленных отломков полностью нагружать конечность при ходьбе (рис. 3).



A *B* *C*

Рис. 2. Внешний вид (*A*), рентгенограммы (*B*) и схема полузакрытой оскольчатой остеотомии (*C*)

Fig. 2. External view (*A*), radiographs (*B*) and the scheme of a semi-closed comminuted osteotomy (*C*)



A *B* *C*

Рис. 3. Наложение полужесткой повязки Softcast/Scotchcastт (*B*) после КФ (*A*). Функция конечности после ее снятия (*C*)

Fig. 3. Applying a semi-rigid bandage Softcast/Scotchcast (*B*) after CF (*A*). The limb function after removal (*C*)

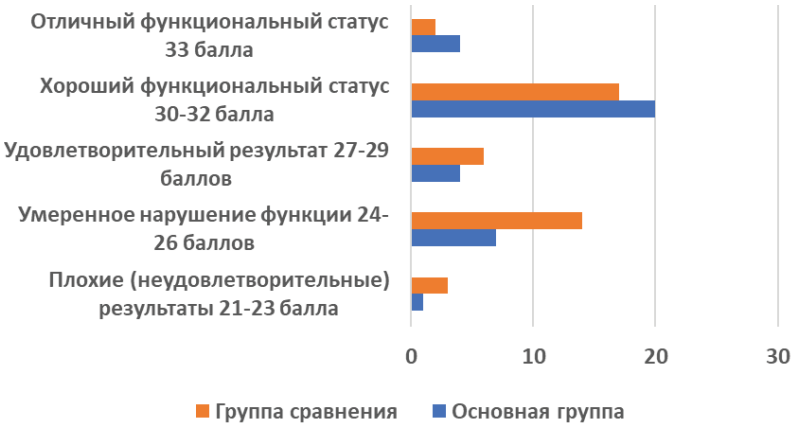


Рис. 4. Сравнение полученных результатов лечения в группах. Критерий Пирсона при анализе массива данных с учетом количества балов составил 0,98, коэффициент корреляции КК – 0,976983738. Величина коэффициента корреляции отражала силы связи. При его определении использовали шкалу Чеддока (0–0,3 – очень слабая сила связи, 0,5–0,7 – средняя, 0,7–0,9 – высокая, 0,9–1 – очень высокая)

Fig. 4. Comparison of the obtained treatment results in the groups. Pearson's criterion in the analysis of the data set, taking into account the number of points, was 0.98; the QC correlation coefficient was 0.976983738. The correlation coefficient value reflected the bond strength. When determining it, the Chaddock scale was used (0–0.3 – very weak bond strength, 0.5–0.7 – medium, 0.7–0.9 – high, 0.9–1 – very high)

В качестве критериев оценки результатов использовалось время нахождения в аппарате внешней фиксации EFT (the time in the external fixator) и индекс внешней фиксации EFI (the external fixation) [10, 11]; финальные критерии оценки включали функциональные и анатомические результаты по оценочной анатомо-функциональной шкале Modified Functional Evaluation System by Karlstrom–Olerud.

Результаты и их обсуждение. Спице-стержневые КФ при несращениях большеберцовой кости применяли с предложенными нами усовершенствованиями: режимы проведения и компоновка спиц под углами в разных плоскостях; вмешательство в зоне сопоставления отломков с использованием пластических элементов (обработка торцевых частей, гидроксиаппатит коллапан, PRP – плазма), ранняя кинезотерапия, финальное использование полужесткой системы внешней фиксации Softcast/Scotchcast. Все это позволило избежать деформации регенерата и создать оптимальные условия для его созревания и сращения отломков.

Среднее время нахождения в КФ в группе сравнения ($n = 21$) составляло 997 ± 19,9 дня, а в основной ($n = 18$) – 911 ± 12,4 дня ($p < 0,05$). Индекс внешней фиксации EFI был получен путем разделения общей продолжительности внешней фиксации КФ на длину регенерата. В основной группе он составил 178,63 ± 11,9 203, в группе сравнения – 47 ± 14,5 ($p < 0,05$).

Получены следующие результаты лечения пострадавших с несращениями костей голени при использовании КФ с предложенными нами режимами использования по оценочной анатомо-функциональной шкале Modified Functional Evaluation System by Karlstrom–Olerud: количество баллов в пределах значений оценочной анатомо-функциональной шкале Modified Functional Evaluation System by Karlstrom–Olerud колебалось от 21 до 33 (21–23 – плохие (неудовлетворительные) результаты; 24–26 – умеренное нарушение функции; 27–29 – удовлетворительное нарушение функции, 30 – хороший функциональный статус), тогда как 33 балла указывали на отличный функциональный статус (рис. 4). Описанные функции подвергали статистической обработке и оценивали в баллах.

По данным различных авторов [12–14], полученные функциональные результаты при лечении несращения большеберцовой кости колеблются в следующих пределах: отличные и хорошие – от 37,6 до 84,7 %; плохие, неудовлетворительные – от 4,3 и 6,7 до 16,67 %. EFT уменьшалось за счет более раннего перехода на фиксацию индивидуальными полужесткими повязками. На этапе финального их применения пострадавшие осуществляли полноценную двигательную нагрузку на травмированную конечность с использованием лишь трости, без риска деформации регенерата и развития воспалительных явлений.

Небольшое количество случаев в большинстве исследований, отсутствие полной однородности между исследованиями, различные сроки оценки (от 6 мес. до 3 лет) – вот некоторые из трудностей, с которыми приходится сталкиваться при оценке доказательств и сравнении эффективности исследований, проведенных разными авторами [4, 14]. Полученные нами результаты (хорошие и отличные – 77,8 %, неудовлетворительные – 2,8 %) сравнимы с данными большинства исследователей. Анатомо-функциональные результаты в основной группе с высокой долей вероятности (>95 %) превосходили результаты в группе сравнения.

Имея в виду тяжесть поражения, такой результат следует считать обнадеживающим. Финальное использование систем Softcast/Scotchcast исключало проведение еще одного вмешательства, что является преимуществом. Учитывая небольшое количество наблюдений, следует рекомендовать предложенные усовершенствования в виде применения КФ в лечении несращений костей голени после переломов и дальнейшее исследование эффективности КФ.

Выводы

1. Несращение большеберцовой кости требует проведения комплексного лечения с использованием остеосинтеза КФ.

2. Спице-стержневые конструкции аппаратов, щадящая техника, оптимальные способы проведения спиц, переход на финальную фиксацию с использованием систем Softcast/Scotchcast, медикаментозная коррекция нарушений регенерации позволила избежать многих осложнений внеочаговой фиксации и получить хорошие результаты.

3. Полученные результаты усовершенствованного остеосинтеза КФ следует считать обнадеживающими, однако данная проблема требует дальнейшего изучения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Birch, J. G. A brief history of limb lengthening / J. G. Birch // J. Pediatr. Orthop. – 2017. – Vol. 37, suppl. 2. – P. S1–S8. https://doi.org/10.1097/BPO.0000000000001021

2. Guerado, E. Challenges of bone tissue engineering in orthopaedic patients / E. Guerado, E. Caso // World J. Orthop. – 2017. – Vol. 8, N 2. – P. 87–98. https://doi.org/10.5312/wjo.v8.i2.87

3. Circular external fixation and cemented PMMA spacers for the treatment of complex tibial fractures and infected nonunions with segmental bone loss / A. H. van Niekerk [et al.]. // J. Orthop. Surg. (Hong Kong). – 2017. – Vol. 25, N 2. – P. 230949901771624. https://doi.org/10.1177/2309499017716242

4. Borzunov, D. Y. Role of the Ilizarov non-free bone plasty in the management of long bone defects and nonunion: problems solved and unsolved / D. Y. Borzunov, S. N. Kolchin, T. A. Malkova // World J. Orthop. – 2020. – Vol. 11, N 6. – P. 304–318 https://doi.org/10.5312/wjo.v11.i6.304

5. Bifocal compression-distraction for combined bone and soft-tissue defects in post-traumatic tibial nonunion / M. F. Thakeb [et al.] // J. Orthop. Trauma. – 2019. – Vol. 33, N 10. – P. 372–377. https://doi.org/10.1097/BOT.0000000000001514

6. Management of post-traumatic long bone defects: a comparative study based on long-term results / G. Wen [et al.] // Trauma. – 2019. – Vol. 50, N 11. – P. 2070–2074. https://doi.org/10.1016/j.injury.2019.07.029

7. Trifocal versus bifocal bone transport in treatment of long segmental tibial bone defects / M. A. Catagni [et al.] // Bone Joint J. – 2019. – Vol. 101-B, N 2. – P. 162–169. https://doi.org/10.1302/0301-620X.101B2.BJJ-2018-0340.R2

8. Ilizarov technique: Bone transport versus bone shortening-lengthening for tibial bone and soft-tissue defects / Y. Wu [et al.] // J. Orthop. Sci. – 2018. – Vol. 23, N 2. – P. 341–345. https://doi.org/10.1016/j.jos.2017.12.002

9. Outcomes of post-traumatic tibial osteomyelitis treated with an Orthofix LRS versus an Ilizarov external fixator / Y. Yilihamu [et al.] // Injury. – 2017. – Vol. 48, N 7. – P. 1636–1643. https://doi.org/10.1016/j.injury.2017.05.002

10. Deformity correction and lengthening of lower legs with an external fixator / H. Matsubara [et al.] // Int. Orthopaedics. – 2006. – Vol. 30, N 6. – P. 550–554. https://doi.org/10.1007/s00264-006-0133-8

11. The results of bone deformity correction using a spider frame with web-based software for lower extremity long bone deformities / A. Ç. Tekin [et al.] // SICOT-J. – 2016. – Vol. 2. – Art. 11. https://doi.org/10.1051/sicotj/2016005

12. Staged procedures after failing ring fixators of lower limb? Series of 15 cases abstract / B. A. Kornah [et al.] // J. Trauma Treat. – 2016. – Vol. 5, N s2. – Art. 337. https://doi.org/10.4172/2167-1222.1000337

13. Al Shahrani, A. A. Effectiveness of Ilizarov frame fixation on functional outcome in aseptic tibial non-union cases at Abha, Kingdom of Saudi Arabia: an experimental study / A. A. Al Shahrani, J. S. Tedla, I. Ahmad // J. Taibah Univ. Med. Sci. – 2015. – Vol. 10, N 2. – P. 216–221. https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2014.09.002

14. Aktuglu, K. Ilizarov bone transport and treatment of critical-sized tibial bone defects: a narrative review / K. Aktuglu, K. Erol, A. Vahabi // J. Orthop. Traumatol. – 2019. – Vol. 20, N 1. – Art. 22. https://doi.org/10.1186/s10195-019-0527-1

References

1. Birch J. G. A brief history of limb lengthening. *Journal of Pediatric Orthopaedics*, 2017, vol. 37, suppl. 2, pp. S1–S8. https://doi.org/10.1097/BPO.0000000000001021

2. Guerado E., Caso E. Challenges of bone tissue engineering in orthopaedic patients. *World Journal of Orthopedics*, 2017, vol. 8, no. 2, pp. 87–98. https://doi.org/10.5312/wjo.v8.i2.87

3. van Niekerk A. H., Birkholtz F. F., de Lange P., Tetsworth K., Hohmann E. Circular external fixation and cemented PMMA spacers for the treatment of complex tibial fractures and infected nonunions with segmental bone loss. *Journal of Orthopaedic Surgery*, 2017, vol. 25, no. 2, p. 230949901771624. https://doi.org/10.1177/2309499017716242

4. Borzunov D. Y., Kolchin S. N., Malkova T. A. Role of the Ilizarov non-free bone plasty in the management of long bone defects and nonunion: problems solved and unsolved. *World Journal of Orthopaedics*, 2020, vol. 11, no. 6, pp. 304–318 https://doi.org/10.5312/wjo.v11.i6.304

5. Thakeb M. F., Fayyad T. A., ElGebeily M. A., Diab R. A., El Zahlawy H., Sharafeldin M. S., Al Kersh M. A. Bifocal compression-distraction for combined bone and soft-tissue defects in post-traumatic tibial nonunion. *Journal of Orthopaedic Trauma*, 2019, vol. 33, no. 10, pp. 372–377. https://doi.org/10.1097/BOT.0000000000001514

6. Wen G., Zhou R., Wang Y., Lu S., Chai Y., Yang H. Management of post-traumatic long bone defects: a comparative study based on long-term results. *Trauma*, 2019, vol. 50, no. 11, pp. 2070–2074. https://doi.org/10.1016/j.injury.2019.07.029

7. Catagni M. A., Azzam W., Guerreschi F., Lovisetti L., Poli P., Khan M. S., Di Giacomo L. M. Trifocal versus bifocal bone transport in treatment of long segmental tibial bone defects. *Bone & Joint Surgery*, 2019, vol. 101-B, no. 2, pp. 162–169. https://doi.org/10.1302/0301-620X.101B2.BJJ-2018-0340.R2

8. Wu Y., Yin Q., Rui Y., Sun Z., Gu S. Ilizarov technique: Bone transport versus bone shortening-lengthening for tibial bone and soft-tissue defects. *Journal of Orthopaedic Science*, 2018, vol. 23, no. 2, pp. 341–345. https://doi.org/10.1016/j.jos.2017.12.002

9. Yilihamu Y., Keremu A., Abulaiti A., Maimaiti X., Ren P., Yusufu A. Outcomes of post-traumatic tibial osteomyelitis treated with an Orthofix LRS versus an Ilizarov external fixator. *Injury*, 2017, vol. 48, no. 7, pp. 1636–1643 https://doi.org/10.1016/j.injury.2017.05.002

10. Matsubara H., Tsuchiya H., Sakurakichi K., Watanabe K., Tomita K. Deformity correction and lengthening of lower legs with an external fixator. *International Orthopaedics*, 2006, vol. 30, no. 6, pp. 550–554. https://doi.org/10.1007/s00264-006-0133-8

11. Tekin A. Ç., Çabuk H., Dedeoğlu S. S., Saygılı M. S., Adaş M., Esenyel C. Z., Büyükkurt C. D., Tonbul M. The results of bone deformity correction using a spider frame with web-based software for lower extremity long bone deformities. *SICOT-J*, 2016, vol. 2, art. 11. https://doi.org/10.1051/sicotj/2016005.

12. Kornah B. A., Safwat H. M., Sultan A. M., Abdel-Aleem M. A. Staged procedures after failing ring fixators of lower limb? Series of 15 cases abstract. *Journal of Trauma and Treatment*, 2016, vol. 5, no. s2, art. 337. https://doi.org/10.4172/2167-1222.1000337

13. Al Shahrani A. A., Tedla J. S., Ahmad I., Effectiveness of Ilizarov frame fixation on functional outcome in aseptic tibial non-union cases at Abha, Kingdom of Saudi Arabia: an experimental study. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 2015, vol. 10, no. 2, pp. 216–221. https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2014.09.002

14. Aktuglu K., Erol K., Vahabi A. Ilizarov bone transport and treatment of critical-sized tibial bone defects: a narrative review. *Journal of Orthopaedics and Traumatology*, 2019, vol. 20, no. 1, art. 22. https://doi.org/10.1186/s10195-019-0527-1

Информация об авторах

Рушай Анатолий Кириллович – д-р мед. наук, профессор. Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца (бульвар Тараса Шевченко, 13, 01601, г. Киев, Украина). E-mail: Anatoliyrushay@gmail.com. https://orcid.org/0000-0002-9530-2321

Скиба Владимир Викторович – д-р мед. наук, профессор. Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца (бульвар Тараса Шевченко, 13, 01601, г. Киев, Украина). E-mail: Anatoliyrushay@gmail.com

Лисайчук Юрий Сергеевич – д-р мед. наук, профессор. Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца (бульвар Тараса Шевченко, 13, 01601, г. Киев, Украина). E-mail: YLisaichuk@gmail.com. https://orcid.org/0000-0002-2231-193X

Мартинчук Александр Александрович – ст. лаборант. Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца (бульвар Тараса Шевченко, 13, 01601, г. Киев, Украина). E-mail: blaze_amber@ukr.net

Байда Максим Владимирович – ст. лаборант. Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца (бульвар Тараса Шевченко, 13, 01601, г. Киев, Украина). E-mail: meredian18@gmail.com.

Information about the authors

Anatoliy K. Rushay – D. Sc. (Med.), Professor. Bogomolets National Medical University (13, Taras Shevchenko blvd., 01601, Kyiv, Ukraine). E-mail: Anatoliyrushay@gmail.com. https://orcid.org/0000-0002-9530-2321

Vladimir V. Skiba – D. Sc. (Med.), Professor. Bogomolets National Medical University (13, Taras Shevchenko blvd., 01601, Kyiv, Ukraine). E-mail: Anatoliyrushay@gmail.com

Yury S. Lisaichuk – D. Sc. (Med.), Professor. Bogomolets National Medical University (13, Taras Shevchenko blvd., 01601, Kyiv, Ukraine). E-mail: YLisaichuk@gmail.com. https://orcid.org/0000-0002-2231-193X

Alexander A. Martinchuk – Senior Assistant. Bogomolets National Medical University (13, Taras Shevchenko blvd., 01601, Kyiv, Ukraine). E-mail: blaze_amber@ukr.net

Maxim V. Baida – Senior Assistant. Bogomolets National Medical University (13, Taras Shevchenko blvd., 01601, Kyiv, Ukraine). E-mail: meredian18@gmail.com

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616.314.5-007.1-007.26-089-036
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-474-482

Поступила в редакцию 28.06.2021
Received 28.06.2021

А. А. Хасболатова[1], Н. В. Панкратова[1], М. А. Постников[2], С. П. Рубникович[3], Т. В. Репина[1], М. А. Колесов[1], Ю. Л. Денисова[3], К. М. Морозова[1]

[1]Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова, Москва, Российская Федерация
[2]Самарский государственный медицинский университет, Самара, Российская Федерация
[3]Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

ПРОГНОЗ ПРОРЕЗЫВАНИЯ ТРЕТЬИХ НИЖНИХ МОЛЯРОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИХ ПОЛОЖЕНИЯ ОТНОСИТЕЛЬНО «СТРЕСС-ОСИ»

Аннотация. В статье рассматривается актуальная на протяжении последних нескольких десятилетий проблема наличия и расположения зачатков третьих моляров и возможности их прорезывания без влияния на зубочелюстную систему. Отечественные и зарубежные специалисты изучают ее с применением различных методик диагностики. В данной статье проведен анализ наиболее доступного и наиболее часто применяемого рентгенологического метода диагностики – ортопантомограммы (ОПТГ).

Целью исследования являлось изучение прогноза прорезывания нижних третьих моляров в зависимости от их положения относительно «стресс-оси».

Проанализировано 84 ОПТГ пациентов в возрасте 12–25 лет. Для расшифровки ОПТГ были применены методика Фищева с соавт. (2012 г.), позволяющая определить положение третьих нижних моляров относительно «стресс-оси», а также модификация методики Demirjian (1973) для определения стадии их формирования. Полученные данные обработаны статистически.

Результаты представлены в виде таблиц, диаграмм, а также корреляционных связей, проведено обсуждение их интерпретации. Полученные данные позволили сделать выводы о достоверном изменении только угла наклона и стадий формирования корней третьих моляров нижней челюсти, отсутствии изменения гониального угла и положения изученных зубов с возрастом. При этом выявлено, что расположение коронковой части третьих моляров ниже «стресс-оси» не ухудшает прогноз их прорезывания.

Ключевые слова: положение нижних третьих моляров, ортопантомограмма челюстей, «стресс-ось», корреляционные связи

Для цитирования: Прогноз прорезывания третьих нижних моляров в зависимости от их положения относительно «стресс-оси» / А. А. Хасболатова [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 4. – С. 474–482. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-474-482

Aziza A. Khasbolatova[1], Natalia V. Pankratova[1], Mikhail A. Postnikov[2], Sergey P. Rubnikovich[3], Tatiana V. Repina[1], Maksim A. Kolesov[1], Yuliya L. Denisova[3], K. M. Morozova[1]

[1]A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation
[2]Samara State Medical University, Samara, Russian Federation
[3]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

PREDICTION OF ERUPTION OF THE LOWER THIRD MOLARS DEPENDING ON THEIR POSITION RELATIVE TO THE “STRESS AXIS”

Abstract. The article discusses the important problem of the presence and location of the primordia of third molars and the possibility of their eruption without affecting the dentition. The problem is relevant and is being studied by domestic and foreign specialists from different angles with the use of various diagnostic techniques. This article is based on the analysis of the most accessible and most frequently used *X*-ray diagnostic method – the panoramic *X*-ray.

The aim was to study the prediction of eruption of the lower third molars depending on their position relative to the “stress axis”.

84 panoramic images of the patients aged 12–25 years were analyzed. To study the OPTG, the method of Fishchev et al. (2012), which determines the position of the lower third molars relative to the “stress axis”, and Demirjian’s modified method (1973), which determines the stage of their formation, were used. The data were processed statistically.

The results are presented in tables and diagrams, as well as in correlations. Their interpretation is discussed. These data allowed us to draw conclusions about a significant change only in the angle of inclination and the stages of formation of the roots of the third molars of the lower jaw, about the absence of changes in the gonial angle and the position of the studied teeth with age. At the same time, it was found that the location of the coronal part of the third molars below the “stress axis” does not worsen the prediction of their eruption.

Keywords: position of the lower third molars, panoramic image of jaws, “stress axis”, correlations

For citation: Khasbolatova A. A., Pankratova N. V., Postnikov M. A., Rubnikovich S. P., Repina T. V., Kolesov M. A., Denisova Yu. L., Morozova K. M. Prediction of eruption of the lower third molars depending on their position relative to the "stress axis". *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 4, pp. 474–482 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-474-482

Введение. Отечественные и зарубежные специалисты на протяжении многих лет изучают вопрос о влиянии третьих моляров на возникновение зубочелюстных аномалий. По данным разных авторов, количество третьих моляров, остающихся в ретенции, колеблется от 9,5 до 50 %. Однако о влиянии аномально расположенных третьих моляров на возникновение зубочелюстных аномалий или их рецидивов после завершения ортодонтического лечения нет единого мнения. Одни авторы предполагают, что эти зубы оказывают значительное влияние на развитие скученности зубов во фронтальном отделе, а другие считают этот фактор несущественным [1–6].

Проблемы, связанные с третьими молярами, привлекают внимание стоматологов во многих странах мира. Так, в Великобритании Национальным конгрессом (1998) был обобщен опыт работы крупнейших клиник страны за 10 лет. Особое внимание было уделено частично или полностью ретенированным третьим молярам. Их удаление признано считать не профилактическим мероприятием, а рассматривать как метод лечения. На конференции National Institutes of Health (1999) обсуждались такие вопросы, как роль третьих моляров в росте и развитии зубочелюстной системы, показания к удалению и наиболее рекомендованный возраст для удаления зачатков этих зубов [7–11].

В то же время особое внимание уделяется вопросам ретенции третьих моляров, методам изучения их положения, даются рекомендации по способам и срокам удаления третьих моляров. Однако нет указаний на причину, обусловленность неправильного, аномалийного положения третьих моляров в ходе их формирования и прорезывания [12–20].

Цель исследования – изучить положение третьих нижних моляров и предложить ориентир для прогноза прорезывания в зависимости от их расположения относительно «стресс-оси».

Материалы и методы исследования. В ходе настоящего исследования нами изучены ортопантомограммы (ОПТГ) челюстей 84 пациентов в возрасте 12–25 лет. На ОПТГ челюстей пациентов изучали стадии формирования корней третьих моляров по аналогии со стадиями формирования корней клыков и вторых премоляров нижней челюсти по методу Demirjian (1973). Всего было выделено пять стадий формирования корней зубов. Для удобства работы с полученными данными буквенное обозначение стадий формирования корней переведено в цифровое выражение – от 1 до 5. Соответственно, стадия D соответствовала 1, а стадия H – 5 (рис. 1).

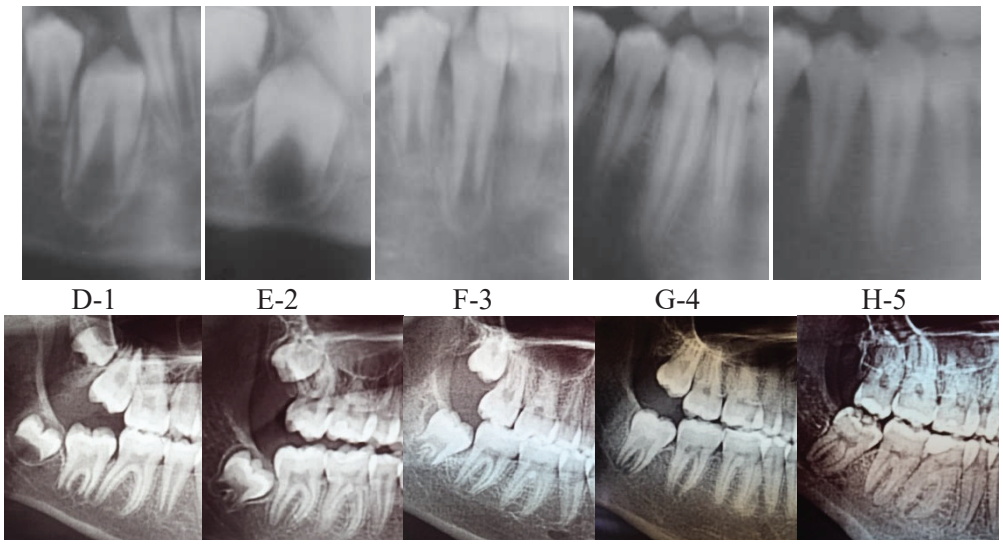


Рис. 1. Определение стадий формирования корней третьих моляров по аналогии со стадиями формирования корней клыков и вторых премоляров нижней челюсти

Fig. 1. Determination of the formation stages of the roots of the third molars by analogy with those of the roots of the canines and the second premolars of the lower jaw

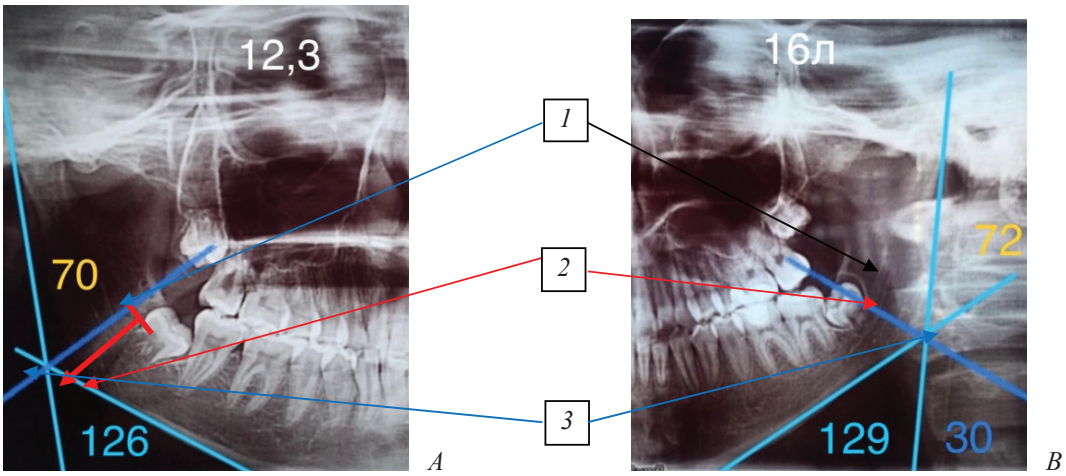


Рис. 2. Схема изучения параметров на ОТПГ челюстей: *1* – положение третьих моляров ниже биссектрисы гониального угла (*A*) и выше (*B*), мм; *2* – угол наклона третьих моляров, град.; *3* – гониальный угол

Fig. 2. Scheme of studying the OTG parameters of the jaws: *1* – position of the third molars below the bisector of the gonial angle (*A*) and above (*B*), mm; *2* – inclination angle of the third molars, degrees; *3* – gonial angle

На ОПТГ угол наклона третьих моляров оценивали по величине внутренних углов (рис. 2), образованных перпендикуляром от линии, соединяющей вершины мезиальных и дистальных бугров третьих моляров, для нижних моляров – к плоскости основания нижней челюсти.

Методику расшифровки ОПТГ челюстей использовали С. Б. Фищев с соавт. [21]. За основную горизонтальную плоскость принимали линию, соединяющую нижние края скатов суставных бугорков (Т). От середины линии Т-Т опускали перпендикуляр и строили срединную вертикальную линию, которая проходила между медиальными резцами верхней и нижней челюсти и через точку Ме на подбородке. Проводили касательные линии с двух сторон по нижнему краю тела нижней челюсти и по наружному краю ветви нижней челюсти. Точку пересечения биссектрисы угла, образованного касательными линиями к углу и телу нижней челюсти с внутренним углом нижней челюсти, обозначали как ретромолярную точку (RM), а саму биссектрису – как «стресс-ось» (рис. 2, *1*). Положение зубов мудрости за пределами ретромолярной точки или «стресс-оси» расценивалось как критическое для нормального прорезывания зубов мудрости.

Статистическая обработка полученных данных. Для статистической обработки полученных данных применяли методы вариационной статистики, математического анализа и корреляционного анализа (по Спирмену) с расчетом коэффициентов ранговой корреляции (R).

При обработке графического материала использовали разные типы линии тренда. Тренд – это направленное движение изменений, линия тренда – прямая линия, соединяющая две самые важные максимальные или минимальные точки этих изменений, линейная линия тренда – это прямая линия, где точки данных расположены близко к прямой.

Результаты и их обсуждение. Изучены значения следующих параметров ОПТГ челюстей: положение третьих моляров ниже биссектрисы, угол наклона третьих моляров, стадия формирования корней третьих моляров, гониальный угол (см. таблицу).

Значения параметров ортопантомограмм челюстей пациентов в возрасте 12–25 лет

Values of the orthopantomograms parameters of the jaws of the patients aged 12–25 years

Возраст, лет	Положение третьих моляров ниже биссектрисы, мм	Угол наклона третьих моляров, град.	Стадия формирования корней третьих моляров	Гониальный угол, град.
12	6,5 ± 0,2	88,3 ± 3,6	1,7 ± 0,4	123,5 ± 5,7
13	6,8 ± 0,4	65,7 ± 2,6	1,86 ± 0,3	124,7 ± 4,9
14	7,7 ± 0,3	47,3 ± 3,3	2,6 ± 0,4	126,2 ± 3,9
15	6,8 ± 0,6	61,4 ± 5,4	1,8 ± 0,3	123,5 ± 3,5
16	7,1 ± 0,2	63,0 ± 5,7	2,4 ± 0,4	124,7 ± 4,4
17	7,4 ± 0,5	58,0 ± 4,6	3,1 ± 0,5	125,1 ± 5,0

Окончание таблицы

Возраст, лет	Положение третьих моляров ниже биссектрисы, мм	Угол наклона третьих моляров, град.	Стадия формирования корней третьих моляров	Гониальный угол, град.
18	6,4 ± 0,4	53,8 ± 5,0	4,1 ± 0,4	130,0 ± 5,7
19	6,8 ± 0,3	50,6 ± 4,6	4,7 ± 0,3	125,6 ± 4,3
20	6,4 ± 0,2	41,0 ± 3,3	5,0 ± 0,2	122,6 ± 2,5
20–25	6,4 ± 0,5	41,0 ± 2,5	5,0 ± 0,6	122,5 ± 3,4
Достоверность отличий с возрастом	$p = 0,18$ $p > 0,05$	**$p = 10,3$** **$p < 0,001$**	**$p = 4,58$** **$p < 0,001$**	$p = 0,15$ $p > 0,05$

Как следует из таблицы, с возрастом достоверны изменения угла наклона третьих моляров и стадий формирования корней третьих моляров ($p < 0,001$). В то же время расстояние коронок третьих моляров до «стресс-оси» колеблется в пределах от 6,4 ± 0,2 до 7,7 ± 0,3 мм и величина его с возрастом достоверно не меняется, а величина гониального угла находится в границах от 122,5 ± 3,4 до 130,0 ± 5,7 град. Отмеченные колебания незначительны и недостоверны ($p > 0,05$).

Изменения изученных параметров ОПТГ челюстей пациентов 12–25 лет представлены в виде графиков и отмечены линейной линией тренда (рис. 3, 4).

С возрастом формирование корней третьих моляров нижней челюсти увеличивается в 2,94 раза ($p < 0,001$), а их угол наклона уменьшается в 2,15 раза ($p < 0,001$). Гониальный угол и положение третьих моляров относительно биссектрисы гониального угла меняются незначительно ($p > 0,05$) (рис. 5).

Для определения взаимовлияния возраста пациентов, положения третьих моляров ниже биссектрисы гониального угла, угла наклона третьих моляров, величины гониального угла, стадий формирования корней третьих моляров проведен корреляционный анализ по возрастным группам (рис. 6–8).

По результатам этого анализа выявлены следующие взаимоотношения изученных параметров. Так, у пациентов в возрасте 12–15 лет определена прямая средней силы связь (R = 0,41) между возрастом и положением третьих моляров ниже биссектрисы гониального угла, имеющая обратную средней силы корреляционную связь с углом наклона моляров (R = –0,36 и R = –0,54) (см. рис. 6). Положение третьих моляров ниже биссектрисы гониального угла имеет слабую обратной силы связь с самим гониальным углом (R = –0,31).

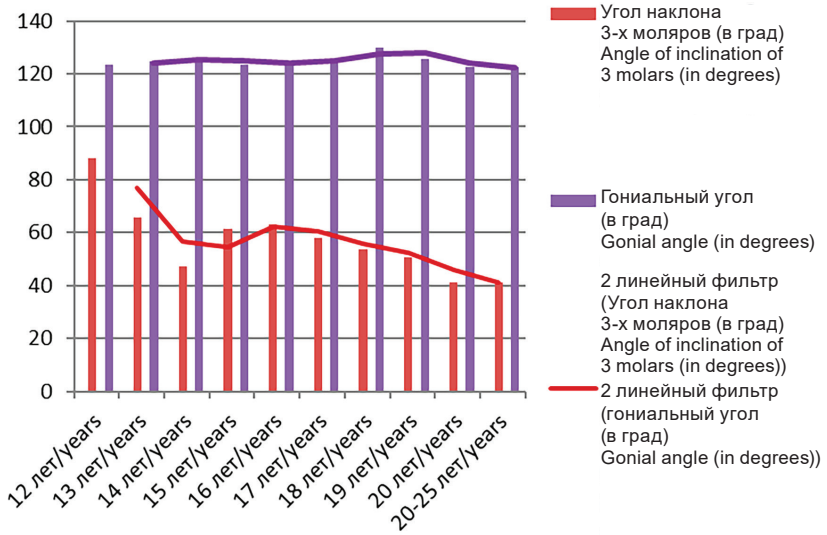


Рис. 3. Изменение углов наклона третьих моляров и гониального угла с возрастом на ортопантомограммах челюстей пациентов 12–25 лет

Fig. 3. Changes in the inclination angles of the third molars and the gonial angle with age on the orthopantomograms of the yaws of the patients aged 12–25 years

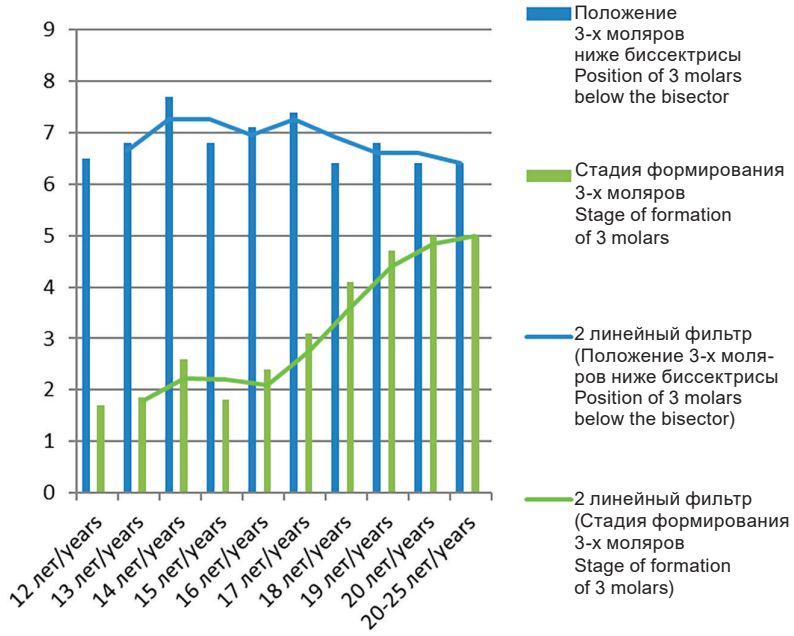


Рис. 4. Изменение расстояния третьих моляров ниже биссектрисы гониального угла и стадий формирования корней моляров с возрастом на ортопантомограммах челюстей пациентов 12–25 лет

Fig. 4. Change in the distance of the third molars below the bisector of the gonial angle and the formation stages of the molar roots with age on the orthopantomograms of the jaws of the patients aged 12–25 years

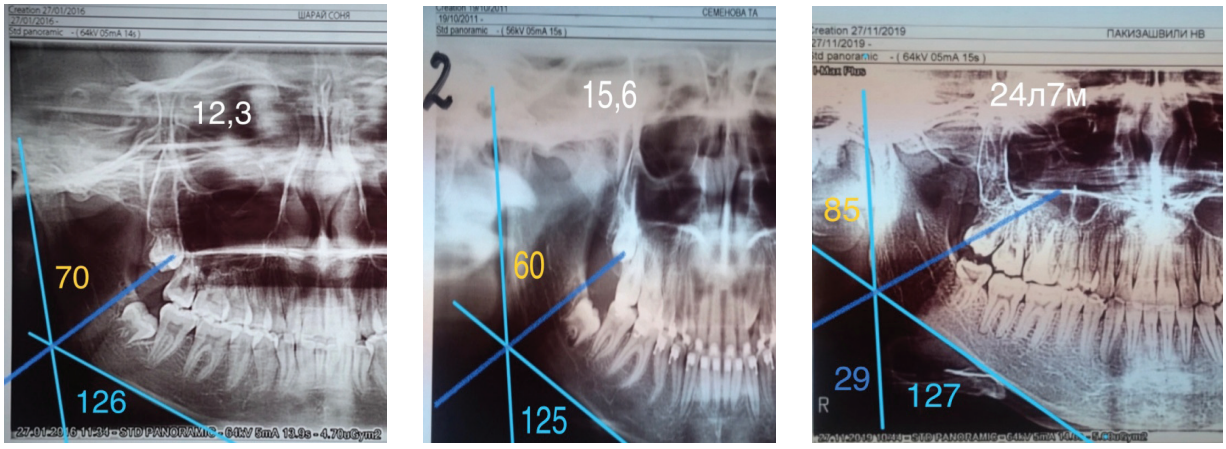


Рис. 5. Схема расчета ОПТГ челюстей пациентов 20–25 лет и иллюстрация изменения положения моляров относительно биссектрисы гониального угла с возрастом

Fig. 5. Scheme of the OPTG of the jaws of the patients aged 20–25 years and the illustration of the change in the position of the molars relative to the bisector of the gonial angle with age

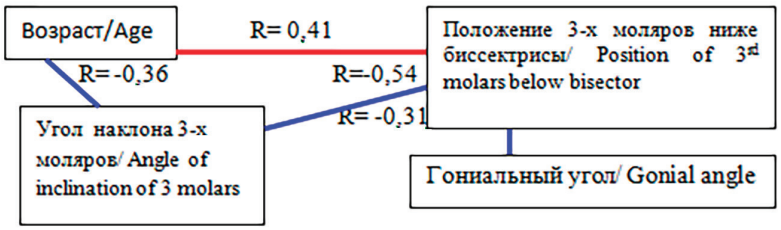


Рис. 6. Корреляционные связи, определенные между возрастом и показателями ортопантомограмм челюстей пациентов 12–15 лет

Fig. 6. Correlation relationships determined between the age and the indicators of the orthopantomograms of the jaws of the patients aged 12–15 years

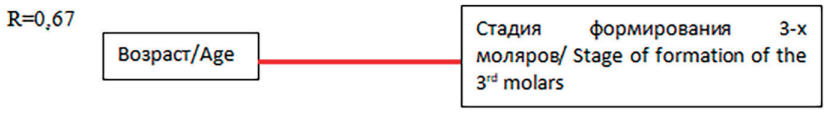


Рис. 7. Корреляционные связи, определенные между возрастом и стадиями формирования третьих моляров на ортопантомограммах челюстей пациентов 15–20 лет

Fig. 7. Correlation relationships determined between the age and the formation stages of the third molars on the orthopantomograms of the jaws of the patients aged 15–20 years

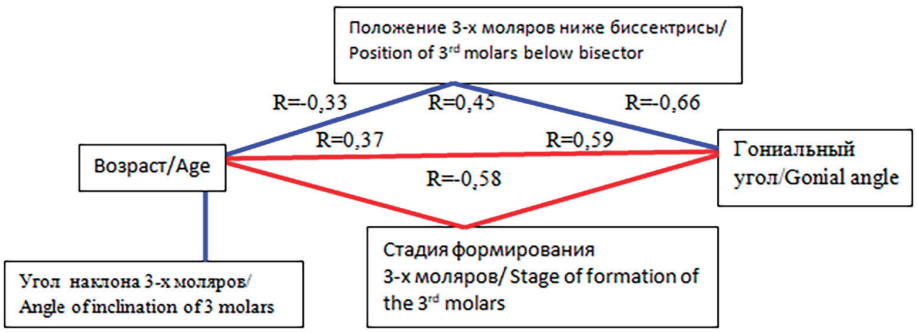


Рис. 8. Корреляционные связи, определенные между возрастом и показателями ортопантомограмм пациентов 20–25 лет

Fig. 8. Correlation relationships determined between the age and the indicators of orthopantomograms of the patients aged 20–25 years

Отмечено, что в возрасте 15–20 лет между изученными параметрами ОПТГ челюстей определена только одна сильная достоверная корреляционная связь (R = 0,67) (рис. 7). Это зависимость стадий формирования корней третьих моляров от возраста пациента.

В то же время больше информации получено при анализе корреляционных связей параметров на ОПТГ челюстей пациентов 20–25 лет. Так, возраст пациента влияет (обратные корреляционные связи, R = –0,33) на положение третьих моляров относительно биссектрисы гониального угла, а величина угла наклона третьих моляров коррелирует (положительные корреляционные связи, R = –0,58) с величиной гониального угла (R = 0,45) и стадиями формирования корней моляров (R = 0,37). В то же время величина гониального угла имеет прямую сильную связь со стадиями формирования корней моляров (R = 0,59) и обратную связь (R = –0,66) с положением третьих моляров относительно биссектрисы гониального угла (R = –0,66) (рис. 8).

Изучено в динамике влияние параметров на ОПТГ челюстей пациентов от 12 до 25 лет, в том числе положения третьих моляров относительно биссектрисы гониального угла, угла наклона третьих моляров, величины гониального угла, стадий формирования корней третьих моляров. Установлены достоверные изменения с возрастом только угла наклона третьих моляров и стадий формирования корней третьих моляров.

С возрастом формирование корней третьих моляров нижней челюсти увеличивается в 2,94 раза ($p < 0,001$), а их угол наклона уменьшается в 2,15 раза ($p < 0,001$). Гониальный угол и положение третьих моляров относительно биссектрисы гониального угла меняются незначительно ($p > 0,05$). Этот факт свидетельствует о том, что положение третьих моляров относительно биссектрисы гониального угла не меняется в течение исследованного возрастного периода.

Взаимовлияние изученных параметров ОПТГ челюстей пациентов 12–25 лет в разные возрастные периоды не одинаково. Следует обратить внимание на количество достоверных корреляционных связей между изученными параметрами ОТПГ челюстей: в возрасте 12–15 лет – 4 связи (из 10), в возрасте 15–20 лет – 1, в возрасте 20–25 лет – 6 связей.

Выводы

1. С возрастом достоверны изменения только угла наклона нижних третьих моляров и стадий формирования корней третьих моляров, определенных на ортопантомограммах челюстей пациентов трех возрастных групп от 12 до 25 лет.

2. Гониальный угол и положение третьих моляров относительно биссектрисы гониального угла не меняется в течение исследованного возрастного периода.

3. При расположении коронковой части нижних третьих моляров ниже биссектрисы гониального угла («стресс-оси») прогноз прорезывания нижних третьих моляров благоприятный.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Особенности расположения третьих моляров на нижней челюсти при физиологической окклюзии постоянных зубов / Д. С. Дмитриенко [и др.] // Ин-т стоматологии. – 2011. – № 4 (53). – С. 50–51.

2. Карпов, А. Н. Ортодонтия : учеб. пособие / А. Н. Карпов, М. А. Постников, Г. В. Степанов. – Самара : Право, 2020. – 319 с.

3. Ортодонтия. Национальное руководство : в 2 т. / под ред. Л. С. Персина. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2020. – Т. 2: Лечение зубочелюстных аномалий. – 376 с.

4. Клинико-рентгенологические методы диагностики в стоматологии : учеб. пособие / М. А. Постников [и др.] ; ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. – Самара : Право, 2021. – 141 с.

5. Слабковская, А. Б. Определение позиции моляров по данным ортопантомографии / А. Б. Слабковская, Е. Б. Гришина, О. А. Чупрова // Ортодент-Инфо. – 2001. – № 2. – С. 37.

6. Regenerative cell technologies for gingival recession treatment / S. P. Rubnikovich [et al.] // Modern Technol. Med. – 2018. – Vol. 10, N 4. – P. 94–104. https://doi.org/10.17691/stm2018.10.4.11

7. Аникиенко, А. А. Аппаратурное ортодонтическое лечение и его подчинение физиологическим законам раздражения / А. А. Аникиенко, Н. В. Панкратова, Л. С. Персин. – М. : МИА, 2010. – 112 с.

8. Положение третьих моляров у пациентов от 7 до 25 лет со скученностью группы передних зубов / Н. В. Панкратова [и др.] // Ортодонтия. – 2016. – № 4. – С. 8–13.

9. Определение стадии роста и развития организма / Н. В. Панкратова [и др.]. – Самара : ОФОРТ, 2016. – 38 с.

10. Rubnikovich, S. P. Morphological changes in bone tissue around dental implants after low-intensity ultrasound applications / S. P. Rubnikovich, I. S. Khomich, Yu. L. Denisova // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 20–27.

11. The effect of magnetophototherapy on morphological changes of tissues of pathologically changed periodontium / S. P. Rubnikovich [et al.] // Med. News North Caucasus. – 2017. – Vol. 12, N 3. – P. 303–307. https://doi.org/10.14300/mnnc.2017.12095

12. Rubnikovich, S. P. Digital laser speckle technologies in measuring blood flow in biotissues and the stressed-strained state of the maxillodental system / S. P. Rubnikovich, Yu. L. Denisova, N. A. Fomin // J. Eng. Phys. Thermophys. – 2017. – Vol. 90, N 6. – P. 1513–1523. https://doi.org/10.1007/s10891-017-1713-8

13. Laser speckle technology in stomatology. Diagnostics of stresses and strains of hard biotissues and orthodontic and orthopedic structures / Yu. L. Denisova [et al.] // J. Eng. Phys. Thermophys. – 2013. – Vol. 86, N 4. – P. 940–951. https://doi.org/10.1007/s10891-013-0915-y

14. Bazylev, N. B. Investigation of the stressed-strained state of cermet dentures using digital laser speckle-photographic analysis / N. B. Bazylev, S. P. Rubnikovich // J. Eng. Phys. Thermophys. – 2009. – Vol. 82, N 4. – P. 789–793. https://doi.org/10.1007/s10891-009-0247-0

15. Laser monitor for soft and hard biotissue analysis using dynamic speckle photography / N. Fomin [et al.] // J. Laser Phys. – 2003. – Vol. 13, N 5. – P. 786–795.

16. Demirjian, A. A new system of dentalage assessment / A. Demirjian, H. Goldstein, J. M. Tanner // Hum. Biol. – 1973. – Vol. 45, N 2. – P. 211–227.

17. Interrelationships among measures of somatic, skeletal, dental and sexual maturity / A. Demirjian [et al.] // Am. J. Orthod. – 1985. – Vol. 88, N 5. – P. 433–438. https://doi.org/10.1016/0002-9416(85)90070-3

18. Hassel, B. Skeletal maturation evaluation using cervical vertebrae / B. Hassel, A. G. Farman // Am. J. Orthod. Dent. Orthop. – 1995. – Vol. 107, N 1. – P. 58–66. https://doi.org/10.1016/s0889-5406(95)70157-5

19. Lamparski, D. Skeletal age assessment utilizing cervical vertebrae [Thesis] / D. Lamparski. – Pittsburgh : University of Pittsburgh, 1972. – 164 p.

20. Automated analysis of *X*-ray images of the temporomandibular joint in patients with orthognathic bite and physiological occlusion / M. A. Postnikov [et al.] // J. Radiol. Nucl. Med. – 2019. – Vol. 100, N 1. – P. 6–14. https://doi.org/10.20862/0042-4676-2019-100-1-6-14

21. Расположение третьих моляров на нижней челюсти при физиологической окклюзии постоянных зубов [Электронный ресурс] / С. Б. Фищев [и др.]. – Режим доступа: http://www.rusnauka.com/9_NND_2012/Medecine/7_105725.doc.htm. – Дата доступа: 10.10.2021.

References

1. Dmitrienko D. S., Fishchev S. B., Sevast'yanov A. V., Fomenko I. V., Egorova A. V., Berdin V. V., Rtishcheva S. S. Peculiarity disposition of third permanent molars on mandibula from normal occlusion permanent. *Institut stomatologii* [Institute of dentistry], 2011, no. 4 (53), pp. 50–51 (in Russian).

2. Karpov A. N., Postnikov M. A., Stepanov G. V. *Orthodontics: study guide*. Samara, Pravo Publ., 2020. 319 p. (in Russian).

3. Persin L. S. (ed.). *Orthodontics. National leadership. Vol. 2. Treatment of dentoalveolar anomalies*. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2020. 376 p. (in Russian).

4. Postnikov M. A., Trunin D. A., Pankratova N. V., Slesarev O. V. *Clinical and radiological diagnostic methods in dentistry: a tutorial*. Samara, Pravo Publ., 2021. 141 p. (in Russian).

5. Slabkovskaya A. B., Grishina E. B., Chuprova O. A. Determination of the position of molars according to orthopantomography data. *Ortodent-Info* [Ortodent-Info], 2001, no. 2, p. 37 (in Russian).

6. Rubnikovich S. P., Denisova Y. L., Vladimirskaya T. E., Andreyeva V. A., Kvacheva Z. B., Panasenkova G. Y., Volotovsky I. D. Regenerative cell technologies for gingival recession treatment. *Modern Technologies in Medicine*, 2018, vol. 10, no. 4, pp. 94–104. https://doi.org/10.17691/stm2018.10.4.11

7. Anikienko A. A., Pankratova N. V., Persin L. S. *Apparatus orthodontic treatment and its subordination to the physiological laws of irritation*. Moscow, MIA Publ., 2010. 112 p. (in Russian).

8. Pankratova N. V., Repina T. V., Rodionova Yu. V., Morozova K. M., Kalimatova L. M., Mkrtchyan A. A. The position of third molars in patients 7 to 25 years with a bunched position of the front teeth. *Ortodontiya* [Orthodontics], 2016, no. 4 (76), pp. 8–13 (in Russian).

9. Pankratova N. V., Petrov A. A., Persin L. S., Kolesov M. A., Repina T. V. *Determination of the stage of growth and development of the organism*. Samara, OFORT Publ., 2016. 38 p. (in Russian).

10. Rubnikovich S. P., Khomich I. S. Denisova Yu. L. Morphological changes in bone tissue around dental implants after low-intensity ultrasound applications. *Vestsi Natsyyanalnai akademii navuk Belarusi. Seryya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2020, vol. 17, no. 1, pp. 20–27.

11. Rubnikovich S. P., Maizet A. I., Denisova Yu. L., Bykova N., Arutyunov A., Kopylova I. A., Avanesyan R. A. The effect of magnetophototherapy on morphological changes of tissues of pathologically changed periodontium. *Medical news of the North Caucasus*, 2017, vol. 12, no. 3, pp. 303–307. https://doi.org/10.14300/mnnc.2017.12095

12. Rubnikovich S. P., Denisova Yu. L., Fomin N. A. Digital laser speckle technologies in measuring blood flow in biotissues and the stressed-strained state of the maxillodental system. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 2017, vol. 90, no. 6, pp. 1513–1523. https://doi.org/10.1007/s10891-017-1713-8

13. Denisova Yu. L., Bazylev N. B., Rubnikovich S. P., Fomin N. A. Laser speckle technology in stomatology. Diagnostics of stresses and strains of hard biotissues and orthodontic and orthopedic structures. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 2013, vol. 86, no. 4, pp. 940–951. https://doi.org/10.1007/s10891-013-0915-y

14. Bazylev N. B., Rubnikovich S. P. Investigation of the stressed-strained state of cermet dentures using digital laser speckle-photographic analysis. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 2009, vol. 82, no. 4, pp. 789–793. https://doi.org/10.1007/s10891-009-0247-0

15. Fomin N., Fuentes C., Hirano T., Rubnikovich S., Bazylev N., Lavinskaya E. [et al.]. Laser monitor for soft and hard biotissue analysis using dynamic speckle photography. *Journal of Laser Physics*, 2003, vol. 13, no. 5, pp. 786–795.

16. Demirjian A., Goldstein H., Tanner J. M. A new system of dentalage assessment. *Human Biology*, 1973, vol. 45, no. 2, pp. 211–227.

17. Demirjian A., Buschang R., Tanguay R., Patterson K. Interrelationships among measures of somatic, skeletal, dental and sexual maturity. *American Journal of Orthodontics*, 1985, vol. 88, no. 5, pp. 433–438. https://doi.org/10.1016/0002-9416(85)90070-3

18. Hassel B., Farman A. G. Skeletal maturation evaluation using cervical vertebrae. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 1995, vol. 107, no. 1, pp. 58–66. https://doi.org/10.1016/s0889-5406(95)70157-5

19. Lamparski D. *Skeletal age assessment utilizing cervical vertebrae*. Pittsburgh, University of Pittsburgh, 1972. 164 p.

20. Postnikov M. A., Slesarev O. V., Trunin D. A., Andriyanov D. A., Ispanova S. N. Automated analysis of *X*-ray images of the temporomandibular joint in patients with orthognathic bite and physiological occlusion. *Journal of Radiology and Nuclear Medicine*, 2019, vol. 100, no. 1, pp. 6–14. https://doi.org/10.20862/0042-4676-2019-100-1-6-14 (in Russian).

21. Fischev S. B., Lepilin A. V., Egorova A. V., Sevastyanov A. V., Berdin V. V., Rtischeva S. S., Dmitrienko D. S. *The location of the third molars in the lower jaw with physiological occlusion of permanent teeth.* Available at: http://www.rusnauka.com/9_NND_2012/Medecine/7_105725.doc.htm (accessed 10.10.2021).

Информация об авторах

Хасболатова Азиза Асевовна – аспирант, врач-ортодонт. Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова (ул. Делегатская, 20/1, 127473, г. Москва, Российская Федерация). E-mail: pankratova.orto@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-0747-2436

Панкратова Наталья Владимировна – канд. мед. наук, доцент. Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова (ул. Делегатская, 20/1, 127473, г. Москва, Российская Федерация). E-mail: pankratova.orto@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-0672-1381

Information about the authors

Aziza A. Khasbolatova – Postgraduate student, orthodontist. A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry (20/1, Delegatskaya Str., 127473, Moscow, Russian Federation). E-mail: pankratova.orto@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-0747-2436

Natalya V. Pankratova – Ph. D. (Med.), Associate Professor. A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry (20/1, Delegatskaya Str., 127473, Moscow, Russian Federation). E-mail: pankratova.orto@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-0672-1381

Mikhail A. Postnikov – D. Sc. (Med.), Associate Professor. Samara State Medical University (89, Chapaevskaya Str.,

Постников Михаил Александрович – д-р мед. наук, доцент. *Самарский государственный медицинский университет* (ул. Чапаевская, 89, 443099, г. Самара, Российская Федерация). E-mail: postnikovortho@yandex.ru. https://orcid.org/0000-0002-2232-8870

Рубникович Сергей Петрович – д-р мед. наук, профессор, ректор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: rubnikovich@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-7450-3757

Репина Татьяна Вячеславовна – канд. мед. наук, ассистент. Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова (ул. Делегатская, 20/1, 127473, г. Москва, Российская Федерация). https://orcid.org/0000-0002-4779-9126

Колесов Максим Андреевич – канд. мед. наук, ассистент. Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова (ул. Делегатская, 20/1, 127473, г. Москва, Российская Федерация). E-mail: voselok2004@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-2412-6383

Денисова Юлия Леонидовна – д-р мед. наук, профессор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: denisova-yul@mail.ru. https://orcid.org/0000-0003-0917-7972

Морозова Ксения Михайловна – врач-ортодонт. Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова (ул. Делегатская, 20/1, 127473, г. Москва, Российская Федерация). E-mail: morozochk@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-9074-6038

Sergey P. Rubnikovich – D. Sc. (Med.), Professor, Rector. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: rubnikovichs@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-7450-3757

Tatyana V. Repina – Ph. D. (Med.), Assistant. A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry (20/1, Delegatskaya Str., 127473, Moscow, Russian Federation). https://orcid.org/0000-0002-4779-9126

Maxim A. Kolesov – Ph. D. (Med.), Assistant. A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry (20/1, Delegatskaya Str., 127473, Moscow, Russian Federation). E-mail: voselok2004@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-2412-6383

Yuliya L. Denisova – D. Sc. (Med.), Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: denisova-yul@mail.ru. https://orcid.org/0000-0003-0917-7972

Ksenia M. Morozova – orthodontist. A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry (20/1, Delegatskaya Str., 127473, Moscow, Russian Federation). E-mail: morozochk@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-9074-6038

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
UDC 616.089-008.441.44-037-078.088.7
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-483-490 Received 25.06.2021

Siarhey V. Davidouski[1], Zhanna A. Ibragimova[2], Andrei S. Babenka[2], Maryna M. Skuhareuskaya[3], Sviatlana A. Kastsiuk[1], Svetlana I. Marchuk[2], Yanna S. Davidouskaya[2], Yuriy M. Mikitski[4]

[1]Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus
[2]Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus
[3]Republican Scientific and Practical Center for Mental Health, Minsk, Republic of Belarus
[4]Republican unitary production enterprise "ACADEMPHARM", Minsk, Republic of Belarus

EXPERIENCE OF USING THE MOLECULAR GENETIC STUDIES TO ASSESS THE RISK OF SUICIDE

Abstract. In the recent decades, there has been widespread the opinion that genetic markers of the suicidal behavior (suicide, suicidal attempts, suicidal thoughts) can be used to predict the suicidal behavior.

The purpose of the study was to determine the possibility of using the method of molecular genetic research to assess the risk of suicide in men of 18–27 years.

The study used the case-control method. The control group included 100 men of 18–27 years who never had mental disorders. The suicide group included the persons who committed highly traumatic methods of self-harm and were motivated to commit suicide (30 persons). DNA isolation was performed using a NucleoSpin Blood kit (Macherey–Nagel, Germany) according to the manufacturer's protocol. Each DNA sample was analyzed for polymorphism by allelic discrimination using the real-time polymerase chain reaction (PCR).

The frequencies of occurrence of genotypes and alleles of the following genes were analyzed*: HTR1A*, rs6295 (G/C); *BDNF*, rs6265 (G/A); *COMT*, rs4680 (G/A); *SKA2*, rs7208505 (C/T); *SLC6A4* (*5HTT*), rs25531 (T/C); *5HTR2A*, rs6313 (G/A); *TPH2*, rs4570625 (G/T); *TPH1*, rs1800532 (G/T).

A statistically significant difference was found for the frequency of occurrence of genotypes and alleles of the rs25531 polymorphism of the *SLC6A4* (*5HTT*) gene. The chance of being in the suicide group with a heterozygous genotype (T/C) carriage was 2.346 times higher.

The significance of the rs25531 polymorphism of the *SLC6A4* (*5HTT*) gene for the formation of the suicidal behavior was confirmed.

Keywords: molecular genetic research, suicide, genotype, polymorphism, alleles

For citation: Davidouski S. V., Ibragimova Zh. A., Babenka A. S., Skuhareuskaya M. M., Kastsiuk S. A., Marchuk S. I., Davidouskya Ya. S., Mikitski Yu. M. Experience of using the molecular genetic studies to assess the risk of suicide. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 4, pp. 483–490 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-483-490

С. У. Давідоўскі[1], Ж. А. Ібрагімава[2], А. С. Бабенка[2], М. М. Скугарэўская[3], С. А. Касцюк[1], С. І. Марчук[2], Я. С. Давідоўская[2], Ю. М. Мікіцкі[4]

[1]Беларуская медыцынская акадэмія паслядыпломнай адукацыі, Мінск, Рэспубліка Беларусь
[2]Беларускі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт, Мінск, Рэспубліка Беларусь
[3]Рэспубліканскі навукова-практычны цэнтр псіхічнага здароўя, Мінск, Рэспубліка Беларусь
[4]Рэспубліканскае ўнітарнае вытворчае прадпрыемства "АКАДЭМФАРМ", Мінск, Рэспубліка Беларусь

ВОПЫТ ВЫКАРЫСТАННЯ МАЛЕКУЛЯРНА-ГЕНЕТЫЧНЫХ ДАСЛЕДАВАННЯЎ ДЛЯ АЦЭНКІ РЫЗЫКІ САМАГУБСТВА

Анатацыя. У апошнія дзесяцігоддзі шырока распаўсюдзілася меркаванне, што генетычныя маркеры суіцыдальных паводзін (суіцыд, суіцыдальныя спробы, суіцыдальныя думкі) можна выкарыстоўваць для ацэнкі рызыкі самагубства.

Мэта даследавання – ацаніць магчымасць выкарыстання метаду малекулярна-генетычнага даследавання для ацэнкі рызыкі самагубства.

У даследаванні выкарыстоўваўся метад кантролю за выпадкамі. У кантрольную групу ўваходзілі 100 чалавек 18–27 гадоў, якія ніколі не мелі псіхічных разладаў, у групу самагубцаў – 30 чалавек, якія здзейснілі траўматычныя метады самапашкоджання з выражаным намерам здейсніць самагубства. Вылучэнне ДНК праводзілася з выкарыстаннем набору NucleoSpin Blood (Macherey-Nagel, Нямеччына) у адпаведнасці з пратаколам вытворцы. Кожны ўзор ДНК аналізавалі на паліморфізм шляхам алельнай дыскрымінацыі з выкарыстаннем ланцуговай рэакцыі палімеразы ў рэжыме рэальнага часу. Былі прааналізаваны частоты ўзнікнення генатыпаў і алеляў наступных генаў: *HTR1A*, rs6295 (G/C); *BDNF*, rs6265 (G/A); *COMT*, rs4680 (G/A); *SKA2*, rs7208505 (C/T); *SLC6A4* (*5HTT*), rs25531 (T/C); *5HTR2A*, rs6313 (G/A); *TPH2*, rs4570625 (G/T); *TPH1*, rs1800532 (G/T).

Выяўлена статыстычна значная розніца ў частаце ўзнікнення генатыпаў і алеляў палімарфізму rs25531 гена *SLC6A4* (*5HTT*). Шанцы апынуцца ў групе самагубцаў гетэразіготнага генатыпу (T/C) былі ў 2,346 разы вышэй.

Пацверджана значэнне полімарфізму rs25531 гена *SLC6A4* (*5HTT*) для фарміравання суіцыдальных паводзін.

Ключавыя словы: малекулярна-генетычнае даследаванне, самагубства, генатып, полімарфізм, аллелі

Для цытавання: Вопыт выкарыстання малекулярна-генетычных даследаванняў для ацэнкі рызыкі самагубства / С. У. Давідоўскі [і інш.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 4. – С. 483–490. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-483-490

Introduction. Genetic studies of suicidal behavior are usually classified according to the severity of the intention to die, the method of committing suicide, its violent or non-violent type, mortality and personality components (impulsivity, aggressiveness) [1]. During this study, genetic factors associated with pronounced motivation to commit suicide were determined.

All procedures performed in the study involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research ethics committee and with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments or comparable ethical standards. Informed consent was obtained from all individual participants involved in the study.

Materials and research methods. The study used the case-control method. The control group included 100 young men (18–27 years old), whose mental disorders were excluded. The control group included 30 people who committed highly traumatic methods of self-harm, motivated to commit suicide.

DNA was isolated using a NucleoSpin Blood kit (Macherey–Nagel, Germany) according to the protocol. Specific polymorphic sites of 9 genes were used as molecular targets. Information on target genes and polymorphic sites is presented in Tab. 1.

T a b l e 1. **Molecular targets and polymorphic sites selected for research**

No.	Target gene	Specific polymorphic site
1	*HTR1A*	rs6295 (G/C)
2	*BDNF*	rs6265 (G/A)
3	*COMT*	rs4680 (G/A)
4	*SKA2*	rs7208505 (C/T)
5	*5HTT* (*SLC6A4*)	rs25531 (T/C)
6	*5HTR2A*	rs6313 (G/A)
7	*TPH2*	rs4570625 (G/T)
8	*TPH1*	rs1800532 (G/T)
9	*5HTT* (*SLC6A4*)	rs4795541 (A/G)

Genotyping was performed using the allelic discrimination method based on real-time PCR data. The CFX 96 connect and CFX 96 Touch instruments (Bio-Rad, USA) were used for real-time PCR. Primary analysis of PCR data was performed using the software supplied with the instruments (Bio-Rad CFX Maestro 1.1, v. 4.1.2433.1219).

Primers and probes design was performed using the online services: Primer3 v. 0.4.0 (https://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/); OligoAnalyser (https://www.idtdna.com/calc/analyzer); Mfold web server (http://www.unafold.org/mfold/applications/dna-folding-form.php); NCBI database, the Homo sapiens assembly GRCh38.p13 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Homo+sapiens). The sequences were visualized using the free software Ugene v.1.31 (http://ugene.net/ru/). The sequences of primers and probes are presented in Tab. 2.

T a b l e 2. **Sequences of primers and probes**

Names of primers and probes in the current research	Sequence 5′–3′	5′-end modification	3′-end modification
6265_F	TTGACATCATTGGCTGACAC		
6265_R	CGAACTTTCTGGTCCTCATC		
6265_W	TCGAA[LNA-C]A[LNA-C]GTGATAGAAGA	FAM	BHQ1
6265_M	T[LNA-C][LNA-G]AA[LNA-C]ACATGATAGAAGA	ROX	BHQ2
4680_F	CATCACCATCGAGATCAACC		
4680_R	TTTTTCCAGGTCTGACAACG		

End of Tab. 2

Names of primers and probes in the current research	Sequence 5′–3′	5′-end modification	3′-end modification
4680_W	CGCTGGCGTGAAGGACA	FAM	BHQ1
4680_M	TCGCTGGCATGAAGGACAA	ROX	BHQ2
6295_F	GAATGGGAAGGTGAACAGT		
6295_R	CGAGAACGGAGGTAGCTT		
6295_W	CGAGTGTGT[LNA-C]TTCGTTTTTAAA	FAM	BHQ1
6295_M	CGAGTG TGT[LNA-C]TTCCTTTTTAAA	ROX	BHQ2
7208505-F	CTGGGATGTGATGATGATTG		
7208505-R	TCCCTAACTGAAAGCAAAAC		
7208505-W	G[LNA-G]GATTGAAAAAACGGTAGTAT	FAM	BHQ1
7208505-M	G[LNA-G]G[LNA-A]TTGAAAAAATGGTAGTAT	ROX	BHQ2
25531_F	GGAGATCCTGGGAGAGGTG		
25531_R	CTCCTGCATCCCCCATTAT		
25531_t	GCAGGGGGGATGCTGGG	FAM	BHQ1
25531_c	GCAGGGGGGATGCCGG	HEX	BHQ1
6313_F	GTAAGGAGAGACACGACGGT		
6313_R	TGATGACACCAGGCTCTACAG		
6313_g	GTTAGCTTCTCCGGAGTTAAAGTC	FAM	BHQ1
6313_a	GTTAGCTTCTCC(LNA+A)GAGTTAAAGTC	HEX	BHQ1
4570625_F	GGCATCACAGGATTAAGAAGAAGC		
4570625_R	ACTCATTGACCAACTCCATTTTATGT		
4570625_g	TGCATGCACAAAATTAGAATATGTCAAGT	FAM	BHQ1
4570625_t	TGCATGCACAAAATTA(LNA+T)AATATGTCAAGT	HEX	BHQ1
1800532_F	TTTCCCCCACTGGAATACAA		
1800532_R	TTCCATGCTCTATATGTGTTAGCC		
1800532_g	CTCAGAATAGCAGCTAGCACCTAATAGG	FAM	BHQ1
1800532_t	CTCAGAATAGCAGCTA(LNA+T)CACCTAATAGG	HEX	BHQ1
4795541_F	GGGATGCTGGAAGGGCTG		
4795541_R	CTTCACCCCTCGCGGC		
4795541_a	GTGCAGGGG(LNA+A)GATGCTGG	FAM	BHQ1
4795541_g	GTGCAGGGGGGATGCTGG	HEX	BHQ1

Real-time PCR was performed using reagents produced by Primetech (Belarus). The final volume of the reaction mixture was 25 μL and contained all the necessary reagents at the following concentrations: 0.1 mM dNTP mixture, 2 mM $MgCl_2$ solution, 500 nM oligonucleotide primers, 250 nM fluorescently labeled probes, 1.25 units of thermostable Taq DNA polymerase with the appropriate buffer solution from the kit provided by the enzyme manufacturer. Thermal cycling: 95 °C – 3 minutes, then 45 cycles 95 °C – 10 seconds, 60 °C – 59 seconds.

The obtained results were processed by variational methods of mathematical statistics using the Microsoft Office 7.0 application package, the Statistic for Windows software package.

Research results. In genetic studies of serotonin biosynthesis, the main attention is paid to tryptophan hydroxylase (hereinafter *TPH*). *TPH* is an enzyme that is involved exclusively in the process of serotonin biosynthesis [2]. To date, two *TPH* isoforms have been identified, *TPH1* and *TPH2*, which have different tissue organization. The *TPH1* isoform is synthesized mainly in the walls of the duodenum, as well as in the liver, heart, lungs, kidneys and adrenal glands. Among the most intensively studied polymorphic markers of the *TPH1* gene, A218C and A779C are distinguished (both are localized within intron 7 and are in complete linkage disequilibrium). D. Nielsen et al. [3] report an association between these polymorphisms, the concentration of 5-hydroxyindoloacetic acid (hereinafter referred to as 5-OIAA) in CSF and suicidal attempts in violent offenders with alcohol dependence. J. Mann et al. [4] studied the possible association of the 218A allele with suicidal behavior in depression. They found that the A218C polymorphism was associated with impulsive aggression and anger traits that may predispose to suicide. However, the differences found are relatively small and statistically significant only for large samples.

In our study analysis of genotypes and alleles of the rs1800532 polymorphism of the *TPH1* gene revealed a slight increase in mutant type homozygotes (T/T) in the control group compared to suicide group, but this difference was statistically insignificant (Tab. 3).

T a b l e 3. **Frequency of occurrence of genotypes and alleles of rs1800532 polymorphism of *TPH1* gene**

Genotypes/alleles	Control group	Suicide group	χ^2	*p*	Odds ratios	OR (95 % CI)
G/G	50 (50)	17 (57)	1.126	0.570	0.765	0.336–1.739
G/T	32 (32)	10 (33)			0.941	0.395–2.241
T/T	18 (18)	3 (10)			1.976	0.540–7.230
G	132 (66)	44 (73.3)	0.135	0.287		
T	68 (68)	16 (26.7)				

The second isoform, *TPH2*, is characteristic exclusively for brain neurons. The *TPH2* gene is localized in the 12q21.1 region and consists of 12 exons and 11 introns. *TPH2* is expressed exclusively in the brain and plays an important role in the synthesis of serotonin in the brain. Z. Zhou et al. [5] performed an analysis of 10 single nucleotide polymorphisms (hereinafter referred to as SNPs) and analysis of the *TPH2* gene haplotypes, which showed a statistically significant association of this gene with completed suicide in a sample of persons of German descent. When comparing the frequencies of the genotypes and alleles of the rs4570625 polymorphism of the *TPH2* gene during our study, no statistically significant difference was observed in the control group and the suicide group (Tab. 4).

T a b l e 4. **Frequency of occurrence of genotypes and alleles of rs4570625 polymorphism of *TPH2* gene**

Genotypes/alleles	Control group	Suicide group	χ^2	*p*	Odds ratios	OR (95 % CI)
G/G	75 (75)	22 (73)	0.128	0.939	1.091	0.432–2.757
G/T	20 (20)	6 (20)			1.00	0.361–2.773
T/T	5 (5)	2 (7)			0.632	0.115–3.457
G	170 (85)	50 (83.3)	0.098	0.754		
T	30 (15)	10 (16.7)				

The *BDNF* gene encodes a protein of the same name, which is a neurotrophic factor in the brain. This protein is involved in the growth, maturation (differentiation) and maintenance of neurons. Currently about 30 pathogenic polymorphisms of the *BDNF* gene are known. Most of them are located in non-coding intron regions. The most common functional mutation of this gene is the missense variant rs6265 (p.196G-A, p.V66M). The 196G-A mutation in the *BDNF* gene shows connection to effects on general cognitive abilities, eating disorders, bipolar disorder, anxiety disorder, Alzheimer's and Parkinson's disease [4, 6]. The data for determining the frequency of occurrence of genotypes and alleles of the rs6265 polymorphism of the *BDNF* gene are presented in Tab. 5.

T a b l e 5. **Frequency of occurrence of genotypes and alleles of the rs6265 polymorphism of the *BDNF* gene**

Genotypes/alleles	Control group	Suicide group	χ^2	*p*	Odds ratios	OR (95 % CI)
G/G	76 (76)	20 (66.7)	2.177	0.337	1.583	0.652–3.844
G/A	18 (18)	9 (30)			0.512	0.202–1.302
A/A	6 (6)	1 (3.3)			1.851	0.214–16.01
G	170 (85)	49 (81.7)	0.386	0.535		
A	30 (15)	11 (18.3)				

The frequency of occurrence of the homozygous mutant genotype A/A is almost 2 times higher in the control group than in suicide group (difference are not statistically significant), however the frequencies of the alleles in both groups are approximately the same.

The *COMT* gene encodes catechol-O-methyltransferase (*COMT*), an enzyme involved in the breakdown of catecholamines, including dopamine, which is one of the most important neurotransmitters in the brain. *COMT* gene polymorphisms can disrupt the work of the dopaminergic system of the brain, especially in the prefrontal cortex, which leads to cognitive dysfunction and is considered one of the rea-

sons for the development of schizophrenia, bipolar disorder, and obsessive-compulsive disorder [7]. The data for determining the frequency of occurrence of genotypes and alleles of the rs4680 polymorphism of the *COMT* gene are presented in Tab. 6.

T a b l e 6. **Frequency of occurrence of genotypes and alleles polymorphism rs4680 of the *COMT* gene**

Genotypes/alleles	Control group	Suicide group	χ^2	*p*	Odds ratios	OR (95 % CI)
G/G	19 (19)	7 (23.3)	0.866	0.649	0.771	0.289–2.059
G/A	53 (53)	13 (43.3)			1.475	0.648–3.355
A/A	28 (28)	10 (33.3)			0.778	0.324–1.867
G	91 (45.5)	27 (45)	0.005	0.946		
A	109 (54,5)	33 (55)				

There were no significant differences in the frequency of occurrence of genotypes and alleles in both groups.

The *SKA2* gene is active in the prefrontal cortex where it reduces the brain's response to cortisol (a stress hormone), thus neutralizing the effects of negative emotions. Currently the *SKA2* gene is considered as one of the biological markers of suicidal behavior [8]. The data for determining the frequency of occurrence of genotypes and alleles of the rs7208505 polymorphism of the *SKA2* gene are presented in Tab. 7.

T a b l e 7. **Frequency of occurrence of genotypes and alleles of the rs7208505 polymorphism of the SKA 2 gene**

Genotypes/alleles	Control group	Suicide group	χ^2	*p*	Odds ratios	OR (95% CI)
C/C	16 (16)	6 (20)	0.393	0.822	0.762	0.269–2.160
C/T	49 (49)	15 (50)			0.961	0.425–2.173
T/T	35 (35)	9 (30)			1.256	0.520–3.036
C	81 (40.5)	27 (45)	0.385	0.536		
T	119 (59,5)	33 (55)				

There were no significant differences in the frequency of occurrence of genotypes and alleles between the control groups and suicide groups.

The *HTR1A* gene is located on the chromosomal region 5q11.2-q13. It was shown that the functional polymorphism –1019G/C (rs6295) in the promoter region controls the transcriptional activity of the gene and is associated with suicidal behavior and unipolar depression [9, 10]. Data on determining the frequency of genotypes and alleles of the rs6295 polymorphism of the *HTR1A* gene are presented in Tab. 8.

T a b l e 8. **Frequency of occurrence of genotypes and alleles of rs6295 polymorphism of the *HTR1A* gene**

Genotypes/alleles	Control group	Suicide group	χ^2	*p*	Odds ratios	OR (95 % CI)
G/G	26 (26)	4 (13.3)	2.131	0.345	2.284	0.728–7.167
G/C	24 (24)	9 (30)			0.737	0.298–1.823
C/C	50 (50)	17 (56.7)			0.765	0.336–1.739
G	76 (38)	17 (28)	1.877	0.171		
C	124 (62)	43 (72)				

As shown in Tab. 8, the frequency of occurrence of the G/G genotype in the control group was 2 times higher than in the suiside group (difference are not statistically significant). When comparing the frequency of occurrence of the G/G genotype in both groups, an odds ratio was 2.284 (the chance of committing suicide with the G/G genotype in the rs6295 polymorphism is 2 times higher than in individuals with a different genotype).

The *5HTR2A* gene encodes the serotonin receptor type 2A. The mammalian *5-HT2A* receptor is one of the subtypes of 5-HT2 receptors, a subfamily of serotonin receptors. It is a metabotropic G-protein coupled receptor. The receptor of this subtype (*5-HT2A*) is the main excitatory receptor subtype among all G-protein-coupled receptor subtypes for serotonin (5-HT). However receptors of the *5-HT2A* subtype can on the contrary exert an inhibitory effect in some areas of the brain such as the optic cortex and the

orbitofrontal cortex. Receptor activation triggers intracellular processes that affect the activity of other mediator systems – glutamate, dopamine, and GABA. The data for determining the frequency of occurrence of genotypes and alleles of the rs6313 polymorphism of the *5HTR2A* gene are presented in Tab. 9.

T a b l e 9. **Frequency of occurrence of genotypes and alleles of rs6313 polymorphism of the *5HTR2A* gene**

Genotypes/alleles	Control group	Suicide group	χ^2	*p*	Odds ratios	OR (95 % CI)
G/G	47 (47)	13 (43)	0.682	0.711	1.116	0.510–2.638
G/A	39 (39)	14 (47)			0.731	0.321–1.663
A/A	14 (14)	3 (10)			1.465	0.391–5.483
G	133 (66.5)	40 (66.7)	0.001	0.981		
A	67 (33.5)	20 (33.3)				

When comparing the frequencies of occurrence of genotypes and alleles in the control group and suicide group, no significant difference was observed.

The *SLC6A4* gene, abbreviated as SERT (Serotonin Transporter) or 5-HTT (5-HydroxyTriptamine Transporter), encodes an intracellular protein, a serotonin transporter or sodium-dependent serotonin transporter. The serotonin transporter belongs to the monoamine transporter family. Its physiological function is the reuptake and transport of serotonin from the synaptic cleft back to the presynaptic terminal that secreted it for reuse. This protein is a target of psychomotor stimulants such as amphetamines and cocaine and is a member of the sodium neurotransmitter symporter family. It has been shown that repeat length polymorphism in the promoter of this gene affects the rate of serotonin uptake. There are conflicting results in the literature on the possible effect that this polymorphism may have on behavior and depression [11, 12]. The data on determining the frequency of occurrence of genotypes and alleles of the rs25531 polymorphism of the *SLC6A4* (*5HTT*) gene are presented in Tab. 10.

T a b l e 10. **Frequency of occurrence of genotypes and alleles of rs25531 polymorphism of the *SLC6A4* (*5HTT*) gene**

Genotypes/alleles	Control group	Suicide group	χ^2	*p*	Odds ratios	OR (95 % CI)
T/T	37 (37)	18 (60)	5.298	0.071	0.392	0.170–0.903
T/C	61 (61)	12 (40)			2.346	1.019–5.4
C/C	2 (2)	0 (0)			–	–
T	135 (67.5)	48 (80)	3.46	0.063		
C	65 (32.5)	12 (20)				

When comparing the frequencies of occurrence of genotypes and alleles in the control group and suicide group, significant differences were noted. In the control group, the percentage of occurrence of the wild type genotype (T/T) is less than in the control group, and the frequency of occurrence of heterozygotes is higher respectively. The numerical value of OR (odds ratio) equal to 2.346 (confidence interval 95 % CI = 1.019–5.4) indicates that the chance of being in the suicide group with the carriage of a heterozygous genotype (T/C) is 2 times higher. That is, the risk factor is the heterozygous genotype (T/C).

We also studied the frequency of occurrence of genotypes and alleles of another polymorphism – rs4795541 of the *SLC6A4* (*5HTT*) gene (Tab. 11).

T a b l e 11. **Frequency of occurrence of genotypes and alleles of rs4795541 polymorphism of the *SLC6A4* (*5HTT*) gene**

Genotypes/alleles	Control group	Suicide group	χ^2	*p*	Odds ratios	OR (95 % CI)
A/A	5 (5)	2 (7)	0.997	0.608	0.737	0.136–4.006
A/G	66 (66)	22 (73)			0.706	0.284–1.752
G/G	29 (29)	6 (20)			1.634	0.605–4.412
A	76 (38)	26 (43.3)	0.551	0.459		
G	124 (62)	34 (56.7)				

No differences in the frequencies of all 3 genotypes and 2 alleles were found.

Discussion. As a result of the study, the frequencies of occurrence of genotypes and alleles of the following genes were analyzed: *HTR1A*, rs6295 (G/C); *BDNF*, (rs6265 (G/A); *COMT*, rs4680 (G/A); *SKA2*,

rs7208505 (C/T); *5HTT* (*SLC6A4*), rs25531 (T/C); *5HTR2A*, rs6313 (G/A); *TPH2*, rs4570625 (G/T); *TPH1*, rs1800532 (G/T). Statistically significant differences in the frequencies of genotypes and alleles of the rs25531 polymorphism of the *SLC6A4* (*5HTT*) gene were found. In the control group, the percentage of the occurrence of the wild-type genotype (T/T) was less than in the suicide group, and the frequency of occurrence of heterozygotes was correspondingly higher. The numerical value of OR (odds ratio) equal to 2.346 (confidence interval 95 % CI) = 1.019–5.4) suggests that the likelihood of falling into the suicide group in the presence of heterozygous genotype (T/C) is 2.346 times higher. Thus, it was found that the frequency of occurrence of the heterozygous genotype (T/C) corresponds to the frequency of occurrence of this genotype in the group of persons prone to true suicide, which is consistent with the data of previous studies [1, 13]. The significance of the allele polymorphisms of the genes: *HTR1A*, rs6295 (G/C); *BDNF*, (rs6265 (G/A); *COMT*, rs4680 (G/A); *SKA2*, rs7208505 (C/T); *5HTT* (*SLC6A4*), rs25531 (T/C); *5HTR2A*, rs6313 (G/A); *TPH2*, rs4570625 (G/T); *TPH1*, rs1800532 (G/T), which are regarded as possible genetic factors of suicidal behavior however it has not been confirmed. This emphasizes the complexity of this problem, despite a long period (more than 10 years) of research, has not yet found its solution.

Conclusion. This study has confirmed the possibility of using molecular genetic studies to identify individuals prone to suicidal behavior.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

References

1. Tikhodeev O. N. Genetic control of predisposition. *Ekologicheskaya genetika* [Ecological genetics], 2007, vol. 5, no. 4, pp. 22–43 (in Russian).

2. Mockus S. M., Vrana K. E. Advances in the molecular characterization of tryptophan hydroxylase. *Journal of Molecular Neuroscience*, 1998, vol. 10, no. 3, pp. 163–179. https://doi.org/10.1007/BF02761772

3. Nielsen D. A. Suicidality and 5-hydroxyindoleacetic acid concentration associated with a tryptophan hydroxylase polymorphism. *Archives of General Psychiatry*, 1994, vol. 51, no. 1, pp. 34–38. https://doi.org/10.1001/archpsyc.1994.03950010034005

4. Mann J. J., Brent D. A., Arango V. The neurobiology and genetics of suicide and attempted suicide: a focus on the serotonergic system. *Neuropsychopharmacology*, 2001, vol. 24, pp. 467–477. https://doi.org/10.1016/S0893-133X(00)

5. Zhou Z., Roy A., Lipsky R., Kuchipudi K., Zhu G., Taubman J., Enoch M.-A., Virkkunen M., Goldman D. Haplotype-based linkage of tryptophan hydroxylase 2 to suicide attempt, major depression, and cerebrospinal fluid 5-hydroxyindoleacetic acid in 4 populations. *Archives of General Psychiatry*, 2005, vol. 62, no. 10, pp. 1109–1118. https://doi.org/10.1001/archpsyc.62.10.1109

6. Li D., He L. Further clarification of the contribution of the tryptophan hydroxylase gene to suicidal behavior using systematic allelic and genotypic meta-analyses. *Human Genetics*, 2006, vol. 119, no. 3, pp. 233–240. https://doi.org/10.1007/s00439-005-0113-x

7. Lemonde S., Turecki G., Bakish D., Du L., Hrdina P. D., Bown C. D. [et al.]. Impaired repression at a 5-hydroxytryptamine 1A receptor gene polymorphism associated with major depression and suicide. *Journal of Neuroscience*, 2003, vol. 23, no. 25, pp. 8788–8799. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-25-08788.2003

8. Brunner D., Buhot M. C., Hen R., Hofer M. Anxiety, motor activation, and maternal-infant interactions in 5HT1B knockout mice. *Behavioral Neuroscience*, 1999, vol. 113, no. 3, pp. 587–601. https://doi.org/10.1037/0735-7044.113.3.587

9. Saudou F., Amara D. A., Dierich A., LeMeur M., Ramboz S., Segu L., Buhot M., Hen R. Enhanced aggressive behavior in mice lacking 5-HT1B receptor. *Science*, 1994, vol. 265, pp. 1875–1878.

10. Lappalainen J., Long J. C., Eggert M., Ozaki N., Robin R. W., Brown G. L., Naukkarinen H., Virkkunen M., Linnoila M., Goldman D. Linkage of antisocial alcoholism to the serotonin 5-HT1B receptor gene in 2 populations. *Archives of General Psychiatry*, 1998, vol. 55, no. 11, pp. 989–994. https://doi.org/10.1001/archpsyc.55.11.989

11. Turecki G., Brière R., Dewar K., Antonetti T., Lesage A. D., Séguin M. [et al.]. Prediction of level of serotonin 2A receptor binding by serotonin receptor 2A genetic variation in postmortem brain samples from subjects who did or did not commit suicide. *American Journal of Psychiatry*, 1999, vol. 156, pp. 1456–1458.

12. Zubenko G. S., Maher B. S., Hughes H. B., Zubenko W. N., Stiffler J. S., Marazita M. L. Genome-wide linkage survey for genetic loci that affect the risk of suicide attempts in families with recurrent, early-onset, major depression. *American Journal of Medical Genetics*, 2004, vol. 129, no. 1, pp. 47–54. https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30092

13. Medeiros de A. V., Bezerra D. G., de Andrade T. G., de Melo Neto V., Nardi A. Genetic polymorphisms might predict suicide attempts in mental disorder patients: a systematic review and meta-analysis. *CNS and Neurological Disorders – Drug Targets*, 2015, vol. 14, no. 7, pp. 820–827. https://doi.org/10.2174/1871527314666150713104610461

Information about the authors

Siarhey V. Davidouski – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: davidouski@yandex.ru

Zhanna A. Ibragimova – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lbmibgmu@mail.ru

Andrei S. Babenka – Ph. D. (Chem.), Associate Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lbmibgmu@mail.ru

Maryna M. Skuhareuskaya – D. Sc. (Med.), Associate Professor, Head of the Department. Republican Scientific and Practical Center for Mental Health (220053, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: marims@tut.by

Sviatlana A. Kastsiuk – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: s.kostuk@mail.ru

Svetlana I. Marchuk – Senior Researcher. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus), E-mail: lbmibgmu@mail.ru

Yanna S. Davidouskaya – Researcher. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yana davidouskaia@gmail.com

Yuriy M. Mikitski – Director. Republican unitary production enterprise "Academpharm" (5/3, Akademik V. F. Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mikitski@mail.ru

Інфармацыя пра аўтараў

Сяргей Уладзіміравіч Давідоўскі – канд. мед. навук, дацэнт. Беларуская медыцынская акадэмія паслядыпломнай адукацыі (вул. П. Броўкі, 3/3, 220013, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: davidouski@yandex.ru

Жанна Аркадзьеўна Ібрагімава – канд. біял. навук, загадчык лабараторыі. Беларускі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт (пр. Дзяржынскага, 83, 220116, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: lbmibgmu@mail.ru

Андрэй Сяргеевіч Бабенка – канд. хім. навук, дацэнт. Беларускі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт (пр. Дзяржынскага, 83, 220116, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: labmdbt@gmail.com

М. М. Скугарэўская – д-р. мед. навук, дацэнт, загадчык аддзялення. Рэспубліканскі навукова-практычны цэнтр псіхічнага здароўя (Даўгінаўскі тракт, 152, 220053, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: marims@tut.by

Святлана Андрэеўна Касцюк – д-р мед. навук, прафесар, загадчык лабараторыі. Беларуская медыцынская акадэмія паслядыпломнай адукацыі (вул. П. Броўкі, 3/3, 220013, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: s.kostuk@mail.ru

Святлана Іванаўна Марчук – ст. навук. супрацоўнік. Беларускі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт (пр. Дзяржынскага, 83, 220116, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: lbmibgmu@mail.ru

Яна Сяргееўна Давідоўская – навук. супрацоўнік. Беларускі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт (пр. Дзяржынскага, 83, 220116, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: yana davidouskaia@gmail.com

Юрый Мечыслававіч Мікіцкі – дырэктар. Рэспубліканскае ўнітарнае вытворчае прадпрыемства "Акадэмфарм" НАН Беларусі (вул. Акадэміка В. Ф. Купрэвіча, 5/3, 220141, г. Мінск, Рэспубліка Беларусь). E-mail: mikitski@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 617-089
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-491-496

Поступила в редакцию 06.03.2021
Received 06.03.2021

С. Д. Федянин[1], В. А. Косинец[1], Б. М. Хрусталев[2], В. Т. Минченя[2], Ю. Г. Алексеев[3], В. С. Нисс[4], А. С. Яцко[5]

[1]Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, Витебск, Республика Беларусь
[2]Белорусский национальный технический университет, Минск, Республика Беларусь
[3]Научно-технологический парк Белорусского национального технического университета «Политехник», Минск, Республика Беларусь
[4]Филиал Белорусского национального технического университета «Научно-исследовательский политехнический институт», Минск, Республика Беларусь
[5]Витебская областная клиническая больница, Витебск, Республика Беларусь

ПЕРВЫЙ ОТЕЧЕСТВЕННЫЙ АППАРАТ ДЛЯ ВАКУУМНОЙ ТЕРАПИИ

Аннотация. Разработан первый отечественный аппарат для вакуумной терапии «Импульс КМ-1», предназначенный для лечения ран методом вакуумной повязки. Авторские права защищены двумя патентами.

В состав аппарата входят: электронный блок с внутренним источником питания, внешний источник заряда аккумуляторной батареи, резервуар для сбора раневого отделяемого, комплект одноразовый перевязочный стерильный. Комплект состоит из губки, пленочного покрытия, трубки с фиксирующейся головкой, трубки-коннектора. Аппарат предназначен для многократного применения, обеспечивает работу в постоянном, переменном и прерывистом режимах.

Успешно проведены клинические испытания аппарата. В рамках клинических испытаний 17 пациентов, находившихся на лечении в клинике госпитальной хирургии Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета с хирургическими инфекциями кожи и мягких тканей, получили вакуумную терапию ран с применением аппарата «Импульс КМ-1». Отмечено достоверное сокращение сроков лечения раневых дефектов. Аппарат зарекомендовал себя как надежный, простой в эксплуатации прибор.

Стоимость аппарата «Импульс КМ-1» составляет примерно 2500 долларов США, а комплекта одноразового перевязочного – 40 долларов США.

Ключевые слова: вакуумная терапия, гнойная рана, аппарат, губка, пленочное покрытие

Для цитирования: Первый отечественный аппарат для вакуумной терапии / С. Д. Федянин [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 4. – С. 491–496. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-491-496

Siarhei D. Fedzianin[1], Vladimir A. Kosinets[1], Boris M. Khroustalev[2], Vladimir T. Minchenya[2], Yury H. Aliakseyeu[3], Vladimir S. Niss[4], Aliaksander S. Yatsko[5]

[1]Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus
[2]Belarusian National Technical University, Minsk, Republic of Belarus
[3]Science and Technology Park of Belarusian National Technical University "Polytechnic", Minsk, Republic of Belarus
[4]Branch of the Belarusian National Technical University "Research and Development Polytechnic Institute", Minsk, Republic of Belarus
[5]Vitebsk Regional Clinical Hospital, Vitebsk, Republic of Belarus

FIRST DOMESTIC APPARATUS FOR VACUUM THERAPY

Abstract. The first domestic device for vacuum therapy, Impulse KM-1, has been developed. The device is intended for the treatment of wounds, using a method of VAC therapy. Copyright protected by 2 patents.

The device includes: an electronic unit with an internal power source, an external battery charge source, a reservoir for collecting of wound discharge, a disposable sterile dressing kit. The kit consists of a sponge, a film covering, a tube with a fixing head, a connector tube. The device is designed for a multiple use, provides continuous, variable and intermittent operation.

Clinical trials of the device have been successfully carried out. As part of clinical trials, 17 patients who were treated at the hospital surgery clinic of the Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University with surgical infections of the skin and soft tissues received vacuum therapy of wounds using the Impulse KM-1 apparatus. A significant reduction in the time of wound treatment was noted. The device has established itself as a reliable, easy to use device.

The cost of the Impulse KM-1 apparatus is approximately 2500 $ and the cost of a disposable dressing kit is 40 $.

Keywords: vacuum therapy, purulent wound, apparatus, sponge, film coating

For citation: Fedzianin S. D., Kosinets V. A., Khroustalev B. M., Minchenya V. T., Aliakseyeu Yu. H., Niss V. S., Yatsko A. S. First domestic apparatus for vacuum therapy. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 4, pp. 491–496 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-491-496

Введение. Инфекция в хирургии является одной из актуальных проблем современной медицины. Удельный вес пациентов с хирургическими инфекциями в структуре хирургической патологии может достигать 40–45 % [1–3].

Вакуумная терапия ран (Negative pressure wound treatment (NPWT), Vacuum-assisted closure (VAC therapy), вакуум-терапия, вакуум-ассистированные повязки, лечение ран отрицательным давлением) в настоящий момент является инновационным подходом в комплексном лечении ран [4, 5].

Отрицательное давление обеспечивает непрерывную эвакуацию жидкости, стимулирует пролиферацию грануляционной ткани и эффективно очищает поверхность раневого дефекта. Местное пролонгированное лечение ран отрицательным давлением – это детально разработанная, надежная, эффективная и профессиональная технология, которая значительно сокращает длительность и стоимость лечения [4, 6, 7].

Для применения метода используются специальные аппараты для вакуумной терапии с комплектами для наложения вакуумных повязок (Paul Hartmann, Smith & Nephew, Loman & Rauscher). В состав комплекта для наложения вак-повязки обычно входит полиуретановая либо поливиниловая губка с размером пор 400–2000 мкм, клеящееся покрытие из пленки для герметизации, дренажная трубка [7–9].

Аппараты создают и поддерживают вакуум в диапазоне от 50 до 200 мм рт. ст. Оптимальный уровень вакуума 125 мм рт. ст. Губка с присоединенной с ней дренажной трубкой укладывается в рану, при необходимости фиксируется швами. Поверх накладывается клеящаяся пленка для создания герметичности. Трубка соединяется с аппаратом и создается вакуум необходимой величины. Раневой экссудат отводится в контейнер. Повязка накладывается в среднем на срок от 2 до 6 дней.

Импортные аппараты для вакуумной терапии характеризуются высокой стоимостью (в среднем 5000–7000 долларов США), один комплект для наложения вакуумной повязки обходится примерно в 100 долларов США. Это ограничивает возможность применения метода лечения ран отрицательным давлением в большинстве отечественных клиник [10–13].

Цель исследования – разработка и клиническая апробация первого отечественного аппарата для вакуумной терапии «Импульс КМ-1».

Материалы и методы исследования. Разработан первый отечественный аппарат для вакуумной терапии «Импульс КМ-1». Получен патент Национального центра интеллектуальной собственности Республики Беларусь на полезную модель «Устройство для вакуумной терапии» № 11244 и патент Евразийского патентного ведомства на изобретение «Устройство для вакуумной терапии» № 033559 B1.

В рамках клинических испытаний 17 пациентов, находившихся на лечении в клинике госпитальной хирургии Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета с хирургическими инфекциями кожи и мягких тканей, получили вакуумную терапию с применением аппарата «Импульс КМ-1».

Результаты и их обсуждение. Аппарат «Импульс КМ-1» предназначен для лечения ран методом вакуумной повязки, поддерживает широкий диапазон вакуумметрических давлений и способен обеспечить режимы постоянного, переменного и прерывистого вакуумного воздействия на раны.

В состав аппарата входят: электронный блок с внутренним источником питания, внешний источник заряда аккумуляторной батареи, резервуар для сбора раневого отделяемого, комплект одноразовый перевязочный стерильный. Аппарат предназначен для многократного применения.

Внешний вид аппарата представлен на рис. 1.



Рис. 1. Внешний вид аппарата для вакуумной терапии «Импульс КМ-1»

Fig. 1. Appearance of the impulse KM-1 apparatus for vacuum therapy



Рис. 2. Внешний вид задней панели аппарата для вакуумной терапии «Импульс КМ-1»

Fig. 2. Appearance of the rear panel of the impulse KM-1 apparatus for vacuum therapy

На рис. 2 представлена задняя панель аппарата, где размещены выключатель питания, разъем для подключения внешнего зарядного устройства, порт для подключения к аппарату резервуара для сбора раневого отделяемого.

Аппарат «Импульс КМ-1» обеспечивает работу в стандартных режимах с заданными либо устанавливаемыми уровнями давления и времени, проверяет герметичность вакуумной повязки. Под давлением, которое показывает аппарат, понимается отрицательное давление (разрежение ниже атмосферного), создаваемое насосом в вакуумируемом объеме.

Аппарат обеспечивает следующие режимы работы:

два стандартных постоянных режима с давлением 75 и 125 мм рт. ст.;

два стандартных режима с давлением 75 и 125 мм рт. ст., уровень давления которых может быть изменен в процессе работы в пределах 50–150 мм рт. ст.;

два стандартных переменных режима с давлением 75 и 125 мм рт. ст., в которых регулируется время «работы» и «отдыха»;

один программируемый режим («свой режим»), в котором давление, время «работы» и «отдыха» выбираются вручную, сохраняются после окончания работы и восстанавливаются при последующем включении аппарата;

режим звуковых и световых сигналов при возникновении неполадок, переключении режимов работы.

Аппарат создает и поддерживает отрицательное давление в диапазоне 50–150 мм рт. ст. для «рабочего» режима; давление в диапазоне 10–20 мм рт. ст. для режимов «отдых» и «пауза»; в переменном режиме изменяет время «работы» от 5 до 90 мин с шагом 1 мин и время «отдыха» от



Рис. 3. Внешний вид комплекта одноразового перевязочного

Fig. 3. Appearance of a disposable dressing kit

2 до 30 мин; имеет возможность включения режима прерывистого давления в каждом режиме: падения давления наполовину от заданной величины каждые 30 с с последующим набором заданного давления через 10 с.

Аппарат обеспечивает следующие функциональные возможности: автоматическое отключение подсветки дисплея и включение ее при нажатии любой клавиши, отображение показаний заданного и реального давления, времени до окончания режимов «работа» и «отдых», контроль заряда аккумуляторной батареи и предупреждение о разряде, блокировку кнопок управления в режиме «работа».

Питание аппарата осуществляется от внешнего источника питания и внутренней аккумуляторной батареи с напряжением 12 В. Заряд батареи производится от внешнего источника стабилизированного напряжения. Среднее время работы аппарата от аккумуляторных батарей составляет 16 ч. Размеры электронного блока (длина, ширина, высота) – 250×250×200 мм; блока питания – 125×62×34 мм.

Состав комплекта одноразового перевязочного стерильного представлен в таблице.

Внешний вид комплекта представлен на рис. 3.

Состав комплекта одноразового перевязочного стерильного

Composition of a set of disposable dressing sterile

Наименование	Размеры комплекта, см		
	10×8	20×15	25×15
Губка 10×8×3 см	1	–	–
Губка 20×15×3 см	–	1	–
Губка 25×15×3 см	–	–	1
Пленочное покрытие	1	2	2
Трубка с фиксирующейся головкой	1	1	1
Трубка-коннектор	1	1	1

Управление работой аппарата осуществляется микроконтроллером, который управляет работой дисплея, вакуумного насоса и воздушного клапана, считывает информацию с кнопок управления, принимает показания датчиков давления и уровня жидкости и хранит необходимую для работы информацию.

Управление работой аппарата осуществляется нажатием кнопок, распложенных на лицевой панели, которые имеют следующие функции: «ОК» – переход в выбранный режим или выбранные установки; «Назад» – выход из режимов работы; «Вверх» и «Вниз» – перемещение курсора или изменение устанавливаемых режимов; «START» – старт работы выбранных режимов; «СТОП» – завершение работы режима; «ПАУЗА» – временная остановка работы; «125» – режим постоянного уровня давления в 125 мм рт. ст.; «75» – режим постоянного уровня давления в 75 мм рт. ст.

Выполнение вакуумной терапии. Перед наложением вакуумной повязки выполняют хирургическую обработку раны с иссечением некротических тканей, промывают раневой дефект антисептическими лекарственными средствами. Далее очищают и обезжиривают кожу вокруг раны для лучшего соприкосновения с ней пленочной повязки, открывают стерильный одноразовый перевязочный комплект. Ножницами обрезают губку до нужного размера и укладывают на рану так, чтобы она полностью покрывала ее дно. Снимают с пленочного покрытия защитный слой и равномерно накладывают поверх раны так, чтобы она была герметично закрыта со всех сторон. Разглаживают пленочную повязку рукой. Далее делают небольшой разрез пленочной повязки над раной ножницами или скальпелем. У трубки с фиксирующейся головкой удаляют защитный слой и приклеивают головку над отверстием в пленочной повязке. Соединяют трубку с фиксирующейся головкой с резервуаром. Подсоединяют резервуар с помощью трубки-коннектора к аппарату, включают аппарат и устанавливают необходимый режим работы.

Успешно проведены клинические испытания аппарата. При выполнении вакуумной терапии с применением аппарата «Импульс КМ-1» отмечено достоверное сокращение сроков лечения ран. Аппарат зарекомендовал себя как надежный, простой в эксплуатации прибор.

Стоимость аппарата «Импульс КМ-1» составляет примерно 2500 долларов США, а комплекта одноразового перевязочного – 40 долларов США.

Заключение. Разработан и клинически апробирован первый отечественный аппарат для вакуумной терапии «Импульс КМ-1». Аппарат характеризуется простотой, удобством в эксплуатации и может найти широкое применение для лечения пациентов в учреждениях здравоохранения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Сепсис: классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение / С. Ф. Багненко [и др.] ; под ред. Б. Р. Гельфанда. – 4-е изд., доп. и перераб. – М. : Мед. информ. агентство, 2017. – 406 с.

2. Хирургические инфекции кожи и мягких тканей: российские национальные рекомендации / Б. Р. Гельфанд [и др.] ; Рос. о-во хирургов [и др.]. – 2-е изд., доп. и перераб. – М. : Изд-во МАИ, 2015. – 109 с.

3. Распространение и антибактериальная резистентность грамотрицательных бактерий, продуцентов карбапенемаз, в Санкт-Петербурге и некоторых других регионах Российской Федерации / И. В. Лазарева [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – 2016. – Т. 61, № 11–12. – С. 28–38.

4. Новые варианты применения вакуумной терапии в комбустиологии / С. Б. Богданов [и др.] // Инновац. медицина Кубани. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 36–40.

5. Руководство по лечению ран методом управляемого отрицательного давления / С. В. Горюнов [и др.]. – М. : Апрель, 2013. – 130 с.

6. Использование локального отрицательного давления у пациентов, перенесших иссечение эпителиального копчикового хода / М. А. Егоркин [и др.] // Колопроктология. – 2018. – № 2S. – С. 17–17а.

7. Вакуумная терапия в комплексном лечении нейропатической формы синдрома диабетической стопы в Гане / В. М. Рдейни [и др.] // Раны и раневые инфекции. Журн. им. проф. Б. М. Костючёнка. – 2018. – Т. 5, № 3. – С. 16–24.

8. Часнойть, А. Ч. Выбор раневого наполнителя, уровня отрицательного давления и методики вакуумной терапии ран / А. Ч. Часнойть, Е. В. Жилинский, А. П. Бондаренко // Экстрен. медицина. – 2015. – № 3. – С. 92–99.

9. Agarwal, P. Vacuum assisted closure (VAC)/negative pressure wound therapy (NPWT) for difficult wounds : a review / P. Agarwal, R. Kukrele, D. Sharma // J. Clin. Orthop. Trauma. – 2019. – Vol. 10, N 5. – P. 845–848. https://doi.org/10.1016/j.jcot.2019.06.015

10. Efficacy of vacuum-assisted closure (VAC) in wound healing / Z. Ahmed [et al.] // Surg. Sci. – 2019. – Vol. 10, N 6. – P. 173–215. https://doi.org/10.4236/ss.2019.106022

11. Negative pressure wound therapy versus standard treatment in patients with acute conflict-related extremity wounds: a pragmatic, multisite, randomised controlled trial / A. Alga [et al.] // Lancet Glob. Health. – 2020. – Vol. 8, N 3. – P. e423–e429. https://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30547-9

12. Atwood, R. E. Use of negative pressure wound therapy on conflict-related wounds / R. E. Atwood, M. J. Bradley, E. A. Elster // Lancet Glob. Health. – 2020. – Vol. 8, N 3. – P. e319–e320. https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30041-3

13. Negative pressure wound therapy for surgical wounds healing by primary closure / G. Norman [et al.] // Cochrane Database Syst. Rev. – 2020. – N 6. – Art. CD009261. https://doi.org/10.1002/14651858.CD009261.pub6

References

1. Gel'fand B. R. (ed.). *Sepsis: classification, clinical and diagnostic concept and treatment*. Moscow, Medical information agency, 2017. 406 p. (in Russian).

2. Gel'fand B. R., Kubyshkin V. A., Kozlov R. S., Khachatryan N. N. *Surgical infections of the skin and soft tissues: Russian national guidelines*. Moscow, MAI Publ., 2015. 109 p. (in Russian).

3. Lazareva I. V., Ageevets V. A., Ershova T. A., Zueva L. P., Goncharov A. E., Dar'ina M. G., Svetlichnaya Yu. S., Uskov A. N., Sidorenko S. V. Prevalence and antibiotic resistance of carbapenemase-producing gram-negative bacteria in Saint Petersburg and some other regions of the Russian Federation. *Antibiotiki i khimioterapiya* [Antibiotics and chemotherapy], 2016, vol. 61, no. 11–12, pp. 28–38 (in Russian).

4. Bogdanov S. B., Marchenko D. N., Polyakov A. V., Karakulev A. V., Bogdanova Yu. A. New applications of vacuum therapy in combustiology. *Innovatsionnaya meditsina Kubani* [Innovative medicine of Kuban], 2020, vol. 17, no. 1, pp. 36–40 (in Russian).

5. Goryunov S. V., Abramov I. S., Chapar'yan B. A., Egorkin M. A., Zhidkih S. Y. *Guidelines for the treatment of wounds by the method of controlled negative pressure*. Moscow, April Publ., 2013. 130 p. (in Russian).

6. Egorkin M. A., Gorbunov I. N., Bolkvadze E. E., Obukhov V. K., Vechorko V. I. *The use of local negative pressure in patients who underwent excision of the epithelial coccygeal passage*. *Koloproktologiya* [Coloproctology], 2018, no. 2S, pp. 17–17a (in Russian).

7. Rdeini V. M., Mitish V. A., Paskhalova Yu. S., Sokov S. L. Vacuum therapy in the complex treatment of the neuropathic form of diabetic foot syndrome in Ghana. *Rany i ranevye infektsii. Zhurnal imeni professora B. M. Kostyuchenka* [Wounds and wound infections. Journal of prof. B. M. Kostyuchenok], 2018, vol. 5, no. 3, pp. 16–24 (in Russian).

8. Chasnoit' A. Ch., Zhilinskii E. V., Bondarenko A. P. Selection of wound filler, negative pressure level, and methods of wound vacuum therapy. *Ekstrennaya meditsina* [Emergency medicine], 2015, no. 3. pp. 92–99 (in Russian).

9. Agarwal P., Kukrele R., Sharma D. Vacuum assisted closure (VAC)/negative pressure wound therapy (NPWT) for difficult wounds : a review. *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma*, 2019, vol. 10, no. 5, pp. 845–848. https://doi.org/10.1016/j.jcot.2019.06.015

10. Ahmed Z., Husain N., Nour S., Yee S. H. Efficacy of vacuum-assisted closure (VAC) in wound healing. *Surgical Science*, 2019, vol. 10, no. 6, pp. 173–215. https://doi.org/10.4236/ss.2019.106022

11. Alga A., Haweizy R., Bashaireh K., Wong S., Lundgren K. C., von Schreeb J., Malmstedt J. Negative pressure wound therapy versus standard treatment in patients with acute conflict-related extremity wounds: a pragmatic, multisite, randomised controlled trial. *Lancet Global Health*, 2020, vol. 8, no. 3, pp. e423–e429. https://doi.org/10.1016/S2214-109X(19)30547-9

12. Atwood R. E., Bradley M. J., Elster E. A. Use of negative pressure wound therapy on conflict-related wounds. *Lancet Global Health*, 2020, vol. 8, no. 3, pp. e319–e320. https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30041-3

13. Norman G., Goh E. L., Dumville J. C., Shi C., Liu Z., Chiverton L., Stankiewicz M., Reid A. Negative pressure wound therapy for surgical wounds healing by primary closure. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2020, no. 6, art. CD009261. https://doi.org/10.1002/14651858.CD009261.pub6

Информация об авторах

Федянин Сергей Дмитриевич – канд. мед. наук, доцент. Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет (пр-т Фрунзе, 27, 210009, г. Витебск, Республика Беларусь). E-mail: fedyanin-1977@mail.ru

Косинец Владимир Александрович – д-р мед. наук, профессор. Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет (пр-т Фрунзе, 27, 210009, г. Витебск, Республика Беларусь). E-mail: vkosinets@yandex.ru

Хрусталев Борис Михайлович – академик, д-р техн. наук, профессор. Белорусский национальный технический университет (пр-т Независимости, 65, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tgv_fes@bntu.by

Минченя Владимир Тимофеевич – канд. техн. наук, профессор. Белорусский национальный технический университет (пр-т Независимости, 65, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: v.minchenya@bntu.by

Алексеев Юрий Геннадьевич – канд. техн. наук, доцент. Научно-технологический парк БНТУ «Политехник» (ул. Я. Коласа, 24, к. 34/1, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: y.aliakseyeu@bntu.by

Нисс Владимир Семенович – канд. техн. наук, доцент. Филиал Белорусского национального технического университета «Научно-исследовательский политехнический институт» (пр-т Независимости, 65, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: niil_nkm@bntu.by

Яцко Александр Сергеевич – врач-хирург. Витебская областная клиническая больница (ул. Воинов-интернационалистов, 37, 210037, г. Витебск, Республика Беларусь). E-mail: yals_@mail.ru

Information about the authors

Siarhei D. Fedzianin – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University (27, Frunze Ave., 210009, Vitebsk, Republic of Belarus). E-mail: fedyanin-1977@mail.ru

Vladimir A. Kosinets – D. Sc. (Med.), Professor. Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University (27, Frunze Ave., 210009, Vitebsk, Republic of Belarus). E-mail: vkosinets@yandex.ru

Boris M. Khroustalev – Academician, D. Sc. (Eng.), Professor. Belarusian National Technical University (65, Nezavisimosti Ave., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tgv_fes@bntu.by

Vladimir T. Minchenya – Ph. D. (Eng.), Professor. Belarusian National Technical University (65, Nezavisimosti Ave., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: v.minchenya@bntu.by

Yury H. Aliakseyeu – Ph. D. (Eng.), Associate Professor. Science and Technology Park of Belarusian National Technical University "Polytechnic" (24, suite 34/1, Ya. Kolas Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: y.aliakseyeu@bntu.by

Vladimir S. Niss – Ph. D. (Eng.), Associate Professor. Branch of the Belarusian National Technical University "Research and Development Polytechnic Institute" (65, Nezavisimosti Ave., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: niil_nkm@bntu.by

Aliaksander S. Yatsko – surgeon. Vitebsk Regional Clinical Hospital (37, Voinov-internatsionalistov Str., 210037, Vitebsk, Republic of Belarus). E-mail: yals_@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

АГЛЯДЫ
REVIEWS

УДК 578.834.1
https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-497-512

Поступила в редакцию 19.07.2021
Received 19.07.2021

Л. П. Титов[1], М. В. Спринджук[2]

[1]Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Республика Беларусь
[2]Объединенныей институт проблем информатики НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

COVID-19: ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ, МЕХАНИЗМЫ ЕСТЕСТВЕННОГО И АДАПТИВНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА, ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ

Аннотация. COVID-19 – пандемически распространяющееся заболевание, вызываемое представителем семейства Coronaviridae – бета-2 короновирусом, получившим название SARS-CoV-2. Продолжающаяся пандемия COVID-19 нанесла серьезный урон состоянию здоровья населения нашей планеты – на начало июля 2021 г. заболело более 187,9 млн человек. От инфекции скончались более 4,0 млн пациентов (>2,0 %). В статье рассматриваются критически значимые молекулярно-генетические аспекты биологии возбудителя (строение +РНК генома, свойства белков), важные для понимания механизмов развития болезни, гуморальные и клеточные механизмы индивидуальной и коллективной иммунологической защиты, генетическая изменчивость вируса, принципы и платформы по созданию вакцин.

Ключевые слова: COVID-19, коронавирус SARS-CoV-2, иммунитет, генотипы, вакцины

Для цитирования: Титов, Л. П. COVID-19: характеристика возбудителя, механизмы естественного и адаптивного иммунного ответа, генетическое разнообразие и распространение / Л. П. Титов, М. В. Спринджук // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 4. – С. 497–512. https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-497-512

Leonid P. Titov[1], Matvey V. Sprindzuk[2]

[1]Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus
[2]United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

COVID-19: PATHOGEN CHARACTERISTICS, NATURAL AND ADAPTIVE IMMUNE RESPONSE MECHANISMS, GENETIC DIVERSITY AND DISTRIBUTION

Abstract. COVID-19 is a pandemic disease caused by a member of the Coronaviridae family, a beta-2 coronavirus named SARS-CoV-2. The COVID-19 pandemic lasting about 19 months has caused serious damage to the health of people on our planet – by the 13 of July 2021, more than 187.9 000 000 patients have been diagnosed and more than 4.0 mln patients died from infection (> 2.0 %). Scientists around the world are actively investigating the critically important molecular-genetic aspects of the biology of the pathogen (genome RNA structure, proteins properties) that are important for understanding the disease mechanisms, as well as the mechanisms of individual and collective immunological protection and vaccines development with non-specific prophylactics.

Keywords: COVID-19, coronavirus SARS-CoV-2, immunity, genotypes, vaccines

For citation: Titov L. P., Sprindzuk M. V. COVID-19: pathogen characteristics, natural and adaptive immune response mechanisms, genetic diversity and distribution. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 4, pp. 497–512 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-497-512

Введение. COVID-19 (coronavirus disease-2019) – новое опасное вирусное инфекционное заболевание, вызываемое представителем семейства Coronaviridae (подсемейство Orthocoronavirinae, подрод Sarbicovirus). Международной комиссией оно названо SARS-CoV-2 [1]. Заболевание впервые зарегистрировано в декабре 2019 г. в г. Ухань (КНР), характеризуется респираторными симптомами легкой, средней или

© Титов Л. П., Спринджук М. В., 2021

тяжелой степени тяжести, требует симптоматической, патогенетической и этиотропной противовирусной терапии. Летальность от инфекции составляет более 2,0 % [2]. Несмотря на экстраординарные ограничительные меры, предпринятые ВОЗ по предотвращению глобального распространения и локализации эпидемического процесса, инфекция интенсивно распространяется и зарегистрирована уже более чем в 221 стране мира. Общее число случаев заболевания в мире на 13.10.21 г. составляет более 239,5 млн человек, а число погибших от инфекции – более 4,0 млн человек.

Интенсивность распространения вируса, несмотря на проводимую вакцинацию, в последнее время возросла вследствие появления новых генетических вариантов, что представляется неблагоприятным признаком. Примерно у 20 % инфицированных лиц развивается тяжелая форма заболевания, а около 5 % нуждаются в госпитализации. Смертность от SARS-CoV-2 выше у лиц старше 65 лет, страдающих хроническими заболеваниями легких, сердечно-сосудистой патологией, ожирением и диабетом. Отмечается рост заболеваемости среди людей более молодого возраста, детей и новорожденных.

Семейство Coronaviridae. Коронавирусы являются наиболее крупными среди РНК вирусов. Впервые они были выделены от кур в 1937 г., а в 1965 г. D. Tyrrell и M. Bynoe был выделен коронавирус человека [3]. Название вируса (*coronavirus*, от лат. *corona*, означающего венец из-за характерной морфологии вирионов) было принято в 1968 г. При электронной микроскопии поверх перикапсида видна «корона», как результат экспрессии выступающих над поверхностью шиповидных белков (рис. 1). Представители этого семейства широко распространены в природе, инфицируют разнообразных хозяев, варьируют по органному тропизму. Относятся эти вирусы к зоонозным возбудителям, естественным их резервуаром являются летучие мыши.

В процессе эволюции вирусы приобрели способность передаваться от человека человеку воздушно-капельным и контактным путями. Вирус поражает эпителиальные клетки респираторного (преимущественно в альвеолах) и желудочно-кишечного трактов, а также клетки ряда органов – печени, почек и сердца. Семейство Coronavirinae включает два подсемейства – Letovirinae и Orthocoronavirinae. Подсемейство Orthocoronavirinae включает четыре рода: alpha-, beta-, gamma- и delta-coronavirus [1].

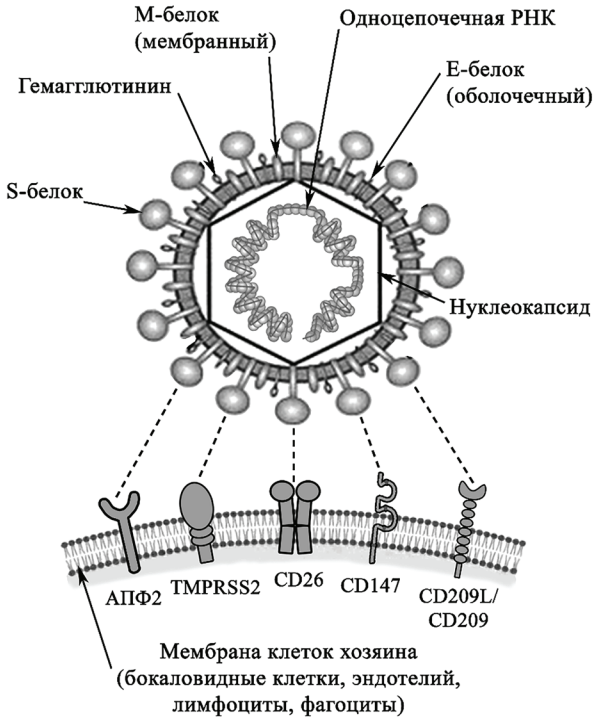


Рис. 1. Строение вириона SARS-CoV-2 (H-E – гемагглютинин-эстераза, S – спайковый белок/шипы, M – мембранный белок, NC – белок нуклеокапсида, CS – капсомеры, N – нуклеиновая кислота (РНК), E – оболочечный белок) и его взаимодействие с рецепторами клеток (АПФ2, TMPRSS2, CD26, CD147, CD209, CD209L)

Fig. 1. The structure of the SARS-CoV-2 virion (H-E – hemagglutinin esterase, S – spike protein/spikes, M – membrane protein, NC – nucleocapsid protein, CS – capsomeres, N – nucleic acid acid (RNA), E – envelope protein) and its interaction with cell receptors (ACE2, TMPRSS2, CD26, CD147, CD209, CD209L)

У человека респираторные инфекции (ОРВИ, тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС)) вызывают коронавирусы SARS-CoV и SARS-CoV-2, сезонные простудные и кишечные заболевания – вирусы HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1 [2]. На их долю приходится более 20 % респираторной патологии. Интерес к данным инфекционным агентам резко возрос в 2003 г., когда в Китае распространилась эпидемия новой инфекции – ТОРС, вызванная коронавирусом SARS-CoV, и еще более усилился в период нынешней пандемии 2019–2021 гг., вызванной новым вирусом – SARS-CoV-2 [3–5]. Все они имеют схожее строение генома, незначительно отличающееся по составу генов, кодирующих неструктурные белки.

Характеристика вируса. Геном вируса представлен однонитевой позитивной полярности молекулой РНК, содержащей около 30 000 пар оснований [5]. Геномная +РНК кодирует 29 белков – 16 неструктурных (функциональных), 4 структурных, образующих вирион, и 9 дополнительных [5]. К наиболее важным структурным белкам относятся S-шиповидный, M-мембранный, E-оболочечный и N-нуклеокапсидный (протеидный). Вирион имеет сферическую форму диаметром 70–97 нм. Для этого вируса характерна высокая частота мутаций ($\times 10^{-4}$) и генетических рекомбинаций (до 10 % генома). Белки перикапсида – S и M формируют выступающие над поверхностью вириона шипы. Самая распространенная мутация в геноме SARS-CoV-2 повышает шанс вируса проникать в клетки организма в 2,5–8,0 раза. Белок S имеет массу 150 kDa и состоит из двух субъединиц – S1 и S2, имеет участки связывания с рецепторами клеток – молекулами ангиотензин-превращающего фермента-2 (ACE-2/АПФ-2) (рис. 1).

Нарезание S-белка на фрагменты осуществляется клеточной мембраносвязанной сериновой (TMPRSS2) и цистеиновой (CatB/L) протеазами [6]. Молекула ACE-2 рецептора человека имеет гомологию с рецепторами летучих мышей и панголинов на уровне 82 %. Функционально S-белок ускоряет слияние мембраны вируса с мембраной чувствительных клеток, что способствует проникновению инфекционного агента в цитоплазму. Поэтому S-белок рассматривается в качестве основного фактора патогенности вируса, обеспечивая его прикрепление и вхождение внутрь. Связывающая способность S-белка SARS-CoV-2 с ACE-2 в 10–20 раз сильнее, чем у вируса SARS-CoV. Антигенные детерминанты S-белка нейтрализуются специфичными антителами и распознаются поверхностными рецепторами CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов.

Под действием протеаз и вследствие локального сдвига pH и ионов Ca^{2+} S-белок расщепляется на две субъединицы [6]. Субъединица S1 образует головку, в которой локализуется домен связывания с рецепторами клеток, а субъединица S2 ассоциирована с трансмембранным и цитоплазматическим доменами и участвует в слиянии с клетками. В молекуле S-белка выявлено два линейных B-клеточных иммуноэпитопа, один из которых локализуется вблизи домена, связывающегося с рецептором ACE-2 (DBR), а другой – вблизи пептидного фрагмента, отвечающего за слияние мембран (DFM) вириона и клетки. M-белок, интегральный трансмембранный белок с молекулярной массой 25–30 kDa, трижды пронизывает липидный бислой вириона так, что только небольшой фрагмент возвышается над поверхностью [6]. Это самый консервативный из белков бета-коронавирусов, который характеризуется высокой степенью подобия (98 %) по сравнению с таковым у вирусов летучих мышей и панголинов и участвует в формообразовании вирионов. Имеются некоторые различия в составе терминальных аминокислот, например серина в положении 4 и др. Белок уникален тем, что взаимодействует с нуклеокапсидом, перикапсидом, шипами, участвует в сборке и почковании вирионов [7].

Мутации в терминальной части белка, вероятно, играют ключевую роль во взаимодействии с рецепторами клеток разных видов животных и способствуют межвидовой трансмиссии вируса. H-E белок (гемагглютинин-эстераза) функционально связывается с сиаловыми кислотами гликопротеинов со свойствами ацетилэстеразы, экспрессированными на эпителии слизистых, ускоряет S-зависимое вхождение вируса в эпителиоциты. Белок имеет молекулярную массу 8–12 kDa, участвует в патогенезе заболевания, регулируя активность ионных каналов. Он не принимает участия в репликации вируса, но помогает при сборке вирионов и выходе их из клетки. E-белок, являясь одним из наиболее консервативных поверхностных структурных белков бета-коронавирусов, на 91 % гомологичен таковому SARS-CoV. N-белок ассоциирован с нуклеокапсидом, содержит два домена – C и N с разными паттернами взаимодействия: N-домен – с РНК генома, а C-домен – с неструктурным белком nsp3, блокирует репликативный комплекс и M-белок. N-белок также консервативен, стабилен, обильно синтезируется в процессе инфекции, является сильным антигеном, индуцирует гуморальный и Т-клеточный иммунный ответ. Он является антагонистом интерферонов I и III типа, взаимодействует с RIG-I/MDA-5 сигнальным путем и рассматривается в качестве кандидатного белка для вакцин [6–8].

Клеточные рецепторы вируса. Молекулы рецепторного белка ангиотензин-превращающего фермента (ACE-2) экспрессированы на мембране реснитчатых клеток полости носа, на клетках роговицы глаза, бокаловидных клетках бронхов, эпителии слизистой пищевода, подвздошной и толстой кишки, продуцирующих слизь, а также на клетках канальцев почек и эндотелии сосудов. В норме его функцией

является связывание молекул гормона ангиотензина (I–V), продуцируемого гепатоцитами, регуляция артериального давления крови и водно-солевого обмена [9]. Изучение роли ACE-2 при COVID-19 является ключом для понимания заболевания.

Интерфероны повышают экспрессию ACE-2 на мембране клеток, что может иметь последствия для клинического течения болезни [8]. Выделяют две формы: ACE-2-клеточную (связанную с мембраной) и циркулирующую (растворимую). Циркулирующая форма образуется в процессе расщепления клеточной формы металлопротеазой ADAM17 и высвобождения в межклеточное пространство.

Другими рецепторами клеток для SARS-Cov-2 является сериновая протеаза TMPRSS2, а также молекулы CD26 и CD147 активированных лимфоцитов [10] и молекулы суперсемейства иммуноглобулинов CD209L/CD209, которые экспрессированы на моноцитах, макрофагах и дендритных клетках. Протеаза TMPRSS2 отщепляет от молекулы ACE-2 небольшой С-концевой фрагмент, а также расщепляет и активирует белок S, что служит сигналом для проникновения вируса в клетку. CD147 рецепторы нейтрализуются гуманизированными моноклональными антителами Meplazumab, а также антителами переболевших и иммунизированных лиц.

Вирусная инфекция. Вирусная инфекция у человека реализуется на клеточном и молекулярно-генетическом уровнях и представляет собой многоуровневую биологическую систему конкурентных взаимоотношений ресурсов генома вируса и генома индивидуума (> 20 000 генов, включая 820 генов, составляющих иммуном) [11].

Первичными мишенями вируса являются эпителий слизистых верхних и нижних отделов респираторного тракта, а также легочная ткань и энтероциты желудочно-кишечного тракта. При прогрессивной диссеминации вирусные частицы достигают слизистой бронхов, бронхиол и альвеол, пораженные клетки набухают, могут закупоривать альвеолы и приводить к развитию пневмонии. Биологической задачей вируса на первом этапе являются комплементарные взаимодействия шиповидного S-белка с рецепторами клеток-мишеней – ACE-2 и проникновение путем слияния мембран [9, 12].

После проникновения в клетки организма вирус запускает программу трансляции геномной РНК в соответствующие белковые молекулы и нуклеиновую кислоту, а затем их накопление и сборку в структуре вирионов, созревание последних и выход из клетки. РНК вируса обладает инфекционностью, выступает в качестве мРНК и транслируется с продукцией двух молекул частично перекрывающихся полипротеинов – pp1a и pp1ab, которые необходимы для репликации вирусной РНК и продукции субгеномных мРНК. Каждая субгеномная мРНК кодирует определенный белок [2]. Молекула полипротеина pp1ab разрезается протеазами NSP3 и NSP5 на 16 неструктурных белков. Белок NSP12 (РНК-зависимая РНК-полимераза) – центральное звено процессов репликации/транскрипции и синтеза новых молекул вирусной РНК с помощью двух других белков (NSP7 иNSP8) в качестве ко-факторов. Стратегия вируса не предусматривает быструю гибель хозяина и направлена на сохранение и репродукцию в нем как можно дольше [13].

Сборка вирионов происходит в цитоплазме, где они формируются при активном участии трансмембранных белков – M и E. Белок N связывается с геномной РНК, что служит стимулом для образования суперкапсида спиральной симметрии. Гликопротеины E1 и E2 переносятся в эндоплазматический ретикулум, нуклеокапсид продвигается через мембраны эндоплазматического ретикулума (почкуется), везикулы, содержащие вирионы, транспортируются к наружной мембране клетки, сливаются с ней и выходят из клетки посредством «почкования» или «взрыва» [13]. Вирионы, обладающие инфекционностью, после выхода из клетки прикрепляются к рецепторам соседних клеток, и их жизненный цикл повторяется. В культуре инфицированных вирусом клеток формируется синцитий. В одной инфицированной клетке созревает от нескольких сотен до тысячи вирионов и более. Только небольшая часть из них являются инфекционными и способны внедряться в рядом расположенные интактные клетки, транспортироваться в периферическую кровь и внутренние органы. Например, у пациентов с SARS-CoV-2 выявляется от 2 до 6–8 $\log^{10}$ копий/мл, или 1000 вирусных частиц [14].

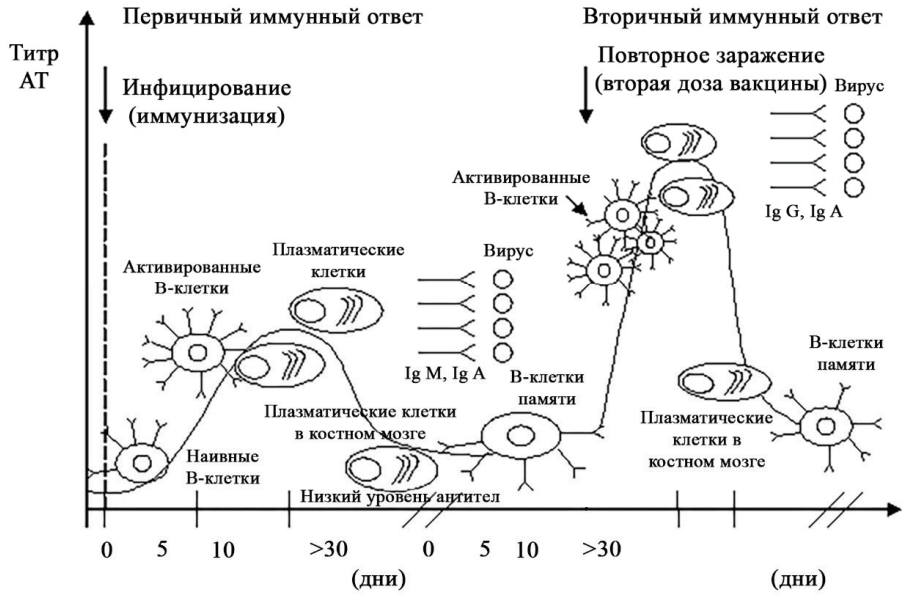
В культуре клеток Vero вирусы SARS-CoV и SARS-CoV-2 имеют сходную кинетику репродукции и достигают плато через 14 ч культивирования. Накопление вирусной мРНК и белков в культуре клеток характеризуется схожестью. Воспроизводство вирусных частиц в эпителии респираторного тракта, слюнных желез и лимфоидных тканей может сопровождаться цитолизом, нарушением метаболизма, модификацией реакций иммунной системы в виде гиперпродукции провоспалительных цитокинов (цитокиновый шторм), антителозависимого усиления инфекции, иммуносупрессии и вторичного иммунодефицитного состояния, что часто выражается более тяжелым течением болезни, развитием осложнений и летальным исходом [15].

Передача вируса от инфицированных и больных COVID-19 лиц к высокочувствительным здоровым лицам обеспечивает распространение инфекционного агента и формирование циркулирующей во времени популяции возбудителя, который стремится к прогрессивной географической экспансии, увеличению

численности генетически неоднородных по заразности популяций вируса, вызывая в популяции человека вспышки, эпидемии и пандемию.

Врожденные неспецифические механизмы защиты. Стратегия иммунома хозяина базируется на быстрой и сильной интегральной реакции на вирус путем включения комплексного взаимодействия молекул и клеток иммунной системы, которые распознают чужеродные вирусные белки и нуклеиновые кислоты с помощью механизмов врожденного неспецифического иммунитета (TLRs – толл-рецепторов 3, 7, 8 и 9), естественных киллеров, макрофагов, дендритных клеток, каскада белков комплемента, альфа- и бета-интерферонов). В системе локальной защиты инвариантные естественные киллеры (inKT), инвариантные Т-клетки (NAIT) и гамма-дельта Т-клетки известны как ключевые игроки иммунной системы слизистых. Их совокупные иммунологические эффекты блокируют взаимодействие вирусов с клетками и ингибируют развитие ранних этапов инфекционного процесса [15]. Эффективность альфа-интерферона в 50 раз слабее, чем бета-интерферона, а активность гамма-интерферона многократно сильнее, чем бета-интерферона. Иммунологическую «память» врожденного естественного иммунитета называют «тренированным иммунитетом», который может ограничивать интенсивность репродукции вирусов и распространения SARS-CoV-2, обладает механизмами модуляции функции системы интерферонов как первой линии противовирусного неспецифического иммунитета [15].

Эффективное распознавание вирусных частиц и структурных элементов (РНК, белков) элементами врожденного иммунного иммунитета и проявление реализуемых ими биологических эффектов подготавливает центральную иммунную систему, что во многом обеспечивает успешное развитие серии иммунологических реакций специфического характера (B- и T-зависимых) в лимфоидных образованиях организма [14, 15]. Среди факторов врожденного противовирусного иммунитета важны внутриклеточные рецепторы (RIG1, MDA5 и LGP2), которые распознают цитозольную РНК с помощью хеликазных доменов и функционируют в качестве сенсоров вирусной репликации. Индуцируют клеточный иммунный ответ посредством взаимодействия с CARD доменами – доменами активации и регуляции каспаз. При передаче сигнала этим путем активируется продукция бета-интерферонов и серии провоспалительных цитокинов. Механизмы естественного иммунитета способны элиминировать вирусы, что позволяет избежать развития неблагоприятных иммунопатологических процессов [16].



Характеристика	Первичный иммунный ответ	Вторичный иммунный ответ
Лаг-фаза	Обычно 7–15 дней	Обычно 1–3 дня
Уровень антител	Невысокий	Значительно выше и длительнее
Класс антител	Обычно IgM, IgG, IgA	Преимущественно IgG, IgA, IgE (переключение классов антител)
Аффинность антител	Ниже средней (варьирует)	Выше средней (созревание аффинности)

Рис. 2. Этапы первичного и вторичного гуморального противовирусного иммунного ответа

Fig. 2. Stages of primary and secondary humoral antiviral immune response

Антителозависимые (В-клеточные) механизмы иммунитета. В борьбе с внедрившимися в организм вирусами решающую роль играют защитные эффекты в виде быстрого включения противовирусных механизмов распознавания и специфического реагирования с участием антигенпредставляющих клеток (макрофагов, дендритных клеток) и наивных В-лимфоцитов [15]. Антитела – молекулы иммуноглобулинов, которые образуются в ответ на проникновение инфекционных агентов или других чужеродных организму антигенов. Наивные В-клетки в результате прямого распознавания В-зависимых эпитопов, локализованных в молекулах S-, M-, N- и E-белков вируса, при их активации в лимфоидных органах трансформируются в плазматические клетки, продуцирующие противовирусные антитела IgA, IgM и IgG классов, включая IgA секреторные, нейтрализующие вирусные частицы и В-клетки памяти [9, 14].

В острую фазу инфекции при первичном иммунном ответе синтезируются противовирусные антитела преимущественно IgM и IgA классов, сменяющиеся в период разгара болезни и выздоровления на более легкие и высокоспецифичные антитела IgG класса, которые и определяют длительный защитный эффект (рис. 2).

Молекулярно-клеточные механизмы гуморального иммунитета в процессе инфекции могут существенно повышать силу взаимодействия синтезируемых антител с антигенными детерминантами белков вирусов. В ходе иммунного ответа имеет место созревание аффинности антител, повышение их биологической активности, специфичности и скорости биосинтеза [16]. В результате в единицу времени скорость продукции антител намного опережает внутриклеточную скорость образования инфекционных частиц вируса, достигается эффективная нейтрализация вирионов и происходит их выведение из организма. Расчеты показывают, что в ткани легкого массой 1,0 кг инфицированного пациента концентрация вирусных частиц достигает 10^9–10^{11} копий РНК, а в тканях слизистой носа, гортани, бронхов и лимфоузлов массой 100 г – примерно 10^6–10^7 молекул РНК, что соответствует примерно 10^5–10^7 ТЦД. Синтезированные на ранних этапах вирусной инфекции антитела IgM класса менее специфичны в отношении антигенных детерминант вируса, усиливают мобилизацию клеточных элементов в очаг инфекции посредством активации системы комплемента и образования иммунных комплексов. При этом вирусная нагрузка в крови существенно снижается, клиническая симптоматика затухает.

Результаты исследований M. K. Özçürümez с соавт. [17] показали, что у большинства пациентов антитела против SARS-CoV-2 обнаруживались к 10-му дню от начала симптомов заболевания. Установлена определенная кинетика переключения синтеза антител разных классов благодаря механизмам реаранжировки генов иммуноглобулинов. Например, IgM и IgA выявлялись в среднем на 3–6-й день, а IgG – на 10–18-й. Продукция IgA антител достигала плато на 7-й день, а антител IgM и IgG классов – на 14-й и 21-й день соответственно, что в полной мере подтверждает ранее описанные закономерности развития противовирусного гуморального иммунного ответа [18].

Сывороточные антитела эффективны в защите организма в отношении циркулирующих в крови вирусных частиц, являются главными в нейтрализации и клиренсе вирионов из системной циркуляции в крови и других жидкостях организма, но недостаточно эффективны в локальной защите слизистых. Идентификация В- и Т-клеточных эпитопов структурных и неструктурных белков вируса является основой для создания диагностических систем и дизайна вакцин. Защитным противовирусным эффектом обладают вируснейтрализующие антитела, способные связываться с доменом S-белка, взаимодействующим с рецептором клетки. У 99 % пациентов, перенесших клинические формы COVID-19, выявляются вируснейтрализующие антитела к данному фрагменту S-белка [18]. При инфекции вырабатывается масса разных антител на антигенные эпитопы структурных и неструктурных белков, но только небольшая их часть способна нейтрализовать вирус [19].

Вирусспецифические антитела IgG класса к S1 и S2 фрагментам обладают не только нейтрализующими свойствами, но и усиливают проникновение инфекционных вирусных частиц в чувствительные клетки, несущие рецепторы к Fc-фрагменту IgG, способствуя таким образом распространению вируса в организме. Тестирование содержания в крови вируснейтрализующих антител и их активности проводят в культуре клеток эпителия почки мышей линии Vero *in vitro* путем оценки степени ингибиции бляшкообразования. Гуморальный иммунный ответ в отношении вирусных антигенов и, соответственно, образования антител у человека строго индивидуален. Каждый человек имеет уникальный набор родительских генов иммуноглобулинов, которые определяют как свойства синтезируемых антител (классоспецифичность), так и интенсивность иммунного ответа (от слабого, умеренного до сильного). То есть иммунный ответ на антигены вирусов и, соответственно, вакцин контролируется генетически [15].

Следует отметить, что при противоинфекционном специфическом ответе организма пациента на популяцию вируса суммарное воздействие оказывают разные (локальные и центральные, гуморальные и клеточные) механизмы защиты. Постинфекционный анти-SARS-CoV-2 протективный гуморальный иммунитет высокоэффективен в первые 6–8 мес. после выздоровления, затем эффективность его посте-

пенно снижается и поддерживается за счет сформировавшегося пула В- и Т-клеток памяти в течение 2 лет и более. В случаях, когда у перенесшего заболевание индивидуума выявляются средние, низкие уровни нейтрализующих антител или они отсутствуют, определенный уровень защиты от инфекции поддерживают другие элементы, включая В-клетки памяти и вирусспецифические клоны тканевых CD4+ и CD8+ Т-клеток памяти [20].

Закономерности развития и функционирования поствакцинального протективного иммунитета характеризуются схожестью с таковыми постинфекционного иммунитета и обусловлены типом использованной для иммунизации вакцины. Иммунный ответ в результате вакцинации может быть сильнее постинфекционного. Инактивированные цельновирионные вакцины индуцируют сильный иммунный ответ к широкому спектру В- и Т-клеточных детерминант структурных и неструктурных белков вируса. Вместе с тем молекулярноклеточные и генетические механизмы гуморального анти-SARS-CoV-2 иммунитета изучены слабо и нуждаются в проведении более скрупулезных исследований.

Т-клеточные механизмы иммунитета. Исследования иммунного статуса пациентов, перенесших COVID-19, свидетельствуют о том, что в сыворотке крови лиц с легким и средней тяжести течением заболевания выявляются преимущественно низкие титры антител. В крови пациентов отмечается повышенное содержание альфа/бета Т-клеток и сниженное содержание гамма/дельта Т-лимфоцитов. Кроме того, у переболевших короновирусной инфекцией лиц без сероконверсии в крови обнаруживаются циркулирующие вирусспецифические Т-лимфоциты, продуцирующие гамма-интерферон, что представляется важным доказательством того, что Т-клеточный иммунный ответ является более чувствительным индикатором инфекции.

Известно, что Т-лимфоциты распознают процессированные антигенпрезентирующими клетками пептиды вируса в комплексе с собственными молекулами HLA [21]. При этом субпопуляция CD4+ регуляторных Т-клеток распознает пептиды белков длиной 13 и более аминокислотных последовательностей в комплексе с молекулами HLAII класса. Соответственно, они отвечают активацией на стимуляцию данными комплексами и дифференцируются в функционально разные субпопуляции эффекторных клеток, ассоциированных с определенными факторами транскрипции, профилями цитокинов и мишенями. CD4+ клетки Th1 типа находятся под контролем транскрипционного фактора T-bet (T-box), продуцируют IL-2 и гамма-интерферон в больших количествах, определяют иммунный ответ на экспрессированные на мембране антигены внутриклеточных бактерий, вирусов и простейших [21].

Субпопуляция цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ CD8+ клеток) распознает пептиды длиной 8–10 аминокислотных последовательностей в комплексе с молекулами HLA I класса [15]. Цитотоксические Т-лимфоциты при антигенной стимуляции убивают инфицированные вирусом клетки посредством секреции молекул гранзима (перфорина) с образованием в мембране клеток-мишеней пор, что ведет к активации каспаз, апоптозу и лизису.

Антигенспецифические рецепторы Т-клеток характеризуются перекрестной реактивностью и способны реагировать на гомологичные пептиды белков разных инфекционных агентов [22]. Субпопуляции Т-клеток CD4+ Th17 контролируются транскрипционным фактором RoRyt (рецептор ретиноидной кислоты), секретируют IL-17, IL-22 и другие цитокины, которые привлекают нейтрофилы и моноциты. Они принимают участие в защите от внеклеточных патогенов бактериальной и паразитарной природы, а кроме того, участвуют в аутоиммунном воспалении и других иммуннообусловленных заболеваниях. Регуляторные Т-лимфоциты (T-reg) экспрессируют молекулу CD25 и транскрипционный фактор FOXP3 и выполняют ключевую противовоспалительную функцию, регулируя уровень иммуносупрессии и поддерживая иммунологический гомеостаз. Они ингибируют активность Th1 и Th17, продуцируя IL-10, IL-35 и трансформирующий фактор бета (TGF-β).

Роль и точные механизмы CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов в прогрессии или ингибиции SARS-CoV-2 исследованы недостаточно. Стимулированный воздействием антигенов иммунный ответ Т-клеток развивается в более ранние сроки в сравнении с антителообусловленным гуморальным ответом и характеризуется накоплением клонов вирусспецифических Т-лимфоцитов (CD4+ и CD8+ клеток) в количестве, достаточном для биосинтеза антител с более высокой силой связывания с антигенами вируса и Т-клеток, организующих воспаление и цитотоксические эффекты в отношении инфицированных вирусом клеток [22]. Уровень активации, пролиферации, миграции и специфической активности клонов Т-лимфоцитов регулируется продукцией и балансом CD4+ Т-хелперов (Th1 и Th2) и продуцируемых ими цитокинов. CD4+ клетки Th2 типа дифференцируются под влиянием фактора транскрипции, который связывается с последовательностью GATA, стимулируя фагоцитоз-независимый, эозинофил-обусловленный противопаразитарный иммунитет. Клетки данного типа в ответ на антигенную стимуляцию продуцируют интерлейкины 4, 5, 13, стимулирующие продукцию антител IgE класса, усиливают функциональный потенциал плазматических клеток в биосинтезе вирусспецифических антител, активируют эозинофилы и усиливают изгнание

гельминтов из тканей. CD4+ Th1 типа регулируют иммунный ответ против внутриклеточных патогенов, синтезируя значимые количества гамма-интерферона [23]. CD4+ клетки памяти дыхательных путей определяют механизмы локального противовирусного иммунитета слизистых. Кроме того, CD4+ Th1 типа ингибируют функции клеток Th2 типа. Баланс провоспалительных (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ6, ИЛ-8, ФНО-α и INF-γ) и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13, TGF-β) цитокинов также играет важную роль. Цитокиновый шторм обусловлен антигенной гиперстимуляцией лимфоцитов CD4+ Th1 типа, носит воспалительный характер и сопровождается повышенной секрецией активированными клетками цитокинов – ИЛ-1β, ИЛ-1R, ИЛ-7, ИЛ-8, ИЛ-9, ИЛ-10, G-CSF, GM-CSF, INF-γ, IP-10, MCP-1, MIP-1β, PDGF, TNF-α [15].

Интенсивность гуморальных и клеточных иммунологических реакцией ограничивается активацией субопуляции регуляторных CD4+CD25+Foxp3+ Т-лимфоцитов (T-reg). Показано, что интенсивность Т-зависимого иммунного ответа на эпитопы S-белка коррелирует с уровнем вирусспецифических антител IgM и IgG в сыворотке крови пациентов. CD8+ Т-лимфоциты участвуют в иммунном воспалении, а также играют ведущую роль в цитолизе инфицированных вирусом клеток-мишеней и удалении из циркуляции вирусных частиц. Снижение содержания в периферической крови CD3+, CD4+ и CD8+ клеток, а также уменьшение соотношения CD4+/CD8+ выявлено у пациентов со средним и тяжелым течением заболевания. Снижение содержания CD8+ Т- и В-лимфоцитов при увеличении соотношения CD4+/CD8+ рассматривается как предиктор неблагоприятного исхода терапии пациентов. Анализ обусловленного Т-клетками иммунного ответа у лиц, перенесших SARS-CoV инфекцию 9–11 лет назад, показал наличие в циркуляции Т-клеток памяти к структурным белкам S, M и N в отсутствие в организме циркулирующих антигенов вируса [24].

Коронавирусы обладают способностью подавлять механизмы адаптивного иммунного ответа на этапе распознавания его антигенов иммунокомпетентными клетками, индукции иммунного ответа, а также при реализации эффекторных иммунологических реакций. В иммунной защите организма от инфекции принимает участие широкий спектр и других клеток и молекул, скоординированно регулирующих во времени экспрессию множества генов иммунома организма хозяина. Факторы специфического противовирусного иммунитета (антитела, Т-клетки) в этот период нарабатываются опережающими в сравнении с воспроизводством вирусных компонентов и частиц темпами, количественно и функционально начинают доминировать в крови и тканях организма [24]. Они находят вирус и его компоненты в клетках, органах, крови и на слизистых, образуют иммунные комплексы, нейтрализуют их неблагоприятные взаимодействия со структурными компонентами организма и элиминируют вирусные частицы из организма [21].

Цитолиз, нейтрализация вирусов, удаление иммунных комплексов, иммуновоспалительный ответ, иммунное усиление инфекционного процесса и иммуносупрессия – главные составляющие компоненты молекулярно-клеточных механизмов патогенеза COVID-19.

Важнейшим свойством иммунной системы человека является чрезвычайно высокое генетическое разнообразие репертуара антигенспецифических рецепторов В- и Т-лимфоцитов, а также генов HLA I (A, B, C) и HLA II (DP, DR, DQ) классов [24]. С возрастом разнообразие наивных В- и Т-клеток уменьшается, а В- и Т-клеток памяти увеличивается, что, возможно, определяет повышенную восприимчивость лиц старших возрастных групп к инфекции по сравнению с лицами молодого и среднего возраста.

Следует отметить, что роль большинства генов и белков иммунома человека при этом заболевании недостаточно изучена и требует дальнейших усилий в этом направлении [15, 22, 24].

Инфекционный процесс и популяционный (коллективный) иммунитет. Популяция SARS-CoV-2 коронавируса генетически гетерогенна, изменчива и в настоящее время прогрессивно увеличивается. Появление новых высокоинфекционных вариантов вируса в разных странах и на разных континентах указывает на то, что вирус постоянно адаптируется к генетически неоднородной популяции человека, в ходе чего возникают новые генетические варианты, отличающиеся повышенной заразностью. Рост числа новых случаев заболевания в регионе, на континенте и планете в целом указывает и на рост численности популяции вируса, а уменьшение случаев заболеваемости приводит к уменьшению численности популяции вируса. Эти закономерности важны для осознания важности ограничения распространения вируса в целях эффективной борьбы с пандемией. Чрезвычайно важная роль в этой борьбе отводится средствам индивидуальной защиты, ограничительным мерам и созданию у населения коллективного иммунитета.

Коллективный иммунитет – состояние иммунной системы популяции человека, характеризующееся определенной степенью невосприимчивости к возникновению того или иного инфекционного заболевания, сформировавшейся в результате перенесенных случаев инфекции и/или массовой иммунизации. Защитный уровень антител у населения при этом должен достигать 80 % и выше. В результате его формирования передача вируса в популяции и частота случаев заболеваемости снижается с эпидемического до спорадического. Информация о постинфекционном коллективном иммунитете к SARS-CoV-2 в разных странах мира противоречива [18]. У 14–50 % лиц, перенесших SARS-CoV-2 инфекцию

в г. Москве (Россия), обнаружены вирусспецифические антитела. В Швейцарии с 6 апреля по 9 мая 2020 г. протестировано на наличие антител 2766 жителей Женевы в возрасте 20–49 лет. В первую неделю выявлено 4,8 % сероположительных лиц, во вторую – до 8,5 %, в третью – до 10,9 %, в четвертую – до 6,6 % [25]. В то же время в одном из регионов Италии с высоким уровнем заболеваемости и большим числом перенесших данную инфекцию лиц антитела выявлены у 47 % обследованных. Анализ крови 61 075 жителей Испании на наличие антител против SARS-CoV-2 показал положительный результат у 4,6–5,2 % [26].

Специалисты считают, что для прерывания цепочки передачи возбудителя среди населения необходимо достичь уровня коллективного иммунитета популяции в 80 % и более [18, 25, 26]. Также отмечено, что у перенесших инфекцию женщин наблюдается более быстрый и эффективный ответ Т-лимфоцитов по сравнению с таковым у мужчин. Возможно, это позволяет объяснить более высокую восприимчивость мужчин к инфекции и летальность от нее. Ответ CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов на антигенные детерминанты S- и M-белков обнаруживается в 100 % исследованных случаев.

Количественное измерение и оценка силы иммунного ответа на антигены вируса – ключевые элементы для понимания распространения COVID-19 и разработки эффективных вакцин. В крупных мегаполисах частота обнаружения противовирусных антител выше, чем в малых городах и сельской местности. У медицинских работников антитела выявляются в 2 раза чаще, чем среди населения. Около трети серопозитивных лиц переносили инфекцию бессимптомно, различий в частоте выявления антител в зависимости от пола не обнаружено [27]. К настоящему времени доля серопозитивных к SARS-CoV-2 лиц вследствие естественного инфицирования, перенесенного заболевания, а также вакцинации в разных странах мира составляет от 10 до 70 %.

Важно отметить, что в последние несколько десятилетий в популяции человека происходило множество качественных и количественных изменений: нарастала доля лиц с иммунокомпрометированной иммунной системой (пациенты с ВИЧ, вирусными гепатитами В и С, болезнями почек, онкологическими заболеваниями). При инфицировании такие пациенты неспособны развить противовирусный иммунитет в ответ на инфекцию достаточной для элиминации патогена силы [28], что может лежать в основе их повышенной восприимчивости (возникновение заболевания при меньшей инфицирующей дозе), а также ассоциироваться с более тяжелым течением болезни и летальностью.

Наиболее высокий уровень выделения вируса из носоглотки пациентов наблюдается в первую неделю от момента появления симптомов, достигая наибольшего уровня на 4-й день, что отражает активную репликацию вируса в верхних дыхательных путях. Вирусная нагрузка у лиц, инфицированных генетически измененными вариантами SARS-CoV-2 (британским, южноафриканским, бразильским, индийским и др.) многократно выше, они быстрее распространяются в популяции человека, вызывают более тяжелое течение заболевания. Продолжительность выделения вируса после исчезновения симптомов заболевания важно для понимания темпов распространения вируса, которые существенно варьируются, составляя от 8–20 дней (минимум) до 90 дней (максимум).

Мукозальный иммунитет. Неспецифическую и специфическую защиту организма от инфекционных агентов обеспечивают местные компоненты иммунной системы дыхательного, желудочно-кишечного и урогенитального трактов. К ним относятся ассоциированные со слизистыми лимфоидные ткани: лимфатические узлы, лимфоидные образования респираторного, кишечного и урогенитального трактов (миндалины, Пейеровы бляшки, солитарные фолликулы, аппендикс, ламина проприа, железистая ткань). Эти структуры содержат большое количество плазматических клеток (до 80 %), продуцирующих антитела, относящиеся к секреторным иммуноглобулинам А [28].

Иммунная система слизистых уникальна, так как является первой линией защиты от большинства экзогенных микроорганизмов. Она характеризуется определенной степенью автономности от центральной иммунной системы [29]. С другой стороны, слизистые являются входными воротами (порталом) для проникновения в организм разнообразных антигенов (аллергенов) окружающей среды, включая инфекционные агенты. Площадь поверхности бронхолегочного древа при вдохе варьируется от 35,0 до 100 м^2, обеспечивая ежедневное прохождение через дыхательные пути до 10 000 л воздуха. В свою очередь площадь слизистых желудочно-кишечного тракта может достигать до 300–350 м^2.

В развитии местного иммунного ответа слизистых важную роль играют специализированные эпителиальные М-клетки, транспортирующие растворимые антигены с внешней стороны слизистой в лимфоидную ткань подслизистой [29]. Транспортируемые М-клетками антигены вирусов активируют Т-лимфоциты непосредственно или в результате стимуляции праймированными антигенпрезентирующими дендритными клетками. Субпопуляции праймированных Т-лимфоцитов мигрируют в региональные лимфоузлы, секретируют цитокины, регулирующие синтез и продукцию секреторных sIgA [30]. Секреторные иммуноглобулины А, основные эффекторные молекулы слизистых, распознают поверхностные

антигены SARS-CoV-2 и взаимодействуют с ними, блокируя их связь с рецепторами и нейтрализуя их биологическую активность [28].

Вакцины против COVID-19. Интенсификация разработки вакцин против COVID-19 проводится во многих странах мира. Разработка и одобрение целого ряда вакцин спустя 1,5 года с момента выделения и секвенирования генома вируса представляется серьезным успехом. Для победы над пандемией COVID-19 нужны безопасные и эффективные вакцины. «Идеальная» вакцина должна удовлетворять ряду критериев: а) вводиться однократно (одна доза); б) не нуждаться в постоянном режиме холодовой цепи; в) вводиться без шприца; г) индуцировать долговременный иммунитет; д) не вызывать неблагоприятных реакций и осложнений; е) быть пригодной для масштабирования; ж) быть доступной для населения по стоимости [31].

Типичная схема создания вакцин включает ряд этапов по разработке, производству, доклинической и клинической оценке эффективности и безопасности, практической вакцинации населения, занимает около 7 лет и стоит от 50 до 500 млн долларов США. Эпидемическая ситуация с COVID-19 положила начало пересмотру традиционной парадигмы вакцинологии, направленной на усовершенствование известных и разработку новых технологических платформ создания вакцин, снижение затрат, минимизацию производственных площадей, сокращение сроков разработки (до 2–3 лет) и стоимости.

Нынешняя эпидемическая ситуация резко стимулировала производство вакцин в крайне экстремальных условиях. Успешность разработки вакцин более быстрыми темпами объясняется острой необходимостью в вакцинах, а также тем, что в ряде стран имелись крупные и средние биотехнологические компании-разработчики и компании-производители вакцин с необходимой инфраструктурой для масштабирования конечного продукта. У некоторых из них к началу пандемии уже имелись апробированные биотехнологические разработки, пригодные для создания вакцины против данного вируса. К марту 2021 г. более 82 кандидатных вакцин находились на стадии доклинических испытаний, 73 – на разных стадиях клинических испытаний, а 11 из них были одобрены для практического применения [32]. Разработка кандидатных вакцин базируется на известных и новых биотехнологических платформах:

инактивированные цельновирионные – «Ваккорона» (НИИ им. М. П. Чумакова, Россия), CoronaVac (Sinovac Biotech Ltd, Китай), BBIBP-CorV (Beijing Institute of Biological Products, Китай), QazCovid (Казахстан);

живые аттенуированные на основе ослабленного варианта вируса Codavax (Codagenix/Serum Institute, Индия; SpyBiotech, Великобритания/Индия);

векторные нереплицирующиеся, экпрессирующие белок S в системе аденовирусного вектора (AdV) – «ГамКовид-Вак» (Adv5/Adv26), «Спутник-V» (НИИ им. Н. Ф. Гамалеи, Россия), AZD1222 (AD chimpanze ChAdOx1 (Oxford) и AstraZeneca (Великобритания, Швеция), ad5 векторная (CanSino и Beijing Institute of Biotechnology, Китай);

векторные, реплицирующиеся на основе ослабленного вируса, экспрессирующего белок S (вирусы везикулярного стоматита, конской оспы, болезни Ньюкасла);

векторные, инактивированные на основе живых вирусных векторов, несущих белок S, и инактивированные по завершении производства;

ДНК-вакцины на основе ДНК-плазмиды, кодирующей белок S и репродуцирующейся в *E. coli* и других системах – INO-4800 (Inovio Pharmeceuticals, Южная Корея);

РНК-вакцины на основе мРНК, кодирующей S-антиген (доставка мРНК в цитоплазму клеток осуществляется в липидных наночастицах, защищающих от клеточных РНКаз; после введения в организм антиген экспрессируется в клетках человека и вызывает иммунный ответ) – mRNA-1273 (Moderna, США) и BNT162b2 (немецкая компания BioNTech и компания Pfaizer, США);

пептидные вакцины, содержащие синтетические пептиды S (1,2) белка (фрагмента, связывающегося с рецептором в составе наночастиц) – NVX-Cov2373 (компания Novavax), «ЭпиВакКорона» (Центр биотехнологий «Вектор», Россия) [27, 31, 32].

Иммунологическая и противоэпидемическая эффективность рекомендованных к использованию вакцин находится как на стадии научных исследований, так и на стадии массовой вакцинации населения, а также обсуждения результатов [33]. Ученые одновременно работают над созданием вакцин нового, второго, поколения.

К настоящему времени прошли доклинические и клинические испытания и рекомендованы к практическому использованию следующие вакцины:

1) инактивированные – CoronaVac (Sinovac/Bioteh, Китай), эффективность которой 60–90 %, а длительность иммунитета – 3–6 мес.; «ВакКорона» (НИИ им. М. П. Чумакова); Covishield (AstraZeneka, Великобритания (Институт сывороток, Индия); Covacxin («Бхарат Биотех», Индия), эффективность которой 60–90 %, а длительность иммунитета – до 6 мес.;

2) живая аттенуированная SpyBiotech (Великобритания);

3) векторные нереплицирующиеся – «Гам-КОВИД-Вак», Sputnik V (НИИ им. Гамалеи, Россия) – эффективность более 91,6 %, создает иммунитет до 2 лет; CanSino (AdV5), оксфордская/AstraZeneca (ChAdOx1, nCoV-19 и GRAd-COV-2) – эффективность 60 %, длительность иммунитета до 6 мес;

4) пептидная вакцина «ЭпиВакКорона» (научный центр «Вектор», Россия) на основе пептидных антигенов вируса;

5) РНК-ые – BNT162b2 (BioNTech и Pfizer) и mRNA-1273 (Moderna) – содержат молекулы вирусной мРНК в форме липидных наночастиц, эффективность этих вакцин составляет 95 и 94,5 % соответственно.

В настоящее время во многих развитых странах охват населения вакцинацией достиг 50–70 %. Вакцинация позволяет выработать напряженный и длительный иммунитет. При этом она защищает привитых от тяжелого течения и летальных исходов, но не защищает от возможного инфицирования и заболевания.

Мукозальные вакцины. Принимая во внимание исключительную роль слизистых дыхательного и желудочно-кишечного трактов в проникновении вируса SARS-CoV-2 в энтероциты и особенности распространения и проявления клинических признаков, иммунизация путем назального или орального введения вакцины представляется эффективной стратегией иммунопрофилактики COVID-19. Интраназальная иммунизации мышей SARS-CoV индуцировала выраженный локальный и системный иммунный ответ [34].

Платформой для разработки мукозальных вакцин против SARS-CoV-2 могут быть ослабленные живые вакцины, цельные инактивированные, субъединичные, пептидные, на основе вирусоподобных частиц, векторные, ДНК- и РНК-вакцины.

Шиповидный S-белок является основным антигеном среди других структурных белков (E, M, N). Данный белок или его домены (РСД/РСМ) рекомендуются к использованию в качестве главных иммуногенов вакцин. Вторым по значимости антигеном для индукции мукозального иммунитета является N-белок. Он индуцирует B- и T-клеточный иммунный ответ [35].

В последние годы все шире используется методология компьютерного поиска иммунодоминантных эпитопов (мотивов) для B- и T-лимфоцитов в структуре белков вириона с целью выявления наиболее иммуногенных их последовательностей и оптимизации антигенного состава вакцин.

Генетическое разнообразие и эволюция вируса. В одной из ранних работ P. Foster с соавт. [36] с помощью филогенетического анализа 160 геномов SARS-CoV-2 было установлено три доминирующих варианта вируса, отличающихся заменами нуклеотидов, – A, B и C. Генотип A является предковым вариантом в соответствии с использованием вируса летучих мышей в качестве внешней группы. Генотипы A и C чаще обнаруживались за пределами Азии, в Европе и Америке. В противоположность этому генотип B интенсивнее распространялся в странах Азии. Затем X. Yang с соавт. [37] с помощью филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей геномов вируса в период пандемии 2020 г. выделили четыре генетических кластера суперраспространяющихся генотипов – SS1, SS2, SS3 и SS4, определяющих динамику распространения заболевания на территории разных стран и континентов.

Временной анализ эволюции вируса показал, что предковым штаммом этого вируса, возникшего примерно в ноябре 2019 г. в г. Ухань, являлся штамм оригинального вируса SARS-CoV, который затем эволюционировал и стал интенсивно распространяться в популяции человека.

В настоящее время [38] выделяют четыре филогенетических линии – L, S, V и G. Линия G в дальнейшем разделилась на три, включая G, GH и GR. Для представителей каждого кластера вирусов характерна одна или более уникальных мутаций [39, 40]. С учетом глобальной значимости вируса представляет большой интерес роль новых генетических линий вирусов, характеризующихся определенным спектром мутаций и обусловливающих скорость распространения в популяциях человека на территории определенных регионов (Великобритания, Южная Африка, Бразилия, Индия и др.), и их ассоциаций с генетическими маркерами иммунной системы (аллелями HLA генов, генов иммуноглобулинов, рецепторов Т-клеток). Это позволит пролить свет на связь репродуктивности вируса и инфекционности возникающих генетических вариантов с определенными генетическими маркерами иммунной системы человека, оценить интенсивность распространения, селекцию и контроль иммунной системой, а также характер клинического течения COVID-19 (тяжесть, летальность) [41].

Заключение. Закономерности распространения и характер протекания инфекционных заболеваний в популяции человека с середины XX до начала XXI в. претерпели существенные количественные и качественные изменения. Интенсивное развитие фундаментальных и прикладных научных исследований в области вирусологии, бактериологии, иммунологии и эпидемиологии за короткие сроки обеспечило впечатляющие результаты по разработке профилактических (вакцин, сывороток, бактериофагов) и диа-

гностических иммунобиологических и молекулярно-генетических препаратов для диагностики, лечения и профилактики широко распространенных на тот период инфекционных заболеваний.

Глобальная иммунизация и усовершенствование национальных календарей прививок дали возможность осуществить масштабные программы борьбы с инфекциями на всех континентах. Так, была ликвидирована такая серьезная инфекция, как натуральная оспа, снизилась заболеваемость полиомиелитом, корью, краснухой, эпидпаротитом, бешенством, гепатитами А и В, дифтерией, коклюшем, гемофильной, менингококковой и пневмококковой инфекциями, столбняком, лепрой, чумой, холерой и многими другими, резко снизились тяжелые осложнения от перенесенных инфекций и летальность от них. Эти достижения способствовали повышению качества жизни людей, сохранению здоровья, росту продолжительности жизни и, соответственно, ускоренному росту населения планеты.

В настоящее время население планеты приближается к 8,0 млрд. Оно растет и уплотняется, образуются мегаполюсы с населением до 20,0 млн человек и более, что способствует облегченной передаче инфекционных агентов от источника инфекции к чувствительным к инфекции индивидам. Особое значение в распространении вируса в популяции человека приобретают отдельные индивиды – суперраспространители, заражающие до 100 и более здоровых лиц, часть из которых затем также становятся суперраспространителями. В передаче инфекционных агентов имеют значение тесные контакты людей в общественном транспорте, на массовых мероприятиях, на крупных предприятиях, в учебных заведениях и учреждениях и др. Следует отметить, что плотность населения в ряде регионов мира очень высокая. В настоящее время свыше 4,0 млрд человек проживает на территории, занимающей менее 1 % суши.

Параллельно с этими процессами в популяции человека стали выявляться случаи возникновения новых, ранее неизвестных инфекционных заболеваний и их возбудителей, экстремально резистентных к антимикробным препаратам бактерий, новые механизмы передачи и инфицирования человека. Так, в последние 50 лет открыто более 70 возбудителей новых инфекционных заболеваний, что создает новые угрозы здоровью населения планеты и требует незамедлительного реагирования на возникающие угрозы. Кроме того, сформировалось представление о «возникающих инфекциях». Частота этих инфекций может увеличиться в ближайшие десятилетия (20–30 лет) и иметь серьезное медицинское, социальное и экономическое значение. На их долю приходится около 12 % значимых для медицины инфекционных агентов. К ним относятся генетические варианты коронавирусов, вирусы геморрагической лихорадки, кори, вирусы гриппа, ОРВИ, ВИЧ, возбудители дифтерии, лекарственно устойчивый туберкулез и др.

Причинами возникновения новых инфекций являются: а) совершенствование методов диагностики (обнаружения и идентификации) возбудителей, что позволяет быстро установить их этиологию; б) совершенствование системы регистрации заболеваний и организации мониторинга; в) распространение возбудителей из природных очагов инфекции; г) широкое применение противомикробных препаратов; д) ускорение темпов эволюции геномов возбудителей; е) воздействие неблагоприятных факторов внешней среды на геномы инфекционных агентов, вызывающих генетические модификации и адаптацию к новым хозяевам [41].

Пандемия, вызванная SARS-CoV-2, экстраординарна по темпам и интенсивности распространения в популяциях человека на разных континентах, медицинским и социальным последствиям. Случаи инфекции зарегистрированы в 221 стране. Ежедневно выявляемое число инфицированных приближается к 1 млн, а число летальных исходов достигает 15–25 тыс. ежесуточно. Суммарное количество выявленных инфицированных в мире на 13.10.2021 г. достигло 239,5 млн, а погибших – более 4,0 млн [42].

В Республике Беларусь число случаев инфекции на этот период составило 561 753 случая, а летальных исходов – 4319 [43]. В топ-5 входят следующие страны: США – 45,4 млн, Индия – 34,14 млн, Бразилия – 21,6 млн, Великобритании – 8,23 млн, Россия – 7,86 млн человек. В результате инфицирования погибло 4,089 млн человек [42]. В целом, несмотря на неблагоприятность эпидемической ситуации по COVID-19 в мире, темпы заболеваемости снижаются [32].

Позитивным в борьбе с инфекцией является принятие в Республике Беларусь программы массовой иммунизации населения российской векторной вакциной Sputnik V и вирионной китайской вакциной Vero Cell, решение о производстве векторной вакцины Sputnik V компанией «Белмедпрепараты», а также о государственной поддержке научных исследований по разработке прототипа отечественной цельновирионной вакцины против COVID-19. Министерство здравоохранения Беларуси при поддержке Европейского регионального бюро ВОЗ планирует проведение масштабного исследования иммунитета граждан к короновирусу.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена в рамках проекта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований «Разработка и скрининг мукозной вакцины против COVID-19», № госрегистрации 2210889.

Acknowledgements. The work was carried out within the framework of the project of the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research “Development and screening of mucosal vaccine against COVID-19”, state registration number 2210889.

Список использованных источников

1. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019 / N. Zhu [et al.] // N. Eng. J. Med. – 2020. – Vol. 382, N 8. – P. 727–733. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017

2. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China / C. Huang [et al.] // Lancet. – 2020. – Vol. 395, N 10223. – P. 497–506. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5

3. Львов, Д. К. Истоки пандемии COVID-19: экология и генетика коронавирусов (Betacoronavirus: Coronaviridae) SARS-CoV, SARS-CoV-2 (подрод *Sarbecovirus*), MERS–CoV (подрод *Merbecovirus*) / Д. К. Львов, С. В. Альховский // Вопросы вирусологии. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 62–70.

4. Харченко, Е. П. Коронавирус SARS-CoV-2: особенности структурных белков, контагиозность и возможные иммунные коллизии / Е. П. Харченко // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2020. – Т. 19, № 2. – С. 13–30. https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-20-2-13-30

5. Титов, Л. П. Вирусология: терминологический словарь / Л. П. Титов. – Минск : Минсктиппроект, 2009. – 445 с.

6. SARS-CoV-2 envelope and membrane proteins: structural differences linked to virus characteristics? / M. Bianchi [et al.] // BioMed Res. Int. – 2020. – Vol. 2020. – Art. ID 4389089. https://doi.org/10.1155/2020/4389089

7. Update vision on COVID-19: structure, immune pathogenesis, treatment and safety assessment / R. Agrahari [et al.] // Sensors Int. – 2021. – Vol. 2. – Art. 100073. https://doi.org/10.1016/j.sintl.2020.100073

8. Minireview of progress in the structural study of SARS-CoV-2 proteins / G. Zhu [et al.] // Curr. Res. Microb. Sci. – 2020. – Vol. 1. – P. 53–61. https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2020.06.003

9. Su, S. A suspicious role of interferon in the pathogenesis of SARS-CoV-2 by enhancing expression of ACE2 / S. Su, S. Jiang // Signal Transduct. Target Ther. – 2020. – Vol. 5, N 71. – P. 1–2. https://doi.org/10.1038/s41392-020-0185-z

10. Distribution of ACE2, CD147, CD26 and other SARS-CoV-2 associated molecules in tissues and immune cells in health and in asthma, COPD, obesity, hypertension, and COVID-19 risk factors / U. Radzikowska [et al.] // Allergy. – 2020. – Vol. 75, N 11. – P. 2829–2845. https://doi.org/10.1111/all.14429

11. Титов, Л. П. Медицинская геномика: организация генома, регуляция экспрессии генов, генетическая вариабельность / Л. П. Титов // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2015. – № 4. – С. 97–113.

12. Kaushic, C. Understanding immune responses to SARS-CoV-2 / C. Kaushic // RSC COVID-19 series. – 2020. – N 28. – P. 1–14.

13. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2 / P. V'kovski [et al.] // Nat. Rev. Microbiol. – 2020. – Vol. 19, N 3. – P. 155–170. https://doi.org/10.1038/s41579-020-00468-6

14. Титов, Л. П. Генетика и вирулентность вирусов / Л. П. Титов // Проблемы бактериологии и иммунологии : материалы юбил. науч. конф. (к 80-летию кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии БГМУ) / под ред. Л. П. Титова. – Минск, 2005. – С. 106–115.

15. Титов, Л. П. Противовирусный иммунитет: молекулярно-клеточные механизмы, закономерности развития и иммунопатология / Л. П. Титов, И. А. Карпов // Мед. журн. – 2007. – № 1. – С. 1–31.

16. Immune responses and immunity to SARS-CoV-2 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.ecdc.europa.eu/en/covid–19/latest–evidence/immune– responses. – Дата доступа: 20.04.2021.

17. SARS-CoV-2 antibody testing-questions to be asked / M. K. Özçürümez [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2020. – Vol. 146, N 1. – P. 35–43. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.05.020

18. Пащенков, М. В. Иммунный ответ против эпидемических коронавирусов / М. В. Пащенков, Р. М. Хаитов // Иммунология. – 2020. – Т. 41, № 1. – С. 5–18.

19. Two linear epitopes on the SARS-CoV-2 spike protein that elicit neutralising antibodies in COVID-19 patients / C. M. Poh [et al.] // Nat. Commun. – 2020. – Vol. 11, N 2806. – P. 1–7. https://doi.org/10.1038/s41467-020-16638-2

20. SARS-CoV-2 reactive T cells in uninfected individuals are likely expanded by beta-coronaviruses / U. Stervbo [et al.] // bioRxiv. – 2020. – 16 p. https://doi.org/10.1101/2020.07.01.182741

21. T cells: warriors of SARS-CoV-2 infection / P. de Candia [et al.] // Trends Immunol. – 2021. – Vol. 42, N 1. – P. 18–30. https://doi.org/10.1016/j.it.2020.11.002

22. Cell-mediated immune responses to COVID-19 infection / A. Guihot [et al.] // Front. Immunol. – 2020. – Vol. 11. – Art. 1662. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01662

23. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19 / A. K. Azkur [et al.] // Allergy. – 2020. – Vol. 75, N 7. – P. 1564–1581. https://doi.org/10.1111/all.14364

24. Gutierrez, L. Deciphering the TCR repertoire to solve the COVID-19 Mystery / L. Gutierrez, J. Beckford, H. Alachkar // Trends Pharmacol. Sci. – 2020. – Vol. 41, N 8. – P. 518–530. https://doi.org/10.1016/j.tips.2020.06.001

25. Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies in Geneva, Switzerland (SEROCoV-POP): a population-based study / S. Stringhini [et al.] // Lancet. – 2020. – Vol. 396, N 10247. – P. 1–7. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31304-0

26. Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE–COVID): a nationwide, population-based seroepidemiological study / M. Pollán [et al.] // Lancet. – 2020. – Vol. 396, N 10250. – P. 1–11. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31483-5

27. SARS-CoV-2 proteome microarray for mapping COVID-19 antibody interactions at amino acid resolution / H. Wang [et al.] // ACS Cent. Sci. – 2020. – Vol. 6, N 12. – P. 2238–2249. https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c00742

28. Титов, Л. П. Иммунология: терминологический словарь / Л. П. Титов. – М. : МИА, 2008. – 512 с.

29. Mudgal, R. Prospects for mucosal vaccine: shutting the door on SARS-CoV-2 / R. Mudgal, S. Nehul, S. Tomar // Hum. Vaccin. Immunother. – 2020. – Vol. 16, N 12. – P. 2921–2931. https://doi.org/10.1080/21645515.2020.1805992

30. Outcome of SARS-CoV-2 infection is linked to MAIT cell activation and cytotoxicity / H. Flament [et al.] // Nat. Immunol. – 2021. – Vol. 22, N 3. – P. 322–335. https://doi.org/10.1038/s41590-021-00870-z

31. Анализ перспективных направлений создания вакцин против COVID-19 / Г. Г. Онищенко [и др.] // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2020. – Т. 20, № 4. – С. 216–227.

32. COVID-19 vaccine [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://en.wikipedia.org/wiki/COVID–19_vaccine. – Дата доступа: 20.04.2021.

33. Huang, Q. SARS-CoV-2 virus: vaccines in development / Q. Huang, J. Yan // Fund. Res. – 2021. – Vol. 1, N 2. – P. 131–138. https://doi.org/10.1016/j.fmre.2021.01.009

34. Intranasal immunization with inactivated SARS-CoV (SARS-associated coronavirus) induced local and serum antibodies in mice / D. Qu [et al.] // Vaccine. – 2005. – Vol. 23, N 7. – P. 924–931. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2004.07.031

35. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19 / B. Hu [et al.] // Nat. Rev. Microbiol. – 2021. – Vol. 19, N 3. – P. 141–154. https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7

36. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes / P. Forster [et al.] // PNAS. – 2020. – Vol. 117, N 17. – P. 9241–9243. https://doi.org/10.1073/pnas.2004999117

37. Genetic cluster analysis of SARS-CoV-2 and the identification of those responsible for the major outbreaks in various countries / X. Yang [et al.] // Emerg. Microbiol. Infect. – 2020. – Vol. 9, N 1. – P. 1287–1299. https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1773745

38. A global analysis of replacement of genetic variants of SARS-CoV-2 in association with containment capacity and changes in disease severity / Z. Chen [et al.] // Clin. Microbiol. Infect. – 2021. – Vol. 27, N 5. – P. 750–757. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.01.018

39. Abduljalil, J. Epidemiology, genome, and clinical features of the pandemic SARS- Cov-2: a recent view / J. Abduljalil, B. Abduljalil // New Microb. New Infect. – 2020. – Vol. 35. – P. 100672. https://doi.org/10.1016/j.nmni.2020.100672

40. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology / A. Rambaut [et al.] // Nat. Microbiol. – 2020. – Vol. 5, N 11. – P. 1403–1407. https://doi.org/10.1038/s41564-020-0770-5

41. Титов, Л. П. Геномико-протеомические основы эволюции и молекулярной эпидемиологии вирусов / Л. П. Титов, В. И. Вотяков // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2011. – № 1. – С. 109–124.

42. COVID-19 pandemic [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://en.wikipedia.org/wiki/COVID–19_pandemic. – Дата доступа: 20.04.2021.

43. COVID-19 pandemic in Belarus [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://en.wikipedia.org/wiki/COVID–19_pandemic_in_Belarus. – Дата доступа: 20.04.2021.

References

1. Zhu N., Zhang D., Wang W., Li X., Yang B., Song J. [et al.]. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*, 2020, vol. 382, no. 8, pp. 727–733. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017

2. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y. [et al.]. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, 2020, vol. 395, no. 10223, pp. 497–506. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5

3. L'vov D. K., Al'khovskii S. V. Source of the COVID-19 pandemic: ecology and genetics of coronaviruses (Betacoronavirus: Coronaviridae) SARS-CoV, SARS-CoV-2 (subgenus *Sarbecovirus*), and MERS–CoV (subgenus *Merbecovirus*). *Voprosy virusologii* [Virology issues], 2020, vol. 65, no. 2, pp. 62–70 (in Russian).

4. Kharchenko E. P. The Coronavirus SARS-Cov-2: the characteristics of structural proteins, contagiousness, and possible immune collisions. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika* [Epidemiology and vaccinal prevention], 2020, vol. 19, no. 2, pp. 13–30 (in Russian). https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-20-2-13-30

5. Titov L. P. *Virology: Terminological dictionary.* Minsk, Minsktipproekt Publ., 2009. 445 p. (in Russian).

6. Bianchi M., Benvenuto D., Giovanetti M., Angeletti S., Ciccozzi M., Pascarella S. SARS-CoV-2 envelope and membrane proteins: structural differences linked to virus characteristics? *BioMed Research International*, 2020, vol. 2020, art. ID 4389089. https://doi.org/10.1155/2020/4389089

7. Agrahari R., Mohanty S., Vishwakarma K., Nayak S. K., Samantaray D., Mohapatra S. Update vision on COVID-19: structure, immune pathogenesis, treatment and safety assessment. *Sensors International*, 2021, vol. 2, art. 100073. https://doi.org/10.1016/j.sintl.2020.100073

8. Zhu G., Zhu C., Zhu Y., Sun F. Minireview of progress in the structural study of SARS-CoV-2 proteins. *Current Research in Microbial Sciences*, 2020, vol. 1, pp. 53–61. https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2020.06.003

9. Su S., Jiang S. A suspicious role of interferon in the pathogenesis of SARS-CoV-2 by enhancing expression of ACE2. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2020, vol. 5, no. 71, pp. 1–2. https://doi.org/10.1038/s41392-020-0185-z

10. Radzikowska U., Ding M., Tan G., Zhakparov D., Peng Y., Wawrzyniak P. [et al.]. Distribution of ACE2, CD147, CD26 and other SARS-CoV-2 associated molecules in tissues and immune cells in health and in asthma, COPD, obesity, hypertension, and COVID-19 risk factors. *Allergy*, 2020, vol. 75, no. 11, pp. 2829–2845. https://doi.org/10.1111/all.14429

11. Titov L. P. Medical genomics: human genome organization, gene expression regulation and genetic variability. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2015, no. 4, pp. 97–113 (in Russian).

12. Kaushic C. Understanding immune responses to SARS-Cov-2. *RSC COVID-19 series*, 2020, no. 28, pp. 1–14.

13. V'kovski P., Kratzel A., Steiner S., Stalder H., Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-Cov-2. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, vol. 19, no. 3, pp. 155–170. https://doi.org/10.1038/s41579-020-00468-6

14. Titov L. P. Genetics and virulence of viruses. *Problemy bakteriologii i immunologii : materialy yubileinoi nauchnoi konferentsii k 80-letiyu kafedry mikrobiologii, virusologii, immunologii BGMU (6 fevralya 2004 goda, Minsk)* [Problems of

bacteriology and immunology: materials of the jubilee scientific conference dedicated to the 80th anniversary of the Department of Microbiology, Virology, Immunology, BSMU (February 6, 2004, Minsk)]. Minsk, 2005, pp. 106–115 (in Russian).

15. Titov L. P., Karpov I. A. Antiviral immunity: molecular and cellular mechanisms, patterns of development and immunopathology. *Meditsinskii zhurnal* [Medical journal], 2007, no. 1, pp. 1–31 (in Russian).

16. *Immune responses and immunity to SARS-CoV-2 (2021).* Available at: https://www.ecdc.europa.eu/en/covid–19/latest–evidence/immune–responses (accessed 20.04.2021).

17. Özçürümez M. K., Ambrosch A., Frey O., Haselmann V., Holdenrieder S., Kiehntopf M. [et al.]. SARS-CoV-2 antibody testing-questions to be asked. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2020, vol. 146, no. 1, pp. 35–43. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.05.020

18. Pashchenkov M. V., Khaitov R. M. Immune response against epidemic coronaviruses. *Immunologiya* [Immunology], 2020, vol. 41, no. 1, pp. 5–18 (in Russian).

19. Poh C. M., Carissimo G., Wang B., Amrun S. N., Lee C. Y.-P., Chee R. S.-L. [et al.]. Two linear epitopes on the SARS-CoV-2 spike protein that elicit neutralising antibodies in COVID-19 patients. *Nature Communications*, 2020, vol. 11, no. 2806, pp. 1–7. https://doi.org/10.1038/s41467-020-16638-2

20. Stervbo U., Rahmann S., Roch T., Westhoff T., Babel N. SARS-CoV-2 reactive T cells in uninfected individuals are likely expanded by beta-coronaviruses. *bioRxiv*, 2020. 16 p. https://doi.org/10.1101/2020.07.01.182741

21. de Candia P., Prattichizzo F., Garavelli S., Matarese G. T cells: warriors of SARS-CoV-2 infection. *Trends in Immunology*, 2021, vol. 42, no. 1, pp. 18–30. https://doi.org/10.1016/j.it.2020.11.002

22. Guihot A., Litvinova E., Autran B., Debré P., Vieillard V. Cell-mediated immune responses to COVID-19 infection. *Frontiers in Immunology*, 2020, vol. 11, art. 1662. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01662

23. Azkur A. K., Akdis M., Azkur D., Sokolowska M., Veen W., Brüggen M., O'Mahony L., Gao Y., Nadeau K., Akdis C. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy*, 2020, vol. 75, no. 7, pp. 1564–1581. https://doi.org/10.1111/all.1436424

24. Gutierrez L., Beckford J., Alachkar H. Deciphering the TCR repertoire to solve the COVID-19 mystery. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2020, vol. 41, no. 8, pp. 518–530. https://doi.org/10.1016/j.tips.2020.06.001

25. Stringhini S., Wisniak A., Piumatti G., Azman A., Lauer S., Baysson H. [et al.]. Seroprevalence of anti- SARS-CoV-2 IgG antibodies in Geneva, Switzerland (SEROCoV-POP): a population-based study. *Lancet*, 2020, vol. 396, no. 10247, pp. 1–7. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31304-0

26. Pollán M., Perez-Gomez B., Pastor-Barriuso R., Oteo J., Hernán M., Pérez-Olmeda M. [et al.]. Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE–COVID): a nationwide, population-based seroepidemiological study. *Lancet*, 2020, vol. 396, no. 10250, pp. 1–11. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31483-5

27. Wang H., Wu X., Zhang X., Hou X., Liang T., Wang D. [et al.]. SARS-CoV-2 proteome microarray for mapping COVID-19 antibody interactions at amino acid resolution. *ACS Central Science*, 2020, vol. 6, no. 12, pp. 2238–2249. https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c00742

28. Titov L. P. *Immunology: Terminological dictionary*. Moscow, MIA Publ., 2008. 512 p. (in Russian).

29. Mudgal R., Nehul S., Tomar S. Prospects for mucosal vaccine: shutting the door on SARS-Cov-2. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 2020, vol. 16, no. 12, pp. 2921–2931. https://doi.org/10.1080/21645515.2020.1805992

30. Flament H., Rouland M., Beaudoin L., Toubal A., Bertrand L., Lebourgeois S. [et al.]. Outcome of SARS-CoV-2 infection is linked to MAIT cell activation and cytotoxicity. *Nature Immunology*, 2021, vol. 22, no. 3, pp. 322–335. https://doi.org/10.1038/s41590- 021-00870-z

31. Onishchenko G. G., Sizikova T. E., Lebedev V. N., Borisevich S. V. Analysis of promising approaches to COVID-19 vaccine development. *Biopreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie* [BIOpreparations. Prevention, diagnosis, treatment], 2020, vol. 20, no. 4, pp. 216–227 (in Russian).

32. *COVID-19 vaccine (2021).* Available at: https://en.wikipedia.org/wiki/COVID– 19_vaccine (accessed 20.04.2021).

33. Huang Q., Yan J. SARS-CoV-2 virus: vaccines in development. *Fundamental Research*, 2021, vol. 1, no. 2, pp. 131–138. https://doi.org/10.1016/j.fmre.2021.01.009

34. Qu D., Zheng B., Yao X., Guan Y., Yuan Z.-H., Zhong N.-S., Lu L.-W., Xie J.-P., Wen Y.-M. Intranasal immunization with inactivated SARS-CoV (SARS-associated coronavirus) induced local and serum antibodies in mice. *Vaccine*, 2005, vol. 23, no. 7, pp. 924–931. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2004.07.031

35. Hu B., Guo H., Zhou P., Shi Z.-L. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews. Microbiology*, 2021, vol. 19, no. 3, pp. 141–154. https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7

36. Forster P., Forster L., Renfrew C., Forster M. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2020, vol. 117, no. 17, pp. 9241–9243. https://doi.org/10.1073/pnas.2004999117

37. Yang X., Dong N., Chan E. W.-C., Chen S. Genetic cluster analysis of SARS-CoV-2 and the identification of those responsible for the major outbreaks in various countries. *Emerging Microbes and Infections*, 2020, vol. 9, no. 1, pp. 1287–1299. https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1773745

38. Chen Z., Chong K. C., Wong M. C. S., Boon S. S., Huang J., Wang M. H., Ng R. W. Y., Lai C. K. C., Chan P. K. S. A global analysis of replacement of genetic variants of SARS-CoV-2 in association with containment capacity and changes in disease severity. *Clinical Microbiology and Infection*, 2021, vol. 27, no. 5, pp. 750–757. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.01.018

39. Abduljalil J., Abduljalil B. Epidemiology, genome, and clinical features of the pandemic SARS-Cov-2: a recent view. *New Microbes and New Infect*, 2020, vol. 35, p. 100672. https://doi.org/10.1016/j.nmni.2020.100672

40. Rambaut A., Holmes E. C., O'Toole Á., Hill V., McCrone J. T., Ruis C., du Plessis L., Pybus O. G. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nature Microbiology*, 2020, vol. 5, no. 11, pp. 1403–1407. https://doi.org/10.1038/s41564-020-0770-5

41. Titov L. P., Votyakov V. I. Genomico-proteomical basis of the evolution and molecular epidemiology viruses, microorganisms and their biomacromolecules. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2011, no. 1, pp. 109–124 (in Russian).

42. *COVID-19 pandemic (2021).* Available at: https://en.wikipedia.org/wiki/COVID– 19_pandemic (accessed 20.04.2021).

43. COVID-19 pandemic in Belarus (2021). Available at: https://en.wikipedia.org/wiki/COVID–19_pandemic_in_Belarus (accessed 20.04.2021).

Информация об авторах

Титов Леонид Петрович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: leotit310@gmail.com

Спринджук Матвей Владимирович – канд. техн. наук. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, г. Минск, Республика Беларусь).

Information about the authors

Leonid P. Titov – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: leotit310@gmail.com

Matvey V. Sprindzuk – Ph. D. (Eng.). United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus (6, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus).