

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

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК. 2025. Т. 22, № 1

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК. 2025. Т. 22, № 1

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

Василий Генрихович Богдан –

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

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 имени 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
- Р. Р. Сидорович** – Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Республика Беларусь
- И. О. Стома** – Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Республика Беларусь
- А. В. Строчкий** – Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь
- Д. В. Тапальский** – Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
- Л. П. Титов** – Республиканский научно-практический центр микробиологии и эпидемиологии, Минск, Республика Беларусь

Редакционный совет

- Эдуардас Алекнавичюс** – Национальный институт рака, Вильнюс, Литовская Республика
- Марк М. Ван Гулле** – Университет Лёвена, Лёвен, Королевство Бельгия
- Драган Дьюрич** – Институт медицинской физиологии Ричарда Бьюриана Университета Белграда, Белград, Республика Сербия
- Т. П. Ключник** – Научный центр психического здоровья, Москва, Российская Федерация
- Марк-Антуан Кусто** – Анжерский университет, Анже, Французская Республика
- 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
- В. П. Чехонин** – Российская академия 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. 2025. Том 22, № 1
Выходит на русском, белорусском и английском языках

Редактор *В. Г. Колосовская*
Компьютерная верстка *Ю. А. Агейчик*

Подписано в печать 06.02.2025. Выход в свет 26.02.2025. Формат 60×84¹/₈. Бумага офсетная.
Печать цифровая. Усл. печ. л. 10,23. Уч.-изд. л. 11,3. Тираж 32 экз. Заказ 21.
Цена номера: индивидуальная подписка – 14,48 руб., ведомственная подписка – 33,64 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, 220084, г. Минск, Республика Беларусь

© РУП «Издательский дом «Беларуская навука»,
Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук, 2025

PROCEEDINGS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

MEDICAL SERIES, 2025, vol. 22, no. 1

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

Editor-in-Chief

Vasily G. Bogdan –

Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Editorial Board

Oleg O. Rummo (*Associate Editor-in-Chief*) – Minsk Scientific-Practical Center of Surgery, Transplantation
and Hematology, Minsk, Republic of Belarus

Valentina G. Kolosovskaya (*Leading 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 for Pulmonology and Tuberculosis, Minsk,
Republic of Belarus

Sergei L. Kabak – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Nina P. Kanunnikova – Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Republic of Belarus

Sergei A. Krasny – N. N. Alexandrov National Cancer Centre, Minsk, Republic of Belarus

Natalia P. Mitkovskaya – Republican Scientific and Practical Centre of 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

Ryszard R. Sidorovich – Republican Research and Practical Center of Neurology and Neurosurgery, Minsk,
Republic of Belarus

Igor O. Stoma – Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

Alexandr V. Strotsky – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Dmitry V. Tapalsky – Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Leonid P. Titov – Republican Scientific and Practical Centre of Microbiology and Epidemiology, Minsk, Republic of Belarus

Frantishek I. Vismont – Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Editorial Council

Eduardas Aleknavicius – National Cancer Institute, Vilnius, Republic of Lithuania

Vladimir P. Chekhonin – Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

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

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

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, 2025, vol. 22, no. 1.

Printed in Russian, Belarusian and English languages

Editor *V. G. Kolosovskaya*

Computer imposition *Yu. A. Aheichyk*

It is sent of the press 06.02.2025. Appearance 26.02.2025. Format 60×84¹/₈. Offset paper. The press digital.

Printed pages 10.23. Publisher's signatures 11.3. Circulation 32 copies. Order 21.

Number price: individual subscription – 14.48 byn., departmental subscription – 33.64 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, 220084, Republic of Belarus.

© RUE "Publishing House "Belaruskaya Navuka",
Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series, 2025

ЗМЕСТ

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

Яновіч О. О., Тітов Л. П. Аналіз генетычнай структуры ізолятаў <i>Acinetobacter baumannii</i> , выдзеленных ад пацыентаў аддзяленняў хірургіі і рэанімацыі медучрежденияў розных рэгіёнаў Рэспублікі Беларусь	7
Левченко К. В., Мицура В. М., Тапальскі Д. В., Карпова Е. В., Бондаренко В. Н. Клінічна-мікробіялагічная характарыстыка вірусна-бактэрыяльнай пнеўмоніі, вызваннай <i>Klebsiella pneumoniae</i> , у пацыентаў, інфіцыраваных SARS-CoV-2	17
Бекжанова О. Е., Рубніковіч С. П., Каюмова В. Р., Денісова Ю. Л., Егорова К. Ю. Сімптомы постковіднага станова ротавай полости і іх уплыв на рыск развіцця стаматалагічнай паталогіі (на англ. яз.)	26
Кабак С. Л., Мельніченко Ю. М., Саврасова Н. А., Юферава М. П., Шевчук Т. А. Лінейныя і аб'ёмныя параметры пазухі кліновіднай касты па даным конусна-лучевай камп'ютэрнай тамографіі	33
Костинов М. П., Зверев В. В., Татевосов В. Р., Гайнітдынова В. В., Полищук В. Б., Осипцов В. Н., Губань В. И., Ястребова Н. Е., Курбатова Е. А., Маркелова Е. В., Шубин И. В. Бактэрыяльныя ліганды ў комплексным леченні внебольничных пнеўмоній у арганізаваных каллекцівах	45
Жерносеченко А. А., Исайкина Я. И. Эфект аскорбінавай кіслаты на атрыманне прэдыферэнцыраваных ў хондрогенным напраўленні мезенхімальных стволавых/стромальных клетак	57
Грніевіч Т. Н., Ляліков С. А., Шульга А. В., Кот М. О. Поліморфізм генаў <i>MMP-2</i> , <i>MMP-9</i> , <i>TIMP-2</i> і характар экспрэсіі матрыксных металапратэіназ тыпаў 2 і 9 плацэнты жанцін с прывычным невынашываннем бераменнасці	65
Поклонская Н. В., Амвросьева Т. В., Богуш З. Ф., Колтунова Ю. Б., Бельская И. В. Генетычнае разнаобразіе і молекулярная эпідэміялогія віруса Коксакі В5 ў Рэспубліцы Беларусь (2003–2023 гг.)	73

CONTENTS

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

Yanovich O. O., Titov L. P. Analysis of the genetic structure of <i>Acinetobacter baumannii</i> isolates, isolated from patients of the surgery and resuscitation departments of medical institutions in different regions of the Republic of Belarus.....	7
Levchenko K. V., Mitsura V. M., Tapalski D. V., Karpova E. V., Bondarenko V. N. Clinical and microbiological characteristics of viral-bacterial pneumonia caused by <i>Klebsiella pneumoniae</i> in SARS-CoV-2 infected patients.....	17
Bekjanova O. E., Rubnikovich S. P., Kayumova V. R., Denisova Yu. L., Egorova K. Y. Symptoms of post-COVID oral health conditions and their influence on the risk of developing dental pathology.....	26
Kabak S. L., Melnichenko Y. M., Savrasova N. A., Iofereva M. P., Shevchuk T. A. Linear and volumetric parameters of the sphenoid sinus according to cone beam computed tomography.....	33
Kostinov M. P., Zverev V. V., Tatevosov V. R., Gainitdinova V. V., Polishchuk V. B., Osiptsov V. N., Guban' V. I., Yastrebova N. E., Kurbatova E. A., Markelova E. V., Shubin I. V. Bacterial ligands in complex treatment of community-acquired pneumonia in organized groups.....	45
Zhernasechanka H. A., Isaikina Ya. I. Effect of ascorbic acid on obtaining chondrogenic pre-differentiated mesenchymal stem/stromal cells.....	57
Grinevich T. N., Lyalikov S. A., Shulga A. V., Kot M. O. Polymorphism of the <i>MMP-2</i> , <i>MMP-9</i> , <i>TIMP-2</i> genes and the expression pattern of matrix metalloproteinases types 2 and 9 of the placenta of women with recurrent miscarriage	65
Paklonskaya N. V., Amvrosieva T. V., Bogush Z. F., Koltunova Yu. B., Belskaya I. V. Genetic diversity and molecular epidemiology of Coxsackie virus B5 in the Republic of Belarus (2003–2023).....	73

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

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА
CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

УДК [579.841.11:57.088.7]:[614.2:617-089-072.5]
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-7-16>

Поступила в редакцию 25.03.2023
Received 25.03.2023

О. О. Янович, Л. П. Титов

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

**АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ИЗОЛЯТОВ *ACINETOBACTER BAUMANNII*,
ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ ОТДЕЛЕНИЙ ХИРУРГИИ
И РЕАНИМАЦИИ МЕДУЧРЕЖДЕНИЙ РАЗНЫХ РЕГИОНОВ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

Аннотация. Бактерии *Acinetobacter baumannii* вызывают широкий спектр локальных и системных гнойно-воспалительных процессов. Наибольшее клиническое значение приобрели высокорезистентные к антибиотикам генетические варианты бактерий, вызывающие заболевания, ассоциированные с оказанием медицинской помощи, что представляет существенную проблему здравоохранения.

Исследовано 53 изолята *A. baumannii*, выделенных от пациентов, которые проходили лечение в отделениях хирургии и интенсивной терапии учреждений здравоохранения страны. Молекулярно-генетическими методами – мультилокусным сиквенс-типированием и ПЦР реального времени – установлены спектр сиквенс-типов (ST) и клональных комплексов (CC), а также носительство генов резистентности бета-лактамаз расширенного типа, металло-бета-лактамаз и сериновых карбапенемаз.

Исследованные методом мультилокусного сиквенс-типирования изоляты *A. baumannii* принадлежали к 4 клональным комплексам – CC109, CC92, CC944 и CC110. Генетическая структура доминирующего CC109 была представлена сиквенс-типами ST2550, ST231, ST441, а структура CC92 – ST2168, ST450 и ST195. К минорным CC относились CC944 и CC110.

С помощью филогенетического анализа установлено, что предковым сиквенс-типом кластера 1 является ST229, который эволюционирует с образованием сиквенс-типов ST195, ST450, ST2563 и ST1103. Кластер 2 формируется на основе ST2182, эволюционирующего с образованием двух ветвей – ST2564 и ST441.

Анализ взаимосвязей ST и CC *A. baumannii* в зависимости от региона страны показал, что чаще всего изоляты, относящиеся к ST2550 (CC109), распространены в Гомельской, Могилевской, Минской и Гродненской областях, а изоляты ST231 (CC109) – в Витебской, Гродненской и Могилевской областях.

Ключевые слова: *Acinetobacter baumannii*, типирование, сиквенс-типы, бета-лактамазы

Для цитирования: Янович, О. О. Анализ генетической структуры изолятов *Acinetobacter baumannii*, выделенных от пациентов отделений хирургии и реанимации медучреждений разных регионов Республики Беларусь / О. О. Янович, Л. П. Титов // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2025. – Т. 22, № 1. – С. 7–16. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-7-16>

Olga O. Yanovich, Leonid P. Titov

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

**ANALYSIS OF THE GENETIC STRUCTURE OF *ACINETOBACTER BAUMANNII* ISOLATES,
ISOLATED FROM PATIENTS OF THE SURGERY AND RESUSCITATION DEPARTMENTS
OF MEDICAL INSTITUTIONS IN DIFFERENT REGIONS OF THE REPUBLIC OF BELARUS**

Abstract. *A. baumannii* bacteria are gram-negative, catalase-positive, oxidase-negative, non-fermenting coccobacilli that cause a wide range of local and systemic purulent-inflammatory processes. Genetic variants of bacteria that are highly resistant to antibiotics and cause healthcare-associated infections have acquired the greatest clinical significance. Multidrug-resistant bacteria are widespread in medical institutions in different countries and pose a significant public health problem.

We studied 53 isolates of *A. baumannii* isolated from patients in intensive care wards and surgical departments. Molecular genetic methods – multilocus sequencing-typing and real-time PCR – established the spectrum of sequence types (ST) and clonal complexes (CC), as well as carriers of extended type beta-lactamase resistance genes, metallo-beta-lactamases and serine carbapenemase.

The isolates studied by the MLST method belonged to 4 clonal complexes: CC109, CC92, CC944 and CC110. The genetic structure of the dominant CC109 is represented by the following sequence types – ST2550, ST231, ST441. CC92 united ST168, ST450 and ST195. The minor CCs included CC944 and CC110.

The phylogenetic analysis has established that the ancestral ST of cluster I is ST229, evolving to form sequence types ST195, ST450, as well as ST2563 and ST1103. Cluster 2 is formed on the basis of ST2182 evolving with the formation of two branches ST2564 and ST441.

The analysis of the relationships between STs and CCs depending on the region of the country showed that isolates related to ST2550 (CC109) are more common in the Gomel, Mogilev, Minsk and Grodno regions, and ST231 (CC109) isolates are more common in the Vitebsk, Grodno and Mogilev regions.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, typing, sequence types, beta-lactamase

For citation: Yanovich O. O., Titov L. P. Analysis of the genetic structure of *Acinetobacter baumannii* isolates, isolated from patients of the surgery and resuscitation departments of medical institutions in different regions of the Republic of Belarus. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2025, vol. 22, no. 1, pp. 7–16 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-7-16>

Введение. Род *Acinetobacter* относится к семейству *Moraxellaceae*. Видовое название *A. baumannii* было впервые принято после публикации статьи Paul Baumann в 1968 г. о выделении ацинетобактера из почвы и воды [1]. Представители рода характеризуются как грамотрицательные, аэробные, индолотрицательные, каталазоположительные, оксидазоотрицательные и цитратоположительные, неподвижные и непривередливые бактерии. Род *Acinetobacter* насчитывает более 70 видов микроорганизмов. На видовом уровне *A. baumannii* являются грамотрицательными, каталазоположительными, оксидазоотрицательными, неферментирующими и неподвижными коккобациллами. Они с трудом обесцвечиваются, что часто приводит к ошибочной идентификации их как грамположительных [2, 3].

В больничных условиях *A. baumannii* обитает в основном в отделениях интенсивной терапии взрослых и новорожденных пациентов, а также в ожоговых, хирургических, терапевтических и онкологических отделениях. Бактерия относится к широко распространенным возбудителям нозокомиальных инфекций группы ESKAPE [4], ассоциирована с оказанием медицинской помощи [5], обладает высокой устойчивостью к антибиотикам [6, 7]. Штаммы ацинетобактер, обладающие множественной резистентностью к антибиотикам, включая карбапенемы, широко распространены в медучреждениях разных стран [3], что представляет существенную угрозу их здравоохранению.

Результаты микробиологического мониторинга за возбудителями раневой инфекции в Беларуси в период с 2012 по 2020 г. показали, что доля резистентных штаммов *A. baumannii* выросла с 74 до 89 % [8], а среди штаммов, выделенных из крови, – до 92,0 % [9].

Генетическая структура популяции *A. baumannii* весьма гетерогенна. В целях изучения и оценки генетической структуры, молекулярной эволюции и филогенетических связей в клинической микробиологии используют два основных метода: мультилокусное сиквенс-типирование (MLST) [10] и полногеномное секвенирование [11]. MLST штаммов возбудителя позволяет выявить спектр доминирующих и минорных сиквенс-типов (ST), которые могут представлять определенные клональные комплексы (CC), относящиеся к генетическим линиям глобального либо локального распространения. CC, в свою очередь, может включать подмножество близкородственных ST и формировать определенные генетические линии [12–14].

Некоторые генетические линии *A. baumannii*, вызывавшие множественные вспышки в лечебных учреждениях разных стран, приобрели статус эпидемических [15, 16]. Два паневропейских эпидемических клона *A. baumannii* (I и II) первоначально получили распространение в странах Северо-Западной Европы (1982 г.) и с 1991 по 2001 г. преобладали в Чехии [17]. Со временем клон I интенсивно распространился и был обнаружен у пациентов в Испании, Польше, Англии и Италии. Клон II, который, вероятно, сохранял циркуляцию в европейских больницах, недавно был обнаружен во Франции, Нидерландах, Италии и Испании. В Российской Федерации выделено 14 генотипов трех основных клональных групп *A. baumannii*, обладающих генами OXA-58-подобных

карбапенемаз. Большинство изолятов в России относятся к генетическим линиям CC92/208, CC109/231, CC944. Исследованные штаммы CC92/208 и CC109/231 были резистентны к карбапенемам и в ряде случаев чувствительны к некоторым антибиотикам, не являющимся бета-лактамами. Штаммы CC944 характеризовались резистентностью ко всем антибиотикам и продукцией карбапенемаз группы OXA-24/40 [18].

В Республике Беларусь молекулярно-генетические исследования *A. baumannii* на популяционном уровне не проводились.

Цель исследования – изучение генетической структуры популяции *A. baumannii*, распространенности сиквенс-типов и клональных комплексов в отделениях хирургического профиля и реанимации, установление филогенетических связей и распространенности генов бета-лактамаз.

Материалы и методы исследования. Изучено 53 штамма *A. baumannii*, выделенных в 2020–2021 гг. от пациентов отделений реанимации и хирургии медучреждений страны: в Минске и Минской области – 14, в Гомеле и Гомельской области – 12, в Гродно и Гродненской области – 8, в Могилеве и Могилевской области – 10, в Витебской области – 6, в Бресте – 3. Наибольшее количество изолятов было получено из отделяемого ран – 38 (71,7 %), а также из мокроты – 8 (15,1 %), крови – 2 (3,8 %), спинно-мозговой жидкости – 1 (1,8 %), отделяемого брюшной полости – 1 (1,8 %) и в смывах с катетеров – 3 (5,8 %).

Первичный посев полученных культур осуществляли из транспортной среды на мясо-пептонный агар. Заключительная идентификация полученных чистых культур микроорганизмов проводилась методом ПЦР в режиме реального времени и с использованием автоматического микробиологического анализатора VITEK2 (bioMérieux, Франция).

Чувствительность микроорганизмов к антимикробным препаратам определяли диско-диффузионным методом на агаре Мюллера–Хинтона. Результаты интерпретировали в соответствии с критериями Европейского комитета по определению чувствительности к антибиотикам (EUCAST, 2021).

ДНК выделяли из суточной культуры, выращенной на мясо-пептонном агаре, с помощью набора «РИБО-преп» (AmpliSens, РФ), согласно инструкции по его применению.

Наличие генов сериновых бета-лактамаз (групп оксациллин-гидролизующих ферментов (OXA) – OXA-23, OXA-24/40 и OXA-48), генов металло-бета-лактамаз (NDM, VIM, IMP), бета-лактамаз расширенного спектра действия (SHV, TEM, CTX-M, GES, VEB) определяли методами ПЦР и ПЦР в режиме реального времени со специфическими праймерами.

Мультилокусное сиквенс-типирование было выполнено в соответствии с оксфордской схемой [19]. Для определения аллельных профилей генов «домашнего хозяйства» проводили амплификацию их фрагментов с использованием праймеров следующих генов: *getA*, *gyrB*, *gdhB*, *recA*, *cpn60*, *gpi*, *rpoD*. Секвенирование фрагментов ДНК генов «домашнего хозяйства» проводили с помощью прибора ABI Prism 3500 и набора BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США), руководствуясь протоколами производителя. Полученные в результате секвенирования нуклеотидные последовательности генов «домашнего хозяйства» представляли в международную базу данных pubmlst.org для установления их принадлежности к ST и CC. Для филогенетического анализа использовали программу Mega 6. На основании аллельных профилей эволюционное родство между изолятами оценивали с помощью алгоритма минимального связующего дерева, используя программу PHYLONiZ. Алгоритм включал ST с наибольшим количеством вариантов одного локуса в качестве корневого узла. Группы ST, отличающихся от ST-родоначальника одним геном, были объединены в CC [20].

Результаты и их обсуждение. Для изучения генетической структуры популяции ацинетобактера и распространенности ST и CC в Республике Беларусь и их родственных взаимосвязей использовали 53 штамма, выделенных от пациентов хирургического профиля и отделений реанимации медучреждений районного, городского и областного уровня. Все исследованные штаммы обладали резистентностью к карбапенемам.

В таблице представлена молекулярно-генетическая характеристика 53 изолятов *A. baumannii*, включая аллельные профили 7 генов «домашнего хозяйства», принадлежность к ST и CC, носительство генов бета-лактамаз в зависимости от типа медицинского отделения и территориального распространения этих изолятов.

Характеристика 53 изолятов *A. baumannii*, выделенных от пациентов медицинских учреждений страны
Characteristics of 53 *A. baumannii* isolates collected from patients in healthcare facilities across the country

Город	Отделение	Аллельный профиль генов «домашнего хозяйства»							ST	CC	Носительство генов бета-лактамаз
		glt	gyrB	gdh	rec	srn60	gpi	groD			
Минск	ОХ	1	3	3	2	2	96	3	195	CC92	ОХА-23 + БЛРС
Минск	ОХ	1	3	3	2	2	96	3	195	CC92	ОХА-23
Могилев	ОР	1	15	2	28	1	107	32	229	CC110	ОХА-23
Гомель	ОР	10	12	4	11	4	98	5	231	CC109	ОХА-23, 24
Гродно	ОР	10	12	4	11	4	98	5	231	CC109	ОХА-24 + БЛРС
Гродно	ОР	10	12	4	11	4	98	5	231	CC109	ОХА-24
Минск	ОХ	10	12	4	11	4	98	5	231	CC109	ОХА-24
Минск	ОХ	10	12	4	11	4	98	5	231	CC109	ОХА-24
Могилев	ОР	10	12	4	11	4	98	5	231	CC109	ОХА-24
Могилев	ОР	10	12	4	11	4	98	5	231	CC109	ОХА-24 + БЛРС
Орша	ОР	10	12	4	11	4	98	5	231	CC109	ОХА-23,24
Орша	ОХ	10	12	4	11	4	98	5	231	CC109	ОХА-24
Орша	ОХ	10	12	4	11	4	98	5	231	CC109	ОХА-24
Орша	ОХ	10	12	4	11	4	98	5	231	CC109	ОХА-23,24 + МБЛ
Солигорск	ОХ	10	12	4	11	4	98	5	231	CC109	ОХА-23,24
Бобруйск	ОР	10	12	4	11	4	100	5	441	CC109	ОХА-24
Гродно	ОХ	10	12	4	11	4	100	5	441	CC109	ОХА-24 + БЛРС
Гродно	ОР	10	12	4	11	4	100	5	441	CC109	ОХА-24
Брест	ОР	1	17	3	2	2	102	3	450	CC92	ОХА-24
Брест	ОР	2	21	3	32	26	100	5	1103	CC944	ОХА-24 + БЛРС
Орша	ОП	2	21	3	32	26	100	5	1103	CC944	ОХА-24
Гродно	ОХ	1	17	3	2	2	98	3	2182	CC92	ОХА-23
Гродно	ОР	1	17	3	2	2	98	3	2182	CC92	ОХА-23 + БЛРС
Минск	ОР	1	17	3	2	2	98	3	2182	CC92	ОХА-23 + БЛРС
Могилев	ОР	1	17	3	2	2	98	3	2182	CC92	ОХА-23,24 + БЛРС
Могилев	ОР	1	17	3	2	2	98	3	2182	CC92	ОХА
Орша	ОР	1	17	3	2	2	98	3	2182	CC92	ОХА-24
Минск	ОР	10	15	4	11	1	98	3	2549	CC109	ОХА + БЛРС
Бобруйск	ОХ	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА + БЛРС + МБЛ
Бобруйск	ОХ	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА-23,24 + БЛРС + МБЛ
Бобруйск	ОХ	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА-23,24 + БЛРС + МБЛ
Гомель	ОХ	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА-23,24
Гомель	ОХ	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА-24 + МБЛ
Гомель	ОХ	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА-24 + МБЛ
Гомель	ПА	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА + БЛРС
Гродно	ОХ	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА-24 + БЛРС
Гродно	ОХ	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА-24 + БЛРС
Гродно	ОХ	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	0
Минск	ОХ	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА-24 + БЛРС + МБЛ
Могилев	ОР	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА
Светлогорск	ОР	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА-23,24
Светлогорск	ОР	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА-23,24 + МБЛ
Светлогорск	ОХ	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА-23,24 + МБЛ
Светлогорск	ОР	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА-23,24 + МБЛ
Светлогорск	ОР	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА-23,24 + МБЛ
Светлогорск	ОР	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА-23,24 + БЛРС + МБЛ
Солигорск	ОХ	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА-23,24 + БЛРС

Окончание таблицы

Город	Отделение	Алельный профиль генов «домашнего хозяйства»							ST	CC	Носительство генов бета-лактамаз
		glt	gyrB	gdh	rec	srn60	gpi	groD			
Солигорск	ОР	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА-24
Солигорск	ОХ	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА-24 + БЛРС
Солигорск	ОХ	10	12	4	11	2	98	5	2550	CC109	ОХА-24
Гомель	ОР	2	21	4	32	26	67	5	2563	CC944	ОХА-24
Брест	ОР	2	21	4	32	26	100	5	2564	CC944	ОХА-24 + БЛРС
Минск	ОР	10	12	4	11	26	98	5	2565	CC109	ОХА-24 + МБЛ

Примечание. ОР – отделение реанимации, ОХ – отделение хирургии, ПА – патологоанатомическое отделение, ОП – отделение пульмонологии, БЛРС – бета-лактамазы расширенного спектра действия, МБЛ – металло-бета-лактамазы.

Как видно из таблицы и рис. 1, исследованные штаммы принадлежали к 4 клональным комплексам: CC109 (39 (73,59 %) изолятов), CC92 (9 (16,99 %) изолятов), CC944 (4 (7,54 %) изолята) и CC110 (1 (1,88 %) изолят). CC109 представлен ST2550 (22 (41,5 %) изолята), ST231 (11 (20,7 %) изолятов), ST441 (3 (5,7 %) изолята); ST2549 и ST2565 – единичными изолятами; CC92 – ST2168 (6 изолятов), ST450 (1 изолят) и ST195 (2 изолята); CC944 – ST1103 (2 изолята), ST2563 (1 изолят), ST2564 (1 изолят); CC110 – только одним ST229 (1 изолят).

На рис. 2 представлено филогенетическое корневое бифуркационное дерево, характеризующее родственные взаимосвязи между отдельными ST штаммов *A. baumannii*, выделенных от пациентов отделений хирургии и реанимации. Филограма отражает не только расположение ветвей дерева, но и их длину, которая дает дополнительную информацию о генетическом происхождении изолята. В масштабированных филогенетических деревьях длина ветвей отражает количество эволюционных изменений (обозначены цифрами). Как свидетельствуют представленные результаты, на дендрограмме можно выделить две эволюционные генетические линии (кластера) патогена. Штаммы кластера 2 формируются на основе изолята ацинетобактера, принадлежащего к ST2182, который со временем эволюционирует с образованием двух ветвей – ST2564, обнаруженного в Бресте, и ST441, обнаруженного в Гродно, которые далее дивергируют с образованием ST2549, ST2565, ST250 и ST231 (недавно выявлены на территории Беларуси). Последние два ST являются наиболее эпидемиологически значимыми (распространенными) в Республике Беларусь. К ST2550 относятся 22 изолята, а к ST231 – 10. ST231, ST2550, ST2565, ST2549, ST441, ST2182, образующие кластер 2, относятся к CC109 и только ST2564 – к CC944.

Предковым ST изолята, относящегося к кластеру 1 (выделен от пациента отделения реанимации Могилева), является ST229, который эволюционирует во времени с образованием ST195, ST450, ST2563 и ST1103 (выделены от пациентов Минска, Бреста, Гомеля и Орши соответственно). ST изолятов кластера 1 менее распространены на территории Республики Беларусь, встречаются с небольшой частотой и относятся к иным CC – ST229 (CC110), ST450 (CC92), ST195 (CC92), ST1103 (CC944), ST2563 (CC944).

На рис. 3 представлены результаты филогенетического анализа взаимосвязей ST и CC штаммов *A. baumannii*, распространенных в лечебных учреждениях страны. Размер изображенных кругов пропорционален количеству изолятов, относящихся к определенному ST или CC. Наиболее распространенными являются изоляты, относящиеся к ST2550 (CC109). На их долю приходится

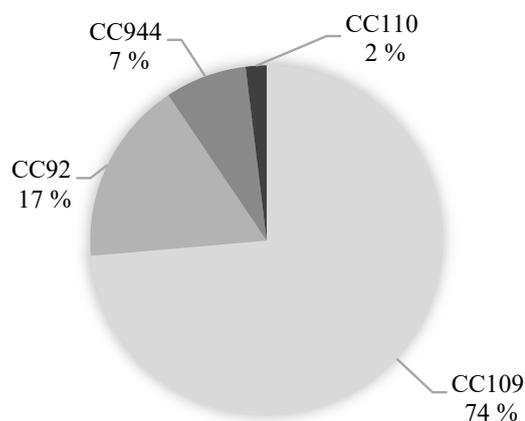


Рис. 1. Распределение клональных комплексов изолятов *A. baumannii*, выделенных от пациентов медучреждений страны
Fig. 1. Distribution of *A. baumannii* clonal complexes isolates isolated from patients in medical institutions across the country

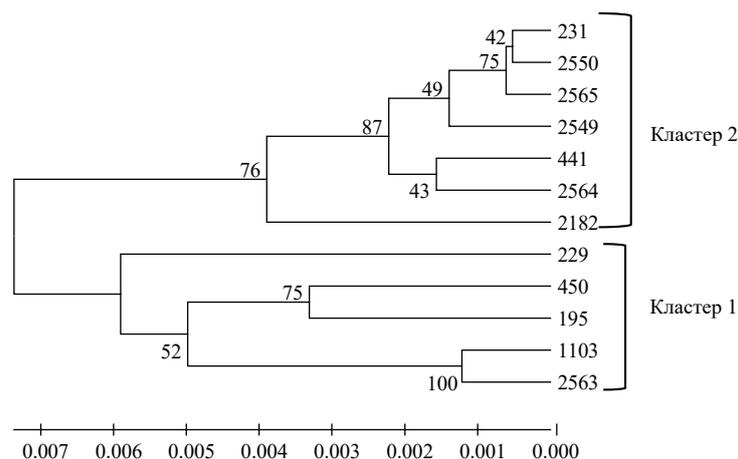


Рис. 2. Филогенетическая дендрограмма изолятов *A. baumannii*, выделенных от пациентов отделений хирургии и реанимации медучреждений республики

Fig. 2. Phylogenetic dendrogram of *A. baumannii* isolates obtained from patients in the surgical and intensive care departments of medical institutions of the republic

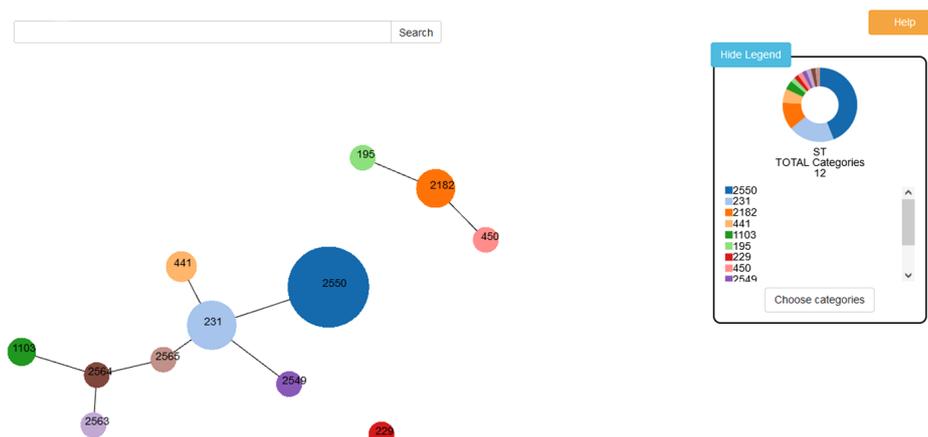


Рис. 3. Характер филогенетических взаимосвязей ST и клональных комплексов изолятов *A. baumannii*, выделенных от пациентов отделений хирургии и реанимации республики

Fig. 3. Nature of phylogenetic relationships between ST and clonal complexes of *A. baumannii* isolates isolated from patients in the surgical and intensive care departments of the republic

44 % от исследованных штаммов. Они имеют родственные связи со штаммом ST231 (CC109), на долю которого приходится 22 % от всех генотипов. С этим ST связаны штаммы, относящиеся к ST2563, ST2564, ST2563 и ST1103. Отдельную группу составляют штаммы, принадлежащие к ST2182 (CC92), на долю которого приходится 10 %. Родственные ему ST195 (CC92) и ST450 (CC92) представлены единичными изолятами.

На рис. 4 представлены результаты распространения ST и CC *A. baumannii* в медучреждениях страны в зависимости от региона. Как видно из рис. 4, изоляты *A. baumannii*, относящиеся к ST2550 (CC109), больше всего были распространены в Гомельской, Могилевской, Минской и Гродненской областях. Изоляты ацинетобактера, относящиеся к ST231 (CC109), наиболее часто обнаруживались в медучреждениях Витебской, Гродненской и Могилевской областей. Единичные штаммы этой группы выявлялись в Гродненской (ST441), Минской (ST2540, ST2565), Могилевской (ST441), Брестской (ST2564, ST1103), Гомельской (ST2563) и Витебской (ST1103) областях.

Изоляты, относящиеся к ST2182 (CC92), обнаружены в медучреждениях Могилевской, Гродненской, Витебской областей и г. Минска. Родственные этому ST штаммы, относящиеся к ST195 (CC92), выявлены в Минской области, а изолят, относящийся к ST450 (CC92), обнаружен в Брестской области.

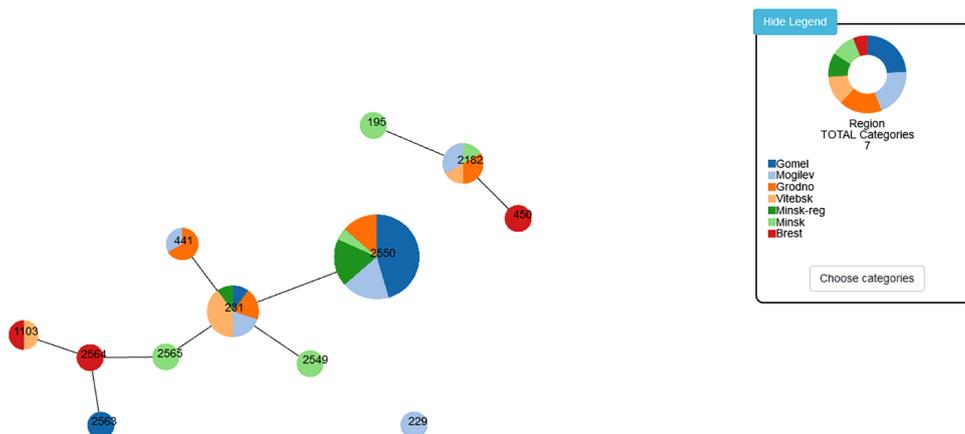


Рис. 4. Характер взаимосвязей и регионального распространения ST и клональных комплексов изолятов *A. baumannii*, выделенных от пациентов отделений хирургии и реанимации

Fig. 4. Nature of the relationships and regional distribution of ST and clonal complexes of *A. baumannii* isolates isolated from patients in the surgical and intensive care units

Анализ распространения генов бета-лактамаз среди исследованных изолятов ацинетобактера показал (таблица), что исследованные изоляты в 98,2 % случаев являлись носителями генов ОХА. Только 1 изолят из 53 не являлся носителем генов бета-лактамаз. Носителями трех генов разных классов резистентности (ОХА + БЛРС + МБЛ) являлись 25 % изолятов. Сочетание генов ОХА и МБЛ бета-лактамаз выявлено у 8 (15 %) изолятов, а сочетание ОХА + БЛРС – у 15 (28,3 %).

Заключение. Среди множества методов молекулярного типирования особенно следует выделить MLST, который имеет явные преимущества и является надежной схемой для определения генетической структуры популяции клинически значимых микроорганизмов, выявления эпидемиологически важных тенденций и филогенетических взаимосвязей. Вместе с тем метод требует значимых затрат времени и финансов. MLST-типирование представляет собой адекватный и эффективный метод, пригодный как для глобальных эпидемиологических исследований, так и для мониторинга распространения клинических штаммов бактерий не только в регионах, но и в республике в целом.

A. baumannii может проникать в больничную палату путем его передачи от колонизированного ранее пациента и способен длительно сохраняться и размножаться на сухих поверхностях при ограниченных питательных условиях, что угрожает вспышкой инфекции. В условиях больничного стационара микроб может быть обнаружен в непосредственной близости от пациента, например на покрывале, мебели, раковине для умывания, больничном оборудовании (на трубках для искусственной вентиляции, датчиках артериального давления, увлажнителях), что требует значительных усилий по поддержанию эффективного инфекционного контроля. Пути передачи *A. baumannii*, как правило, включают воздушно-капельный и/или контактный (через кожу колонизированных пациентов) [21]. Бактерии ассоциируются с инфекциями кожи и тканей в местах хирургического вмешательства, катетер-ассоциированными процессами мочевыводящих путей, заболеваниями нижних дыхательных путей [22].

По состоянию на 2018 г. инфекции, вызванные *A. baumannii*, составляли примерно 2 % от всех инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Их частота в США и Европе примерно в 2 раза больше, чем в странах Азии и Ближнего Востока [22]. В структуре внутрибольничных инфекций на долю вентилятор-ассоциированной пневмонии приходится 8,4 %; на инфекции кровотока, связанные с центральным катетером, – 2,2; на инфекции мочевыводящих путей, также связанных с катетерами, – 1,2; на инфекции области хирургического вмешательства – 6 % [23].

Клинические штаммы *A. baumannii* обладают рядом факторов патогенности – устойчивостью к высыханию, окислительному стрессу и дезинфектантам, способностью к формированию биопленок [24].

Механизмы устойчивости к противомикробным препаратам связаны в основном с регуляцией транспорта антибиотика через бактериальные мембраны, изменением сайта-мишени антибио-

тика и ферментативными модификациями, приводящими к нейтрализации препаратов. Можно выделить три группы механизмов, позволяющих достичь резистентности: а) снижение проницаемости мембраны или выведения антибиотика и, таким образом, предотвращение его доступа к мишени; б) защита мишени антибиотика посредством генетической мутации или посттрансляционной модификации; в) инактивация антибиотика путем гидролиза молекулы или ее модификации [25].

Проведенный молекулярно-генетический анализ резистентных изолятов *A. baumannii*, выделенных в Республике Беларусь, показал, что подавляющее большинство изолятов относится к клональной линии CC109, представленной 5 различными сиквенс-типами и относящейся к IC1. Вторым по встречаемости является клон CC92, который также имеет глобальное распространение и принадлежит к международному клону IC2.

Клон CC944, включающий 4 изолята, является сравнительно редким. В 2010 г. в нескольких стационарах Италии он впервые был описан как синглетон CT78 Pas, в связи с чем получил название «итальянский клон» [26].

Таким образом, отдельные клоны *A. baumannii*, например гены резистентности, могут возникать и независимо эволюционировать на разных территориях, в медучреждениях разного типа, приобретая дополнительные конкурентные преимущества. Очевидно, что такие клоны могут распространяться как внутри страны, так и между странами. Для выявления изменений в эпидемиологии *A. baumannii* и для улучшения контроля за распространением этой бактерии необходим дальнейший молекулярно-эпидемиологический мониторинг.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Baumann, P. Isolation of *Acinetobacter* from soil and water / P. Baumann // Journal of Bacteriology. – 1968. – Vol. 96, N 1. – P. 39–42. <https://doi.org/10.1128/jb.96.1.39-42.1968>
2. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen / A. Howard, M. O'Donoghue, A. Feeney, R. D. Sleator // Virulence. – 2012. – Vol. 3, N 3. – P. 243–250. <https://doi.org/10.4161/viru.19700>
3. Nguyen, M. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*, and their importance in hospital-acquired infections: a scientific review / M. Nguyen, S. G. Joshi // Journal of Applied Microbiology. – 2021. – Vol. 131, N 6. – P. 2715–2738. <https://doi.org/10.1111/jam.15130>
4. Economic burden of antibiotic resistance in ESKPE organisms: A systematic review / X. Zhen, C. S. Lundborg, X. Sun [et al.] // Antimicrobial Resistance and Infection Control. – 2019. – Vol. 8. – Art. 137. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0590-7>
5. Clinical and pathophysiological overview *Acinetobacter* infections: a century of challenges / D. Wong, T. B. Nielsen, R. A. Bonomo [et al.] // Clinical Microbiology Reviews. – 2017. – Vol. 30, N 1. – P. 409–417. <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-16>
6. Genomic characterization of clinical *Acinetobacter baumannii* isolates obtained from COVID-1 patients in Russia / A. Shelencov, Y. Mikhaylova, L. Petrova [et al.] // Antibiotics. – 2022. – Vol. 11, N 3. – Art. 346. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030346>
7. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp. в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013–2014 / М. В. Сухорукова, М. В. Эйдельштейн, Е. Ю. Скленова [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2017. – Т. 19, № 1. – С. 42–48.
8. Характер раневой микрофлоры и резистентность к антибиотикам: результаты мониторинга 2012–2020 гг. / Л. П. Титов, В. А. Горбунов, А. Н. Хархаль [и др.] // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2023. – Т. 20, № 1. – С. 58–70.
9. Тренды резистентности к антибиотикам возбудителей инвазивных бактериальных заболеваний: микробиологический мониторинг 2012–2017 / Л. П. Титов, В. А. Горбунов, А. Н. Хархаль [и др.] // Здравоохранение. – 2019. – № 7. – С. 5–16.
10. MLST revisited: the gene-by-gene approach to bacterial genomics / M. C. Maiden, M. J. Jansen van Rensburg, J. E. Bray [et al.] // Nature Reviews Microbiology. – 2013. – Vol. 11, N 10. – P. 728–736. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3093>
11. Multilocus sequence typing of total-genome-sequenced bacteria / M. V. Larsen S. Cosentino, S. Rasmussen [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. – 2012. – Vol. 50, N 4. – P. 1355–1361. <https://doi.org/10.1128/JCM.06094-11>
12. Фенотипический профиль актуальных полирезистентных сиквенс-типов (ST1167, ST944, ST208) *Acinetobacter baumannii* / О. С. Федотова, Ю. А. Захарова, А. В. Остапчук [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2021. – Т. 98, № 6. – С. 639–647.
13. *Acinetobacter baumannii* при инфекциях кровотока и центральной нервной системы у детей в отделениях реанимации и интенсивной терапии: молекулярно-генетическая характеристика и клиническая значимость / З. С. Садева, И. Е. Новикова, Н. М. Алабьева [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2023. – Т. 13, № 2. – С. 289–301.

14. Молекулярно-генетическое типирование *A. baumannii*, выделенных из гемокультуры больных опухолями системы крови методом ПЦР случайных полиморфных фрагментов ДНК / С. А. Хрульнова, А. В. Федорова, И. Н. Фролова [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2020. – Т. 19, № 4. – С. 38–47.
15. Molecular epidemiology of a clonal outbreak of multidrug-resistant *A. baumannii* in a university hospital in Italy / R. Zarrilli, R. Casillo, A. Di Popolo [et al.] // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2007. – Vol. 13, N 5. – P. 481–489. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01675.x>
16. Global evolution of multidrug-resistant *A. baumannii* clonal lineages / R. Zarrilli, S. Pournaras, M. Giannouli, A. Tsakris // *International Journal of Antimicrobial Agents*. – 2023. – Vol. 41, N 1. – P. 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.09.008>
17. The population structure of *A. baumannii*: expanding multiresistant clones from an ancestral susceptible genetic pool / L. Diancourt, V. Passet, A. Nemes [et al.] // *Plos One*. – 2010. – Vol. 5, N 4. – P. e10034. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010034>
18. Антибиотикорезистентность, продукция карбапенемаз и генотипы нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp. в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015–2016» / Е. А. Шек, М. В. Сухорукова, М. В. Эйдельштейн [и др.] // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. – 2019. – Т. 21, № 2. – С. 171–180.
19. Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* / S. G. Bartual, H. Seifert, C. Hippler [et al.] // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2005. – Vol. 43, N 9. – P. 4382–4390. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.9.4382-4390.2005>
20. PHYLOViZ 2.0: providing scalable data integration and visualization from multiple phylogenetic inference methods / M. Nascimento, A. Sousa, M. Ramirez [et al.] // *Bioinformatics*. – 2017. – Vol. 33, N 1. – P. 128–129. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw582>
21. Giamarellou, H. *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? / H. Giamarellou, A. Antaoniadou, K. Kanellakopoulou // *International Journal of Antimicrobial Agents*. – 2008. – Vol. 32, N 2. – P. 106–119. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.02.013>
22. Harding, C. M. Uncovering the mechanisms of *A. baumannii* virulence / C. M. Harding, S. W. Hennon, M. F. Feldman // *Nature Reviews Microbiology*. – 2017. – Vol. 16, N 2. – P. 91–102. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.148>
23. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, surveillance and management / J. M. Pogue, T. Mann, K. E. Barber, K. S. Kaye // *Expert Review of Anti-infective Therapy*. – 2014. – Vol. 11, N 4. – P. 383–393. <https://doi.org/10.1586/eri.13.14>
24. Dijkshoorn, L. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *A. baumannii* / L. Dijkshoorn, A. Nemes, H. Seifert // *Nature Reviews Microbiology*. – 2007. – Vol. 5, N 12. – P. 939–951. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1789>
25. Molecular mechanisms of antibiotic resistance / J. M. A. Blair, M. A. Webber, A. J. Baylay [et al.] // *Nature Reviews Microbiology*. – 2015. – Vol. 13, N 1. – P. 42–51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>
26. Widespread carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* clones in Italian hospitals revealed by a multicenter study / E. Carretto, D. Barbarini, L. Dijkshoorn [et al.] // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2011. – Vol. 11, N 6. – P. 1319–1326. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.04.024>

References

1. Baumann P. Isolation of *Acinetobacter* from soil and water. *Journal of Bacteriology*, 1968, vol. 96, no. 1, pp. 39–42. <https://doi.org/10.1128/jb.96.1.39-42.1968>
2. Howard A., O'Donoghue M., Feeney A., Sleator R. D. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. *Virulence*, 2012, vol. 3, no. 3, pp. 243–250. <https://doi.org/10.4161/viru.19700>
3. Nguyen M., Joshi S. G. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*, and their importance in hospital-acquired infections: a scientific review. *Journal of Applied Microbiology*, 2021, vol. 131, no. 6, pp. 2715–2738. <https://doi.org/10.1111/jam.15130>
4. Zhen X., Lundborg C. S., Sun X., Hu X., Dong H. Economic burden of antibiotic resistance in ESKPE organisms: A systematic review. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 2019, vol. 8, art. 137. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0590-7>
5. Wong D., Nielsen T. B., Bonomo R. A., Pantapalangkoor P., Luna B., Spellberg B. Clinical and pathophysiological overview *Acinetobacter* infections: a century of challenges. *Clinical Microbiology Reviews*, 2017, vol. 30, no. 1, pp. 409–417. <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-16>
6. Shelenkova A., Mikhaylova Y., Petrova L., Gaidukova I., Zamyatin M., Akimkin V. Genomic characterization of clinical *Acinetobacter baumannii* isolates obtained from COVID-19 patients in Russia. *Antibiotics*, 2022, vol. 11, no. 3, art. 346. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030346>
7. Sukhorukova M. V., Eidel'shtein M. V., Skleenova E. Yu., Ivanchik N. V., Shek E. A., Dekhnich A. V. [et al.]. Antimicrobial resistance of nosocomial *Acinetobacter* spp. isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study “MARATHON” 2013–2014. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya* [Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy], 2017, vol. 19, no. 1, pp. 42–48 (in Russian).
8. Titov L. P., Gorbunov V. A., Kharkhal' A. N., Yanovich O. O., Levshina N. N., Blyga E. G., Sudak S. Yu., Bukhantsova A. N., Bonda N. V., Tkach L. M., Voitik S. B., Botina T. N. Character of wound microflora and resistance to antibiotics: monitoring results 2012–2020. *Vestsi Natsyonal'най akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2023, vol. 20, no. 1, pp. 58–70 (in Russian).
9. Titov L. P., Gorbunov V. A., Kharkhal' A. N., Davydov A. V., Levshina N. N. Trends in invasive bacterial diseases pathogens resistance to antibiotics: microbiologic monitoring, 2012–2017. *Zdravookhranenie* [Healthcare], 2019, no. 7, pp. 5–16 (in Russian).

10. Maiden M. C., Jansen van Rensburg M. J., Bray J. E., Earle S. G., Ford S. A., Jolley K. A., McCarthy N. D. MLST revisited: the gene-by-gene approach to bacterial genomics. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, vol. 11, no. 11, pp. 728–736. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3093>
11. Larsen M. V., Cosentino S., Rasmussen S., Friis C., Hasman H., Marvig R. L., Jelsbak L., Sicheritz-Pontén T., Ussery D. W., Aarestrup F. M., Lund O. Multilocus sequence typing of total-genome-sequenced bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*, 2012, vol. 50, no. 4, pp. 1355–1361. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.06094-11>
12. Fedotova O. S., Zakharova Yu. A., Ostapchuk A. V., Bazhanova U. A., Zakharov A. A. Phenotypic profile of priority multiresistant *Acinetobacter baumannii* sequence types (ST1167, ST944, ST208). *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* [Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology], 2021, vol. 98, pp. 639–647 (in Russian).
13. Sadeeva Z. Z., Novikova I. E., Alyab'eva N. M., Lazareva A. V., Komyagina T. M., Karaseva O. V., Vershinina M. G., Fisenko A. P. *Acinetobacter baumannii* in blood-borne and central nervous system infections in intensive care unit children: molecular and genetic characteristics and clinical significance. *Infektsiya i immunitet* [Infection and immunity], 2023, vol. 13, no. 2, pp. 289–301 (in Russian).
14. Khrul'nova S. A., Fedorova A. V., Frolova I. N., Klyasova G. A. Genotyping by random amplified polymorphic DNA assay of *Acinetobacter baumannii* isolated from blood culture of patients with hematological malignancies. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika* [Epidemiology and vaccinal prevention], 2020, vol. 19, no. 4, pp. 38–47 (in Russian).
15. Zarrilli R., Casillo R., Di Popolo A., Tripodi M. F., Bagattini M., Cuccurullo S., Crivaro V., Ragone E., Mattei A., Galdieri N., Triassi M., Utili R. Molecular epidemiology of a clonal outbreak of multidrug-resistant *A. baumannii* in a university hospital in Italy. *Clinical Microbiology and Infection*, 2007, vol. 13, no. 5, pp. 481–489. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01675.x>
16. Zarrilli R., Pournaras S., Giannouli M., Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *A. baumannii* clonal lineages. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2023, vol. 41, no. 1, pp. 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.09.008>
17. Diancourt L., Passet V., Nemeč A., Dijkshoorn L., Brisse S. The population structure of *A. baumannii*: expanding multiresistant clones from an ancestral susceptible genetic pool. *PLoS One*, 2010, vol. 5, no. 4, pp. e10034. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010034>
18. Shek E. A., Sukhorukova M. V., Eidel'shtein M. V., Skleenova E. Yu., Ivanchik N. V., Shaidullina E. R. [et al.]. Antimicrobial resistance, carbapenemase production, and genotypes of nosocomial *Acinetobacter* spp. isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study «MARATHON 2015–2016». *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya* [Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy], 2019, vol. 21, no. 2, pp. 171–180 (in Russian).
19. Bartual S. G., Seifert H., Hippler C., Luzon M. A., Wisplinghoff H., Rodríguez-Valera F. Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Clinical Microbiology*, 2005, vol. 43, no. 9, pp. 4382–4390. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.9.4382-4390.2005>
20. Nascimento M., Sousa A., Ramirez M., Francisco A. P., Carriço J. A., Vaz C. PHYLOViZ 2.0: providing scalable data integration and visualization from multiple phylogenetic inference methods. *Bioinformatics*, 2017, vol. 33, no. 1, pp. 128–129. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw582>
21. Giamarellou H., Antoniadou A., Kanellakopoulou K. *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2008, vol. 32, no. 2, pp. 106–119. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.02.013>
22. Harding C. M., Hennon S. W., Feldman M. F. Uncovering the mechanisms of *A. baumannii* virulence. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, vol. 16, no. 2, pp. 91–102. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.148>
23. Pogue J. M., Mann T., Barber K. E., Kaye K. S. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, surveillance and management. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 2014, vol. 11, no. 4, pp. 383–393. <https://doi.org/10.1586/eri.13.14>
24. Dijkshoorn L., Nemeč A., Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *A. baumannii*. *Nature Reviews Microbiology*, 2007, vol. 5, no. 12, pp. 939–951. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1789>
25. Blair J. M. A., Webber M. A., Baylay A. J., Ogbolu D. O., Piddock L. J. V. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 2015, vol. 13, no. 1, pp. 42–51. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>
26. Carretto E., Barbarini D., Dijkshoorn L., van der Reijden T. J., Brisse S., Passet V., Farina C. APSI *Acinetobacter* Study Group. Widespread carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* clones in Italian hospitals revealed by a multicenter study. *Infection, Genetics and Evolution*, 2011, vol. 11, no. 6, pp. 1319–1326. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.04.024>

Информация об авторах

Янович Ольга Олеговна – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филімонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0003-1726-1031>. E-mail: oyanov74@mail.ru

Титов Леонид Петрович – академик, д-р мед. наук, профессор.

Information about the authors

Olga O. Yanovich – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0003-1726-1031>. E-mail: oyanov74@mail.ru

Leonid P. Titov – Academician, D. Sc. (Med.), Professor.

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК [616.24-002:579.842.17]-071/-078:[616.98:578.834.1]-036.21

Поступила в редакцию 12.12.2023

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-17-25>

Received 12.12.2023

К. В. Левченко¹, В. М. Мицура², Д. В. Тапальский³, Е. В. Карпова¹, В. Н. Бондаренко¹¹Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Республика Беларусь²Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, Гомель, Республика Беларусь³Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь**КЛИНИКО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ВИРУСНО-БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ,
ВЫЗВАННОЙ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*,
У ПАЦИЕНТОВ, ИНФИЦИРОВАННЫХ SARS-CoV-2**

Аннотация. Цель исследования – сравнить клинико-лабораторные показатели, исходы заболевания, чувствительность к антибиотикам и их комбинациям у пациентов с пневмонией, вызванной *K. pneumoniae*, в сочетании с COVID-19 инфекцией и без нее.

Проведен анализ 93 случаев пневмонии с выделением из биологического материала *K. pneumoniae*, в том числе 65 случаев с COVID-19 инфекцией и 28 случаев без нее. В обеих группах наиболее частыми сопутствующими патологиями были болезни системы кровообращения и метаболические нарушения. Лабораторные показатели в группах статистически значимо не различались. При пневмонии, развившейся на фоне инфекции COVID-19, достоверно чаще отмечались случаи летального исхода заболевания (66 % vs 32 %).

K. pneumoniae (нозокомиальные штаммы) выделяли у пациентов обеих групп, как правило, спустя 10 сут после госпитализации. В обеих группах большинство выделенных штаммов *K. pneumoniae* характеризовались множественной устойчивостью к антибиотикам. Отмечалась низкая эффективность не включающих колистин комбинаций антибиотиков, в том числе комбинаций с карбапенемами. У 40 (61,5 (48,6–73,3) %) изолятов *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов основной группы, выявлены карбапенемазы.

Полученные результаты исследования позволяют считать схемы антибиотикотерапии с включением колистина предпочтительными для лечения пневмонии, вызванной госпитальными штаммами *K. pneumoniae*, у пациентов с COVID-19 инфекцией и без нее.

Ключевые слова: *K. pneumoniae*, антибиотикорезистентность, бактериальная коинфекция, COVID-19

Для цитирования: Клинико-микробиологическая характеристика вирусно-бактериальной пневмонии, вызванной *Klebsiella pneumoniae*, у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2 / К. В. Левченко, В. М. Мицура, Д. В. Тапальский [и др.] // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2025. – Т. 22, № 1. – С. 17–25. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-17-25>

Kristina V. Levchenko¹, Viktor M. Mitsura², Dmitry V. Tapalski³, Elena V. Karpova¹, Vasily N. Bondarenko¹¹Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus²Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Republic of Belarus³Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus**CLINICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS
OF VIRAL-BACTERIAL PNEUMONIA CAUSED BY *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*
IN SARS-CoV-2 INFECTED PATIENTS**

Abstract. The object of study was to investigate the clinical and laboratory characteristics, the outcomes of the disease, the susceptibility to antibiotics and to different combinations in the patients with pneumonia caused by *K. pneumoniae* associated and not associated with COVID-19.

We analysed 93 cases of pneumonia with *K. pneumoniae* detected in biological materials including 65 ones with COVID-19 and 28 ones without COVID-19.

In the both groups, the diseases of the circulatory system and metabolic disorders were the most common concomitant conditions. The laboratory data were not statistically different. The lethal outcomes were found reliably more often in the patients with COVID-19 (66 % vs 32 %).

K. pneumoniae was detected predominantly after the tenth day of admission to the hospital (nosocomial strains). In the both groups, the majority of detected *K. pneumoniae* strains had a multiple resistance to antibiotics. The combinations of antibiotics with no colistin demonstrated a low efficacy, including those with carbapenems. A proportion of 40 (61.5 (48.6–73.3) %) *K. pneumoniae* samples isolated from patients with COVID-19 had carbapenemases detected.

The results of the study refer to the preferability of the colistin comprising the schemes of antibiotics for treatment of pneumonia caused by *K. pneumoniae* associated and not associated with COVID-19.

Keywords: *K. pneumoniae*, antibiotics resistance, bacterial co-infection, COVID-19

For citation: Levchenko K. V., Mitsura V. M., Tapalski D. V., Karpova E. V., Bondarenko V. N. Clinical and microbiological characteristics of viral-bacterial pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* in SARS-CoV-2 infected patients. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2025, vol. 22, no. 1, pp. 17–25 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-17-25>

Введение. Новая коронавирусная инфекция COVID-19, впервые выявленная в Китае в конце 2019 г., все еще остается одной из самых актуальных проблем здравоохранения во всем мире [1]. Невзирая на то, что в целом отмечался невысокий уровень коинфекции с участием бактериальных агентов, присоединение вторичной бактериальной микрофлоры зачастую осложняло течение вирусной пневмонии среди госпитализированных пациентов с COVID-19 инфекцией, получавших генно-инженерные биологические препараты и глюкокортикостероиды. Риск присоединения вторичной бактериальной инфекции увеличивался, если пациенту требовались вспомогательная респираторная поддержка и интенсивная терапия [2, 3].

Несмотря на то что антибактериальные препараты не оказывают влияния на вирус SARS-CoV-2, с начала пандемии более 70 % пациентов со среднетяжелой и тяжелой формами COVID-19 инфекции получали антибиотики (АБ), что способствовало формированию антибиотикорезистентности [3]. Диагностика бактериальной коинфекции в ряде случаев затруднена ввиду схожих с COVID-19 клинических проявлений, таких как лихорадка, кашель, одышка. Подтвердить наличие бактериальной инфекции нижних дыхательных путей позволяет микробиологическое исследование мокроты либо промывных вод бронхов (ПВБ) [2].

В образцах исследуемых биологических материалов пациентов с внегоспитальной вирусно-бактериальной пневмонией, ассоциированной с SARS-CoV-2, чаще выделяли *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus aureus*. В образцах мокроты и ПВБ пациентов, находившихся на лечении в стационаре более 48 ч, чаще идентифицировали аэробные грамотрицательные бактерии *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* [4]. Данные возбудители относятся к группе клинически значимых возбудителей ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и виды *Enterobacter*), что связано с их способностью вызывать тяжелые инфекции при оказании медицинской помощи и с высоким уровнем резистентности к противомикробным препаратам [5].

K. pneumoniae является наиболее распространенным в мире возбудителем нозокомиальных инфекций (тяжелой пневмонии, инфекций кровотока, мочевыводящих путей) у пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) [6, 7].

Карбапенемы – одни из наиболее эффективных АБ для лечения нозокомиальных инфекций, вызванных грамотрицательными возбудителями. Резистентность клебсиелл к карбапенемам, как правило, опосредована продукцией карбапенемаз разных типов – сериновых карбапенемаз ОХА-48 и КРС, металло-β-лактамаз NDM (MBL NDM) и ассоциирована с устойчивостью к большинству β-лактамов АБ и не являющихся β-лактамами АБ [6].

По данным международных сетей по надзору за устойчивостью к противомикробным препаратам EARS-Net и CAESAR, уровень резистентности инвазивных штаммов *K. pneumoniae* к карбапенемам в период пандемии COVID-19 в 2021 г. в Беларуси был одним из самых высоких среди европейских стран и составил 87 % [8].

Единственно возможный способ лечения пациентов, в биоматериале которых выявлена *K. pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью, – комбинированная терапия АБ [9]. Своевременная и точная диагностика развития бактериальных осложнений у пациентов с COVID-19 инфекцией, определение профиля чувствительности к АБ – важные составляющие успешного лечения.

Цель исследования – сравнить клиничко-лабораторные показатели, исходы заболевания, чувствительность к антибиотикам и их комбинациям у пациентов с пневмонией, вызванной *K. pneumoniae*, в сочетании с COVID-19 инфекцией и без нее.

Материалы и методы исследования. Ретроспективно проведен анализ случаев вирусно-бактериальной и бактериальной пневмонии, вызванной *K. pneumoniae*, у взрослых пациентов, проходивших лечение в учреждении «Гомельская областная туберкулезная клиническая больница» (ГОТКБ) в 2021–2023 гг. Дизайн исследования – ретроспективное, поперечное. Критерий включения: выявление в мокроте, ПВБ или ткани легкого *K. pneumoniae* в диагностически значимых количествах ($\geq 10^5$ КОЕ/мл).

Сформировано две группы: группа 1 (основная) – 65 пациентов с вирусно-бактериальной пневмонией, ассоциированной с инфекцией COVID-19; группа 2 (группа сравнения) – 28 пациентов с бактериальной пневмонией, вызванной *K. pneumoniae*. В основной группе на момент выявления в исследуемом материале *K. pneumoniae* 37 (56,9 (44,0–69,2) %) пациентов проходили лечение в пульмонологических отделениях, 28 (43,1 (30,8–56,0) %) – в ОРИТ. В группе сравнения 22 (78,6 (59,0–91,7) %) человека являлись пациентами пульмонологических отделений, 6 (21,4 (8,3–41,0) %) пациентов пребывали в ОРИТ. Искусственная вентиляция легких (ИВЛ) проводилась 21 (32,3 (18,4–48,9) %) пациенту основной группы и 4 (14,3 (2,5–38,5) %) пациентам группы сравнения ($p = 0,07$).

Изучены клиничко-лабораторные данные пациентов анализируемых групп, структура сопутствующих заболеваний, данные о предшествующем лечении, сроки выявления бактериальной флоры, профиль чувствительности к комбинациям антибактериальных препаратов, определены уровни карбапенемазы у выделенных штаммов *K. pneumoniae*.

Пациенты сравниваемых групп имели различия по полу и возрасту. Женщин в основной группе было больше – 33 (50,8 (38,1–63,4) %) человека, в группе сравнения – 8 (28,6 (13,2–48,7) %) ($\chi^2 = 18,6$, $p < 0,0001$). Группу сравнения составили 20 (71,4 (51,3–86,8) %) мужчин, основную группу – 32 (49,2 (36,6–61,9) %) мужчины ($p = 0,05$). Пациенты в основной группе были старше, чем в группе сравнения: медиана возраста в основной группе – 71,0 (61,0–77,0) года, в группе сравнения – 60,5 (50,5–67,5) года ($p < 0,001$).

Микробиологическое исследование мокроты и ПВБ, ткани легкого было выполнено с помощью автоматического микробиологического анализатора VITEK 2 Compact (BioMerieux, Франция). У всех пациентов выявлен рост бактерий в диагностически значимых количествах (10^6 – 10^7 КОЕ/мл). Все полученные штаммы *K. pneumoniae* были с множественной (MDR) и экстремальной (XDR) антибиотикорезистентностью.

Для определения чувствительности к комбинациям из двух и трех АБ использовали модифицированный метод тестирования бактерицидности при различных комбинациях (Multiple combination bactericidal testing, MCBT) [10]. Все базовые растворы АБ готовили из порошкообразных чистых субстанций в день выполнения эксперимента, в качестве растворителя использовали стерильную дистиллированную воду. Выполняли стерилизующую фильтрацию базовых растворов (фильтры Filtropur S 0.2, Sarstedt, Германия). Чувствительность каждого штамма к 11 комбинациям исследования определяли в стерильных 96-луночных круглодонных полистироловых планшетах, используя бульон Мюллер–Хинтон. АБ тестировали в их фармакокинетических/фармакодинамических (ФК/ФД) концентрациях, приведенных в EUCAST [11].

Для статистического анализа результатов определяли медиану (Me) и межквартильный интервал [Q_{25} – Q_{75}]. Сопоставление групп по количественным признакам выполняли с помощью U -критерия Манна–Уитни. Для относительных значений определяли 95%-й доверительный интервал (min–max) методом Клоппера–Пирсона. Значимость различий относительных долей признаков рассчитывали с помощью критерия χ^2 Пирсона. Для обработки полученных данных использовали программный пакет Statistica 12.5. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Отягощенный преморбидный фон наблюдался у 61 (93,8 (85,0–98,3) %) пациента основной группы и у 26 (92,9 (76,5–99,1) %) человек группы сравнения. Структура сопутствующих заболеваний представлена в табл. 1.

У пациентов обеих исследуемых групп в анамнезе отмечались, как правило, болезни системы кровообращения и метаболические нарушения (различия статистически не значимы). Хроническая обструктивная болезнь легких и хронические заболевания почек чаще выявлялись у пациентов группы сравнения, остальные заболевания у пациентов двух групп не имели стати-

Таблица 1. Структура коморбидной патологии у пациентов, госпитализированных с вирусно-бактериальной пневмонией и бактериальной пневмонией, вызванной *K. pneumoniae*
 Table 1. Percentage composition of the comorbidities in the hospitalised patients with viral-bacterial and bacterial pneumonia caused by *K. pneumoniae*

Сопутствующие заболевания	Основная группа (n = 65)	Группа сравнения (n = 28)	χ^2	p
Артериальная гипертензия	50 (76,9 %)	16 (57,1 %)	3,72	0,054
Ишемическая болезнь сердца	52 (80,0 %)	20 (71,4 %)	0,82	0,36
Нарушение кровообращения	37 (56,9 %)	18 (64,3 %)	0,44	0,51
Ожирение	19 (29,2 %)	6 (21,4 %)	0,61	0,44
Сахарный диабет	17 (26,2 %)	5 (17,9 %)	0,75	0,39
Бронхиальная астма	3 (4,6 %)	3 (10,7 %)	1,21	0,27
Хроническая обструктивная болезнь легких	2 (3,1 %)	6 (21,4 %)	8,38	0,004
Интерстициальное заболевание легких	1 (1,5 %)	1 (3,6 %)	0,38	0,54
Онкологические заболевания	9 (13,8 %)	8 (28,6 %)	2,84	0,09
Хронические заболевания почек	3 (4,6 %)	7 (25,0 %)	8,47	0,004
Хронические заболевания печени	4 (6,2 %)	2 (7,1 %)	0,03	0,86

стически значимых различий. Полученная структура коморбидной патологии соответствует данным, приведенным зарубежными авторами [12].

Частота встречаемости бронхолегочных и общеинтоксикационных жалоб у госпитализированных пациентов на момент выявления в мокроте и ПВБ *K. pneumoniae* представлена на рис. 1.

На кашель ($\chi^2 = 24,33$, $p < 0,0001$) и отделение мокроты ($\chi^2 = 15,33$, $p < 0,0001$) чаще жаловались пациенты группы сравнения. Одышка ($\chi^2 = 10,48$, $p = 0,001$) и слабость ($\chi^2 = 4,05$, $p = 0,044$) в большинстве случаев беспокоили пациентов основной группы.

Умеренный лейкоцитоз в общем анализе крови выявлен у 41 (63,1 (50,2–74,7) %) пациента с вирусно-бактериальной пневмонией и у 18 (64,3 (44,1–81,4) %) человек с изолированной пневмонией (показатели статистически не значимы, $p = 0,91$). С-реактивный белок (СРБ) был повышен у всех пациентов основной группы – 65 (100 (94,5–100) %) человек и практически у всех пациентов группы сравнения – 27 (96,4 (81,7–99,9) %) человек ($p = 0,13$). Уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ) был повышен чаще у пациентов основной группы – 58 (89,2 (79,1–95,6) %) человек, в группе сравнения – только у половины пациентов – 16 (57,1 (37,2–75,5) %) человек ($\chi^2 = 12,4$, $p = 0,001$). Уровень прокальцитонина (ПКТ) был повышен у 59 (90,8 (81,0–96,6) %) пациентов основной

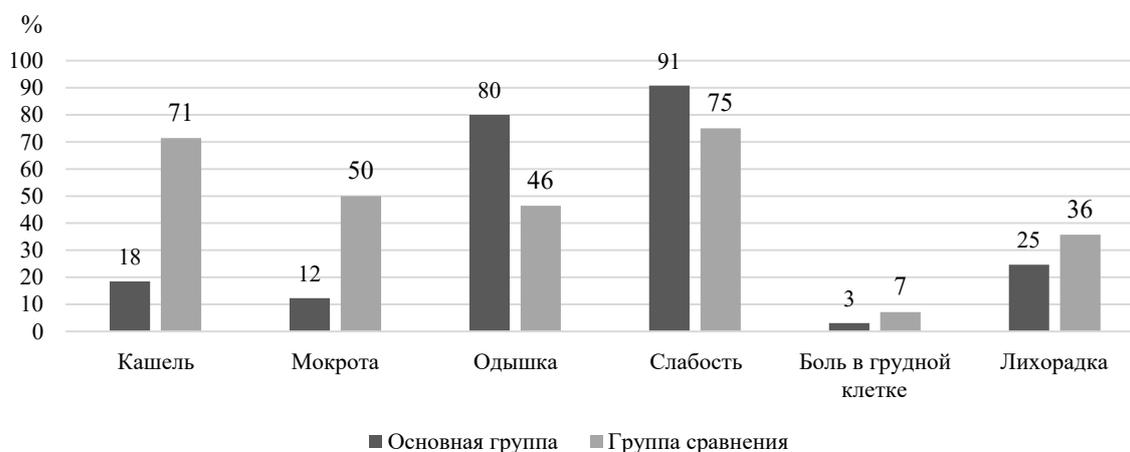


Рис. 1. Процентный состав жалоб пациентов с вирусно-бактериальной пневмонией и бактериальной пневмонией, вызванной *K. pneumoniae*

Fig. 1. Percentage composition of the complaints in patients with viral-bacterial and bacterial pneumonia caused by *K. pneumoniae*

группы и у 25 (89,3 (71,8–97,7) %) человек группы сравнения (показатели статистически не значимы, $p = 0,82$).

Данные общего и биохимического анализов крови, полученные в день забора мокроты и ПVB для микробиологического исследования, представлены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2. Лабораторные показатели у пациентов исследуемых групп, Me [Q₂₅–Q₇₅]

Table 2. Laboratory data in the patients of the investigated groups

Показатель	Норма	Основная группа (n = 65)	Группа сравнения (n = 28)	p
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л	4–9	11,1 [7,3–15,4]	10,2 [7,4–14,3]	0,24
ПКТ, нг/мл	0–0,5	1,1 [0,5–6,6]	0,8 [0,3–12,3]	0,96
СРБ, мг/л	0–6	133,5 [48,6–140,0]	66,4 [28,0–140,0]	0,19
ЛДГ, Ед/л	225–450	483,1 [363,0–655,0]	667,0 [356,4–1277,8]	0,98

Показатели гемограммы и биохимического анализа крови пациентов исследуемых групп не имели статистически значимых различий.

Медиана сроков выявления *K. pneumoniae* из исследуемых образцов биоматериала от начала заболевания у пациентов основной группы – 17,5 [12,5–26,0] дня, у пациентов группы сравнения – 14,0 [5,0–27,5] дня (показатели статистически не значимы, $p = 0,4$). Медиана сроков выявления возбудителя от момента госпитализации пациентов основной группы – 13,0 [8,0–17,0] дня, в группе сравнения – 9,5 [2,0–23,5] дня (показатели статистически не значимы, $p = 0,77$). Переведены в ГОТКБ из другого стационара 36 (55,4 (38,8–71,1) %) пациентов основной группы, где они пребывали на лечении более 48 ч, и 21 (75,0 (49,2–92,1) %) пациент группы сравнения (показатели статистически не значимы, $p = 0,07$).

Предшествующее лечение глюкокортикостероидами установлено у 58 (89,2 (75,6–96,8) %) пациентов основной группы и у 19 (67,9 (41,9–87,7) %) пациентов группы сравнения ($\chi^2 = 6,28$, $p = 0,012$).

Проходившие лечение по поводу инфекции COVID-19 с гипервоспалительным синдромом 7 (10,8 (3,2–24,4) %) пациентов основной группы получали ингибиторы интерлейкина-6 / ингибиторы янус-киназ. Подавляющее большинство пациентов обеих групп получали АБ еще до выявления *K. pneumoniae* в мокроте – 56 (86,2 (71,8–95,0) %) человек в основной группе и 27 (96,4 (76,3–99,9) %) пациентов в группе сравнения. АБ, которые принимали пациенты до выявления *K. pneumoniae* в исследуемых образцах биоматериала, представлены в табл. 3.

Т а б л и ц а 3. АБ, используемые для лечения пациентов до получения результатов микробиологического исследования

Table 3. Antibiotics used for treatment of patients prior to obtaining microbiological test results

АБ	Основная группа (n = 65)	Группа сравнения (n = 28)	χ^2	p
Цефалоспорины III–IV поколения	37 (56,9 %)	23 (82,1 %)	5,44	0,02
Респираторные фторхинолоны	39 (60,0 %)	22 (78,6 %)	2,99	0,08
Макролиды	2 (3,1 %)	6 (21,4 %)	8,38	0,004
Карбапенемы	29 (44,6 %)	11 (39,3 %)	0,23	0,6
Полимиксины	14 (21,5 %)	4 (14,3 %)	0,66	0,4
Гликопептиды, оксазолидиноны	8 (12,3 %)	1 (3,6 %)	1,71	0,2
Аминогликозиды	1 (1,5 %)	–	0,44	0,5
Аминопенициллины	1 (1,5 %)	1 (3,6 %)	0,38	0,5

Пациенты группы сравнения чаще принимали макролиды ($\chi^2 = 8,38$, $p = 0,004$) и цефалоспорины III–IV поколения ($\chi^2 = 5,44$, $p = 0,02$). При применении остальных групп препаратов статистически значимых различий между группами не наблюдалось.

Комбинации из двух АБ получали чаще пациенты основной группы – 26 (40,0 (24,8–56,7) %) человек, из группы сравнения – 5 (17,6 (4,1–42,8) %) пациентов ($\chi^2 = 4,32$, $p = 0,038$). Комбинации

из 3–4 АБ получали 23 (35,4 (20,9–52,1) %) пациента основной группы и 13 (46,4 (22,8–71,3) %) пациентов группы сравнения ($p = 0,3$).

Данные о лекарственной чувствительности к комбинациям из двух и трех АБ штаммов *K. pneumoniae*, выделенных из образцов мокроты и ПВБ пациентов основной группы и группы сравнения, представлены на рис. 2, 3.

В отношении подавляющего большинства штаммов *K. pneumoniae*, выделенных из исследуемого биоматериала пациентов основной группы, бактерицидный эффект оказывали все комбинации с включением колистина. Комбинация дорипенем-эртапенем оказалась неэффективной. Остальные комбинации с меропенемом без колистина (меропенем-амикацин, меропенем-левофлоксацин, меропенем-эртапенем) проявили крайне низкую бактерицидную активность.

Схожие результаты получены нами и в отношении штаммов *K. pneumoniae*, выделенных из образцов пациентов группы 2 (рис. 3). Все комбинации с колистином оказывали бактерицидный либо бактериостатический эффект на большую часть штаммов. Выявлена низкая бактерицидная активность комбинаций из двух карбапенемов.



Рис. 2. Эффективность комбинаций АБ в отношении штаммов *K. pneumoniae*, выделенных из биоматериала пациентов основной группы. Здесь и на рис. 3: МЕР – меропенем, ДОР – дорипенем, ЭРТ – эртапенем, АМК – амикацин, ЛЕВ – левофлоксацин, ТИГ – тигециклин, КОЛ – колистин, АЗИ – азитромицин, КЛР – кларитромицин

Fig. 2. Efficacy of antibiotics combinations against the strains of *K. pneumoniae* isolated from biological materials of the patients in the main study group. Here and in Fig. 3: МЕР – meropenem, ДОР – doripenem, ЭРТ – ertapenem, АМК – amikacin, ЛЕВ – levofloxacin, ТИГ – tigecycline, КОЛ – colistin, АЗИ – azithromycin, КЛР – clarithromycin

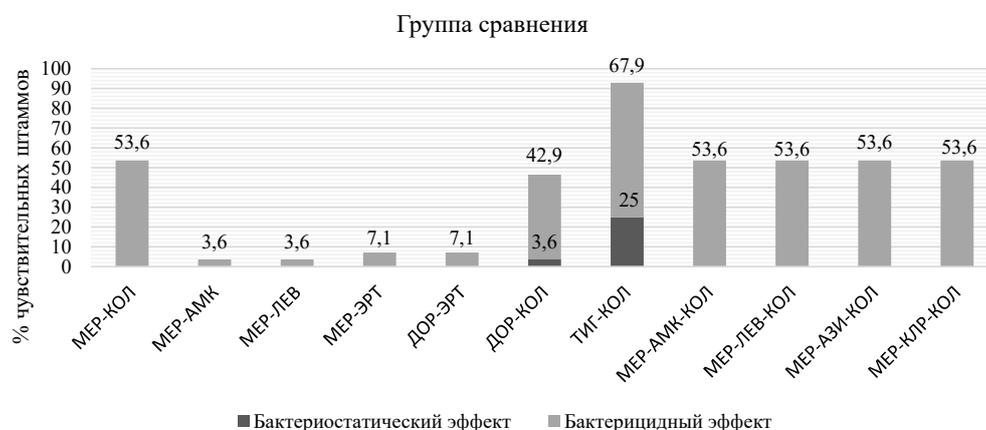


Рис. 3. Эффективность комбинаций АБ в отношении штаммов *K. pneumoniae*, выделенных из биоматериала пациентов группы сравнения

Fig. 3. Efficacy of antibiotics combinations against the strains of *K. pneumoniae* isolated from biological materials of the patients in the comparison group

В предыдущих исследованиях штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов с COVID-19 инфекцией в апреле 2020 г. – июне 2021 г. в Республике Беларусь, бактерицидный эффект комбинации меропенем с колистином отмечен лишь в отношении 13,7 % штаммов, а комбинации дорипенем с колистином – у 3,9 % штаммов. Комбинации из двух карбапенемов не проявляли ни бактерицидной, ни бактериостатической активности [13].

У изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из биоматериала госпитализированных пациентов с COVID-19 инфекцией, проведена детекция карбапенемаз (рис. 4).

У 40 (61,5 (48,6–73,3) %) изолятов *K. pneumoniae* выявлены карбапенемазы, в том числе КРС – у 22 %, ОХА-48 – у 17, NDM – у 8, сочетание ОХА-48 и NDM – у 15 %.

Полученные нами результаты несколько отличаются от данных схожих исследований, выполненных для изолятов *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов в стационарах г. Санкт-Петербурга (Российская Федерация) в 2016–2018 гг., где основным типом карбапенемаз, продуцируемых тестируемыми штаммами, были металло-β-лактамазы NDM (60,4 %) и сериновые карбапенемазы ОХА-48 (49,5 %). Карбапенемазы КРС обнаружены только у 1,1 % штаммов [14]. Исследователи из Швейцарии сообщают, что наиболее распространенной идентифицированной карбапенемазой у штаммов *K. pneumoniae*, выделенных из различных биологических материалов пациентов, была NDM-1 (44 %), а кроме того, выявлены КРС (КРС-3 – 28 %; КРС-41 – 8 %) и ОХА-48 (20 %) [15].

По завершении курса лечения выздоровели либо выписаны с улучшением 22 (33,8 (22,6–46,6) %) пациента основной группы и 19 (67,9 (47,6–84,1) %) пациентов группы сравнения ($\chi^2 = 9,18$, $p = 0,002$). Неблагоприятный (летальный) исход наблюдался чаще в основной группе – 43 (66,2 (53,4–77,4) %) случая, чем в группе сравнения – 9 (32,1 (15,9–52,4) %) случаев ($\chi^2 = 10,83$, $p = 0,001$).

Заключение. Особенностью вирусно-бактериальных пневмоний является большая тяжесть течения заболевания (частота летального исхода 66 % vs 32 %). Наиболее частыми сопутствующими патологиями были болезни системы кровообращения и метаболические нарушения. У пациентов без инфекции COVID-19 достоверно чаще встречались ХОБЛ и хронические болезни почек. Большинство выделенных от пациентов обеих групп штаммов *K. pneumoniae* являлись госпитальными и характеризовались множественной и экстремальной устойчивостью к антибактериальным препаратам. Отмечена низкая эффективность ряда комбинаций АБ, эмпирически назначаемых для лечения госпитальных инфекций (меропенем-амикацин, меропенем-левофлоксацин, меропенем-эртапенем). Комбинация дорипенем-эртапенем не проявила ни бактерицидной, ни бактериостатической активности. Невысокая эффективность (либо отсутствие эффекта) комбинаций АБ с карбапенемами может быть связана с продукцией штаммами *K. pneumoniae* карбапенемаз, а также с использованием карбапенемов для лечения пациентов до получения результатов микробиологического исследования. Показана значительная эффективность комбинаций АБ с включением колистина в отношении изолятов *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов обеих анализируемых групп. Это позволяет рекомендовать схемы лечения с включением колистина для лечения пневмонии, вызванной госпитальными штаммами *K. pneumoniae*, у пациентов с COVID-19 инфекцией и без нее.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № M23M-106).

Acknowledgements. The work was financially supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (grant No. M23M-106).

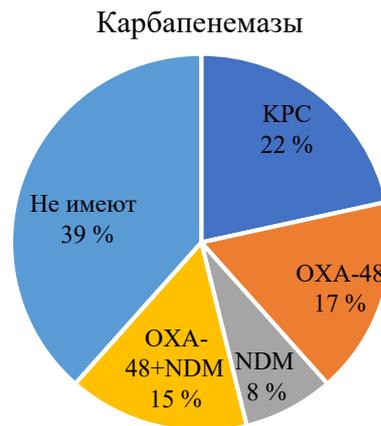


Рис. 4. Доля карбапенемаз различных типов у штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов с COVID-19 инфекцией

Fig. 4. Share of different-type carbapenemases in the strains of *K. pneumoniae* isolated from the patients with COVID-19

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. COVID-19 Weekly Epidemiological Update / World Health Organization. – Edition 158 published September 1, 2023. – URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20230901_weekly_epi_update_158.pdf?sfvrsn=b47cef7a_3&download=true (date of access: 12.12.2023).
2. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) associated bacterial coinfection: Incidence, diagnosis and treatment / H. Y. Wu, P. H. Chang, K. Y. Chen [et al.] // *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. – 2022. – Vol. 55, N 6, pt. 1. – P. 985–992. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2022.09.006>
3. Che Yusof, R. Bacterial coinfection and antibiotic resistance in hospitalized COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis / R. Che Yusof, M. N. Norhayati, Y. Mohd Azman // *PeerJ*. – 2023. – Vol. 26, N 11. – P. e15265. <https://doi.org/10.7717/peerj.15265>
4. Implications of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infected hospitalised patients with co-infections and clinical outcomes / J. A. Aldali, H. J. Aldali, R. Aljohani [et al.] // *Microorganisms*. – 2023. – Vol. 11, N 8. – Art. 1921. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11081921>
5. Novel antimicrobial agents for combating antibiotic-resistant bacteria / R. Y. Chang, S. C. Nang, H. K. Chan, J. Li // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2022. – Vol. 187. – Art. 114378. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2022.114378>
6. Pitout, J. D. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, a key pathogen set for global nosocomial dominance / J. D. Pitout, P. Nordmann, L. Poirel // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2015. – Vol. 59, N 10. – P. 5873–5884. <https://doi.org/10.1128/AAC.01019-15>
7. Нозокомиальная инфекция у пациентов с тяжелым и крайне тяжелым течением COVID-19 / М. В. Бычинин, И. О. Антонов, Т. В. Клыпа [и др.] // *Общая реаниматология*. – 2022. – Т. 18, № 1. – С. 4–10.
8. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023–2021 data. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control and World Health Organization, 2023. – URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2023-2021-data> (date of access: 12.12.2023).
9. Антонова, Е. Г. Антибактериальная терапия госпитальных инфекций, вызванных карбапенемазопродуцирующими штаммами *K. pneumoniae* / Е. Г. Антонова, И. В. Жильцов, И. И. Стахович // *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. – 2022. – Т. 21, № 3. – С. 69–76.
10. Тапальский, Д. В. Чувствительность к комбинациям антибиотиков продуцирующих карбапенемазы нозокомиальных штаммов грамотрицательных бактерий, выделенных в Беларуси / Д. В. Тапальский // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. – 2018. – Т. 20, № 3. – С. 182–191.
11. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0.2022 / The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. – URL: <http://www.eucast.org> (date of access: 29.01.2023).
12. Characteristics and risk factors of secondary bacterial infections in COVID-19 patients / G. Wu, J. Lu, D. Liu, Y. He // *Antimicrobial Stewardship and Healthcare Epidemiology*. – 2023. – Vol. 3, N 1. – P. e156. <https://doi.org/10.1017/ash.2023.425>
13. Тапальский, Д. В. Чувствительность к комбинациям антибиотиков штаммов *Klebsiella pneumoniae* и *Acinetobacter baumannii*, выделенных от пациентов с инфекцией COVID-19 / Д. В. Тапальский, Е. В. Карпова // *Проблемы здоровья и экологии*. – 2021. – Т. 18, № 4. – С. 33–40.
14. Фенотипическая и генотипическая оценка резистентности штаммов *Klebsiella pneumoniae*, продуцирующих карбапенемазы / А. А. Самойлова, Л. А. Краева, И. В. Лихачев [и др.] // *Имунопатология, аллергология, инфектология*. – 2022. – № 1. – С. 25–31.
15. Emergence of carbapenemase-producing hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in Switzerland / F. R. O. Hallal, P. Nordmann, P. M. Dominguez [et al.] // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2023. – Vol. 67, N 3. – P. e0142422. <https://doi.org/10.1128/aac.01424-22>

References

1. COVID-19 Weekly Epidemiological Update Edition. World Health Organization (Edition 158 published September 1, 2023). Available at: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20230901_weekly_epi_update_158.pdf?sfvrsn=b47cef7a_3&download=true (accessed 12.12.2023).
2. Wu H. Y., Chang P. H., Chen K. Y., Lin I. F., Hsieh W. H., Tsai W. L., Chen J. A., Lee S. S. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) associated bacterial coinfection: Incidence, diagnosis and treatment. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 2022, vol. 55, no. 6, pt. 1, pp. 985–992. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2022.09.006>
3. Che Y. R., Norhayati M. N., Mohd A. Y. Bacterial coinfection and antibiotic resistance in hospitalized COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *PeerJ*, 2023, vol. 26, no. 11, p. e15265. <https://doi.org/10.7717/peerj.15265>
4. Aldali J. A., Aldali H. J., Aljohani R., Algahtani M., Meo S. A., Alharbi S. [et al.]. Implications of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infected hospitalised patients with co-infections and clinical outcomes. *Microorganisms*, 2023, vol. 11, no. 8, art. 1921. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11081921>
5. Chang R. Y., Nang S. C., Chan H. K., Li J. Novel antimicrobial agents for combating antibiotic-resistant bacteria. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2022, vol. 187, art. 114378. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2022.114378>
6. Pitout J. D., Nordmann P., Poirel L. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, a key pathogen set for global nosocomial dominance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2015, vol. 59, no. 10, pp. 5873–5884. <https://doi.org/10.1128/AAC.01019-15>

7. Bychinin M. V., Antonov I. O., Klypa T. V., Mandel' I. A., Minets A. I., Kolyshkina N. A., Golobokova Ya. B. Nosocomial infection in patients with severe and critical COVID-19. *Obshchaya reanimatologiya* [General reanimatology], 2022, vol. 18, no. 1, pp. 4–10 (in Russian).

8. *Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023 – 2021 data*. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control and World Health Organization; 2023. Available at: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2023-2021-data> (accessed 12.12.2023).

9. Antonova E. G., Zhil'tsov I. V., Stakhovich I. I. Antibacterial therapy of hospital infections caused by carbapenemase-producing strains of *K. pneumoniae*. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* [Bulletin of Vitebsk State Medical University], 2022, vol. 21, no. 3, pp. 69–76 (in Russian).

10. Tapal'skii D. V. Susceptibility to antibiotic combinations among nosocomial carbapenemase-producing Gram-negative bacteria isolated in Belarus. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya* [Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy], 2018, vol. 20, no. 3, pp. 182–191 (in Russian).

11. *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version. 12.0.2022*. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Available at: <http://www.eucast.org> (accessed 29.01.2023).

12. Wu G., Lu J., Liu D., He Y. Characteristics and risk factors of secondary bacterial infections in COVID-19 patients. *Antimicrobial Stewardship and Healthcare Epidemiology*, 2023, vol. 3, no. 1, p. e156. <https://doi.org/10.1017/ash.2023.425>

13. Tapal'skii D. V., Karpova E. V. Susceptibility to antibiotic combinations of *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* strains isolated from COVID-19 patients. *Problemy zdorov'ya i ekologii* [Health and ecology issues], 2021, vol. 18, no. 4, pp. 33–40 (in Russian).

14. SamoiloVA A. A., Kraeva L. A., Likhachev I. V., Rogacheva E. V., Mikhailov N. V., Egorova S. A., Shiling E. A. Phenotypic and genotypic assessment of resistance of carbapenemase producing. *Immunopatologiya, allergologiya, infektsiologiya* [Immunopathology, allergology, infectology], 2022, no. 1, pp. 25–31 (in Russian).

15. Hallal F. R. O., Nordmann P., Dominguez P. M., Findlay J., Poirel L. Emergence of carbapenemase-producing hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in Switzerland. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2023, vol. 67, no. 3, p. e0142422. <https://doi.org/10.1128/aac.01424-22>

Информация об авторах

Левченко Кристина Владимировна – ассистент. Гомельский государственный медицинский университет (ул. Ланге, 5, 246000, г. Гомель, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-0368-0473>. E-mail: kristy_levchenko@mail.ru

Мицюра Виктор Михайлович – д-р мед. наук, профессор, заместитель директора по научной работе. Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека (ул. Ильича, 290, 246040, г. Гомель, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-0449-5026>. E-mail: mitsura_victor@tut.by

Тапальский Дмитрий Викторович – д-р мед. наук, профессор, директор. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-9484-7848>. E-mail: tapalskiy@gmail.com

Карпова Елена Васильевна – канд. мед. наук, заведующий кафедрой. Гомельский государственный медицинский университет (ул. Ланге, 5, 246000, г. Гомель, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-3952-6187>. E-mail: Lena_2007_23@mail.ru

Бондаренко Василий Николаевич – канд. мед. наук, доцент. Гомельский государственный медицинский университет (ул. Ланге, 5, 246000, г. Гомель, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0003-2701-2207>. E-mail: basyleus@rambler.ru

Information about the authors

Kristina V. Levchenko – Assistant. Gomel State Medical University (5, Lange Str., 246000, Gomel, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-0368-0473>. E-mail: kristy_levchenko@mail.ru

Viktor M. Mitsura – D. Sc. (Med.), Professor, Deputy Director for scientific work. Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology (290, Ilyich Str., 246040, Gomel, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-0449-5026>. E-mail: mitsura_victor@tut.by

Dmitry V. Tapalski – D. Sc. (Med.), Professor, Director. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-9484-7848>. E-mail: tapalskiy@gmail.com

Elena V. Karpova – Ph. D. (Med.), Head of the Department. Gomel State Medical University (5, Lange Str., 246000, Gomel, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-3952-6187>. E-mail: Lena_2007_23@mail.ru

Vasily N. Bondarenko – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Gomel State Medical University (5, Lange Str., 246000, Gomel, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0003-2701-2207>. E-mail: basyleus@rambler.ru

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

UDC 616.311:616.98:578.834.1SARS-CoV-2-06

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-26-32>

Received 11.10.2024

**Olga E. Bekjanova¹, Sergey P. Rubnikovich², Visola R. Kayumova¹,
Yuliya L. Denisova², Karina Y. Egorova²**

¹*Tashkent State Dental Institute, Tashkent, Republic of Uzbekistan*

²*Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus*

SYMPTOMS OF POST-COVID ORAL HEALTH CONDITIONS AND THEIR INFLUENCE ON THE RISK OF DEVELOPING DENTAL PATHOLOGY

Abstract. Post-COVID syndrome is diagnosed if symptoms last longer than 3 weeks after the onset of the disease, and a chronic course of the disease is determined if symptoms persist for more than 12 weeks. The investigation considered patients' complaints and the presence of infection in the oral cavity following COVID-19 and, based on this, evaluated the influence of distant symptoms on the risk of developing dental pathology. All subjects were interviewed using the most commonly used questionnaire OHIP-14, which determines the level of quality of life related to dental health. The most frequent complaint was a feeling of dryness in the oral cavity, which was reported by 30.04 % of the subjects (1.64 % in the control group). More than 24.90 % of patients who had COVID-19 noted loss of taste sensation (in the control group – 1.64 %). Clinical oral examination of COVID-19 patients revealed such oral mucosal lesions as erythema, papules, vesicles, as well as periodontal and salivary gland disorders.

Keywords: coronavirus infection, post-covid syndrome, dental pathology, xerostomia, taste and smell perception, oral candidiasis

For citation: Bekjanova O. E., Rubnikovich S. P., Kayumova V. R., Denisova Yu. L., Egorova K. Y. Symptoms of post-COVID oral health conditions and their influence on the risk of developing dental pathology. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2025, vol. 22, no. 1, pp. 26–32. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-26-32>

О. Е. Бекжанова¹, С. П. Рубникович², В. Р. Каюмова¹, Ю. Л. Денисова², К. Ю. Егорова²

¹*Ташкентский государственный стоматологический институт, Ташкент, Республика Узбекистан*

²*Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь*

СИМПТОМЫ ПОСТКОВИДНОГО СОСТОЯНИЯ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА РИСК РАЗВИТИЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ

Аннотация. При длительности постковидных симптомов более 3 недель от начала заболевания COVID диагностируют постковидный синдром, а при их длительности более 12 недель – хроническое течение заболевания. В ходе исследования учитывали жалобы пациентов и наличие инфекции в ротовой полости после перенесенного COVID-19 и на основе этого оценивали влияние отдаленных симптомов на риск развития стоматологической патологии. Все испытуемые были опрошены с помощью наиболее часто используемого опросника OHIP-14, определяющего уровень качества жизни, связанного со здоровьем зубов. Наиболее частыми были жалобы на чувство сухости в ротовой полости, которое предъявляли 30,04 % обследованных (в контрольной группе – 1,64 %). Более 24,90 % пациентов, переболевших COVID-19, отмечали потерю вкусовых ощущений (в контрольной группе – 1,64 %). При клиническом осмотре ротовой полости пациентов, перенесших COVID-19, выявлены такие поражения слизистой оболочки рта, как эритема, папулы, везикулы, а также заболевания периодонта и слюнных желез.

Ключевые слова: коронавирусная инфекция, постковидный синдром, стоматологическая патология, ксеростомия, восприятие вкуса и запаха, оральный кандидоз

Для цитирования: Симптомы постковидного состояния ротовой полости и их влияние на риск развития стоматологической патологии / О. Е. Бекжанова, С. П. Рубникович, В. Р. Каюмова [и др.] // *Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Сэрыя медыцынскіх навук.* – 2025. – Т. 22, № 1. – С. 26–32. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-26-32>

Introduction. Since the outbreak of COVID-19, many manifestations and outcomes of this viral disease have been described in various organs and systems (lungs, blood vessels, kidneys, brain, etc.) [1, 2].

Numerous oral symptoms have been described in patients with SARS-CoV-2 infection, and multiple mechanisms of oral injury in patients with COVID-19 have been discussed. However, to date, there are no characteristics of dental pathology in patients in the long-term period after undergoing COVID-19.

Interviewing patients is important to better understand and document oral manifestations associated with past COVID-19 [2–9].

It is now known that 10–30 % of patients who have had COVID-19, regardless of the severity of the coronavirus infection, have symptoms whose origin cannot be explained by an alternative diagnosis and affect many body systems. The duration of the post-COVID syndrome can reach several weeks or months. With a duration of more than 3 weeks from the onset of COVID-19, they speak of post-acute COVID-19 syndrome. If the duration of the symptoms is more than 12 weeks – about the chronic course. In the latter case, the phrase “long-covid syndrome” (long-covid) is increasingly mentioned in the literature. The maximum duration of the syndrome is unknown [10].

The likelihood of post-COVID syndrome is difficult to predict. Even patients with mild COVID-19 can develop severe post-COVID syndrome. The probability is also not related to age, a set of previous and concomitant diseases, social and psychological factors. Symptoms of post-covid syndrome may occur several weeks later, months after a seemingly recovery [11].

The cause of the development of the disease is viral and autoimmune mechanisms of damage to various organs and systems. At the same time, the presence of symptoms after an acute period does not at all mean the presence of a virus in the body [12, 13].

The aim of the study – to determine dental complaints and manifestations in the oral cavity after suffering COVID-19 and their impact on the risk of dental pathology based on the definition of long-term symptoms.

Materials and research methods. Data on the examined patients were obtained from copies of the case histories of the outpatient clinic of therapeutic dentistry at the Tashkent State Dental Institute. All subjects were surveyed using the most commonly used questionnaire OHIP-14, which determines the level of quality of life associated with dental health. Informed consent was provided for each patient to participate in the research [14, 15].

The study involved 4 groups of patients:

1 (control group) – 122 patients who had not previously had COVID-19 with a negative result of PCR testing and no antibodies to SARS-CoV-2.

The main groups were formed from patients with a history of COVID-19 more than 12 weeks ago and with and/or without symptoms, complaints, and secondary damage to organs and systems. Patients were divided into 3 groups according to the clinical severity of the post-COVID state.

2 (main group) – 120 patients (asymptomatic course) – with a personal history of COVID-19, these patients had no complaints characteristic of past COVID-19, and indicators of systemic inflammation and blood coagulation were within the normal range.

3 (main group) – 82 patients, these patients had complaints typical of previous COVID-19 without activation of indicators of systemic inflammation and blood coagulation.

4 (main group) – 51 patients, patients had complaints characteristic of previous COVID-19, secondary damage to organs and systems, and activation of indicators of systemic inflammation and blood coagulation.

The tables present indicators of conjugation of ranks, which will make it possible to determine the influence and significance of each of the risk factors using risk calculations and odds ratios according to the Pearson chi square – χ^2 criteria.

Results and its discussion. The study took into account groups affected by the factor and determined the frequency of outcomes.

The most common complaint among the examined patients was a feeling of dryness in the oral cavity, which was presented by 30.04 % of the examined vs 1.64 % in the control group ($\chi^2 = 40.300$; $p \leq 0.001$); while in patients with complete clinical recovery (group 1), the frequency of xerostomia was 10.0 %; with complaints (group 2) – 34.15 % and laboratory confirmation of inflammation – this frequency was already 70.59 % ($\chi^2 = 41.368$; $p \leq 0.001$), which proves the correlation between dry mouth and the severity of the post-COVID state (Tab. 1).

The most important signs of COVID-19 are taste disturbances and reduced odor perception. Although these manifestations are considered a neurological problem, loss of taste is undoubtedly a dental problem as well. More than 24.90 % of patients who recovered from COVID-19 complained of loss of taste

sensations vs 1.64 % in the control group ($\chi^2 = 31.083$; $p \leq 0.001$); at the same time, the prevalence of taste disorders increased progressively: 11.48; 26.82 and 52.97 % ($\chi^2 = 31.942$; $p \leq 0.001$); the corresponding ratio of patients with impaired odor perception was 14.62 % vs 2.46 % ($\chi^2 = 12.784$; $p \leq 0.001$; 8.43; 21.95 and 41.18 % ($\chi^2 = 20.839$; $p \leq 0.001$) (Tab. 1).

Table 1. Complaints of patients who underwent COVID-19 (in %)

Complaints	Control (n = 122)	Personal history of COVID-19 (V08.9)			Total patients (n = 253)
		Status after COVID-19 (V09.9)			
		Asymptomatic (n = 120)	Complaints typical of previous COVID-19 without activation of indicators of systemic inflammation and blood coagulation (n = 82)	Complaints characteristic of previous COVID-19, secondary damage to organs and systems, and activation of indicators of systemic inflammation and blood coagulation (n = 51)	
Dryness in the oral cavity	2/1.64	12/10.0	28/34.15	36/70.59	76/30.04
		$\chi^2 = 41.368$; $p \leq 0.001$			$\chi^2 = 40.300$; $p \leq 0.001$
Smell impairment	3/2.46	10/8.33	16/21.95	21/41.18	37/14.62
		$\chi^2 = 20.839$; $p \leq 0.001$			$\chi^2 = 12.784$; $p \leq 0.001$
Taste perception disorder	2/1.64	14/11.48	22/26.82	27/52.97	63/24.90
		$\chi^2 = 31.942$; $p \leq 0.001$			$\chi^2 = 31.083$; $p \leq 0.001$
Burning sensation in the oral cavity	4/3.28	7/5.83	10/12.20	17/33.33	34/13.44
		$\chi^2 = 14.039$; $p \leq 0.01$			$\chi^2 = 9.204$; $p \leq 0.001$
Difficulties with opening the mouth	3/2.46	8/6.56	10/12.20	15/29.41	35/13.84
		$\chi^2 = 13.214$; $p \leq 0.01$			$\chi^2 = 11.695$; $p \leq 0.001$
Smell from the mouth	80/65.57	110/90.16	80/97.56	51/100.0	243/96.05
		$\chi^2 = 155.962$; $p \leq 0.001$			$\chi^2 = 63.976$; $p \leq 0.001$
Facial pain	1/0.82	2/1.64	3/3.65	7/13.72	12/4.73
		$\chi^2 = 4.954$; $p \geq 0.05$			$\chi^2 = 3.786$; $p \geq 0.05$
Weakness of the chewing muscles	2/1.64	3/2.46	5/6.10	12/23.53	20/7.905
		$\chi^2 = 8.668$; $p \leq 0.05$			$\chi^2 = 5.851$; $p \leq 0.05$
Pain while eating and swallowing food	3/2.46	4/4.92	7/8.54	13/25.49	24/9.49
		$\chi^2 = 10.422$; $p \geq 0.05$			$\chi^2 = 7.764$; $p \leq 0.01$
Hyperemia, swelling of the face and/or neck	1/0.82	4/4.92	5/6.10	10/19.61	19/7.50
		$\chi^2 = 7.980$; $p \leq 0.05$			$\chi^2 = 7.297$; $p \leq 0.01$

Dental complaints of patients in the post-COVID period had a diverse spectrum. Some patients (13.44 %) noted burning sensation in the oral cavity vs 3.28 % in the control group ($\chi^2 = 9.204$; $p \leq 0.001$); difficulties with opening the mouth were found in 13.84 % vs 2.46 % ($\chi^2 = 11.695$; $p \leq 0.001$); facial pain, respectively, in 4.73 % vs 0.82 % ($\chi^2 = 3.786$; $p \geq 0.05$); weakness of masticatory muscles, respectively, in 7.905 % vs 1.64 % ($\chi^2 = 8.851$; $p \leq 0.05$); for pain during eating and swallowing food, respectively, 9.49 % vs 2.46 % ($\chi^2 = 7.764$; $p \leq 0.01$) and for flushing and swelling of the face and/or neck, 7.50 % of patients vs 0.82 of the control group ($\chi^2 = 7.297$; $p \leq 0.01$) (Tab. 1). Thus, the presence of COVID-19 in history significantly increases the frequency of complaints.

At the same time, a significant influence of the nature of the clinical course of the post-COVID period on the frequency of registration of complaints was shown. Thus, the frequency of complaints of burning in the mouth increased from 5.83 % in patients without complications to 12.20 % in patients with complaints and reached 33.33 % in patients with laboratory-confirmed inflammation ($\chi^2 = 14.039$; $p \leq 0.01$); the corresponding dynamics of difficulty opening the mouth was 6.56; 12.20 and 29.41 % ($\chi^2 = 13.214$; $p \leq 0.01$); facial pain 1.64; 3.65 and 13.72 % ($\chi^2 = 4.954$; $p \geq 0.05$); weakness of masticatory muscles, respectively, 2.46; 6.10 and 23.53 % ($\chi^2 = 8.668$; $p \leq 0.05$); pain during eating and swallowing food 4.92; 8.54 and 25.49 % ($\chi^2 = 10.422$; $p \geq 0.05$) and hyperemia and swelling of the face and/or neck 4.92; 6.10 and 19.61 % ($\chi^2 = 7.980$; $p \leq 0.05$) (Tab. 1).

The most common complaint in the studied groups was a complaint of bad breath, which was experienced by 96.05 % of patients who underwent COVID-19 and 65.57 % of the control group ($\chi^2 = 63.976$; $p \leq 0.001$); at the same time, 90.16 % of patients with an asymptomatic post-covid state complained of bad breath; 97.56 % of respondents with complaints and 100.00 % of patients with laboratory signs of inflammation ($\chi^2 = 155.962$; $p \leq 0.001$) (Tab. 1).

Table 2. The impact of previous COVID-19 on the risk of dental complaints

Complaints	Relative risks	95 % CI	
		5 %	95 %
Dryness in the oral cavity	18.324	4.576	73.372
Smell impairment	5.947	1.871–18.907	
Taste perception	15.190	3.779–61.050	
Burning sensation in the oral cavity	4.099	1.488–11.291	
Difficulties with opening the mouth	5.626	1.765–17.931	
Smell from the mouth	1.465	1.285–1.670	
Facial pain	5.787	0.761–43.996	
Weakness of the chewing muscles	4.822	1.145–20.301	
Pain while eating and swallowing food	3.858	1.185–12.563	
Hyperemia, swelling of the face and / or neck	9.162	1.243–67.650	

As can be seen from Tab. 2, a history of COVID-19 significantly increases the risk of dental complaints. Thus, the risk of dryness in the mouth was 18.324 (95 % CI 4.576–73.372); impaired odor perception – 5.947 (95 % CI 1.871–18.907); taste disturbance, 15.190 (95 % CI 3.779–61.050); burning in the mouth – 4.099 (95 % CI 1.488–11.291); difficulty opening the mouth, 5.626 (95 % CI 1.765–17.931); bad breath, 1.465 (95 % CI 1.285–1.670); facial pain – 5.787 (95 % CI 0.761–43.996); masticatory muscle weakness – 4.822 (95 % CI 1.145–20.301); pain when eating – 3.858 (95 % CI 1.185–12.563) and flushing and/or swelling of the face – 9.162 (1.243–67.650).

During a clinical examination of the oral cavity of patients who underwent COVID-19, such lesions of the oral mucosa as erythema, papules, vesicles, etc. were found. Often these lesions were transitional elements from the initial lesions of the mucosa in the form of a spot to the developed forms in the form of bulls and/or vesicles and ulcers. A detailed analysis made it possible to differentiate these lesions.

Thus, the frequency of erythema in patients who underwent COVID-19 was 8.30 % vs 2.46 % in the control group ($\chi^2 = 4.584$; $p \leq 0.05$; RR = 3.375; 95 % CI 1.027–11.099); the prevalence of petechiae, respectively, 12.65 % vs 2.46 % ($\chi^2 = 10.078$; $p \leq 0.02$; RR = 5.144; 95 % CI 1.067–16.467); at the same time, the incidence of macular spots was 15.02 % vs 1.64 % ($\chi^2 = 15.465$; $p \leq 0.001$; RR = 9.162; 95 % CI 2.247–37.356); and papules, respectively, 9.49 % vs 3.28 % ($\chi^2 = 4.590$; $p \leq 0.0039$; RR = 2.893; 95 % CI 1.026–8.155); the frequency of pustules, respectively, 10.76 % vs 2.46 % ($\chi^2 = 7.543$; $p \leq 0.007$; RR = 4.340; 95 % CI 1.343–14.026); bullous elements occurred 5.53 % vs 1.63 % ($\chi^2 = 3.056$; $p \geq 0.080$; RR = 3.375; 95 % CI 0.779–14.619); the corresponding ratio of vesicles was 4.35 % vs 0.82 % ($\chi^2 = 3.38$; $p \leq 0.07$; RR = 5.304; 95 % CI 0.693–46.620). In general, ulcerative lesions of the oral mucosa occurred in 14.23 % of patients in the post-COVID state and in 4.10 % of the examined control groups ($\chi^2 = 8.801$; $p \leq 0.004$; RR = 3.472; 95 % CI 1.397–8.627) (Tab. 3, 4).

Table 3. Prevalence (in %) of the pathology of the oral mucosa and tongue in patients who have had COVID-19

Pathology of the oral mucosa	Control (n = 122)	Personal history of COVID-19 (V08.9)			Total patients (n = 122)
		Status after COVID-19 (V09.9)			
		Asymptomatic (n = 120)	Complaints typical of previous COVID-19 without activation of indicators of systemic inflammation and blood coagulation (n = 82)	Complaints characteristic of previous COVID-19, secondary damage to organs and systems, and activation of indicators of systemic inflammation and blood coagulation (n = 51)	
Erythema	3/2.46	4/3.33	5/6.10	12/23.53	21/8.30
		$\chi^2 = 8.867; p \leq 0.05$			$\chi^2 = 4.584; p \leq 0.05$
Petechiae	3/2.46	6/5.00	11/13.41	15/29.41	32/12.65
		$\chi^2 = 13.484; p \leq 0.01$			$\chi^2 = 10.078; p \leq 0.02$
Macular spots	2/1.64	7/5.83	14/17.07	17/33.33	38/15.02
		$\chi^2 = 17.034; p \leq 0.01$			$\chi^2 = 15.465; p \leq 0.001$
Papules	4/3.28	5/4.17	7/8.54	12/23.53	24/9.49
		$\chi^2 = 10.087; p \leq 0.01$			$\chi^2 = 4.590; p \leq 0.0039$
Pustules	3/2.46	7/5.83	8/9.76	12/23.53	27/10.67
		$\chi^2 = 10.323; p \leq 0.05$			$\chi^2 = 7.543; p \leq 0.007$
Bullous elements	2/1.63	1/0.83	5/6.10	8/15.69	14/5.53
		$\chi^2 = 7.992; p \leq 0.05$			$\chi^2 = 3.056; p \leq 0.080$
Vesicles	1/0.82	2/1.64	3/3.66	6/11.76	11/4.35
		$\chi^2 = 4.447; p \leq 0.05$			$\chi^2 = 3.38; p \leq 0.07$
Ulcerative lesions	5/4.10	6/5.90	9/10.98	21/41.18	36/14.23
		$\chi^2 = 16.252; p \leq 0.01$			$\chi^2 = 8.801; p \leq 0.004$
Desquamative gingivitis	22/18.03	23/19.17	32/39.02	46/90.20	101/39.53
		$\chi^2 = 49.521; p \leq 0.001$			$\chi^2 = 17.891; p \leq 0.001$
Desquamative glossitis	14/11.48	18/15.00	28/34.15	32/62.75	78/30.83
		$\chi^2 = 34.853; p \leq 0.001$			$\chi^2 = 17.891; p \leq 0.001$
Villous tongue	8/6.56	19/15.83	27/32.93	33/64.71	79/31.23
		$\chi^2 = 35.558; p \leq 0.001$			$\chi^2 = 16.654; p \leq 0.001$
Oral candidiasis	15/12.30	24/20.0	29/35.37	45/88.24	98/38.74
		$\chi^2 = 44.544; p \leq 0.001$			$\chi^2 = 27.338; p \leq 0.001$
Herpetiform lesions	4/3.28	8/6.67	13/15.85	21/41.18	42/16.67
		$\chi^2 = 18.064; p \leq 0.001$			$\chi^2 = 13.574; p \leq 0.001$
Lichen planus	6/4.92	9/7.50	14/17.07	27/52.94	50/19.76
		$\chi^2 = 22.284; p \leq 0.001$			$\chi^2 = 14.278; p \leq 0.001$

Table 4. Impact of previous COVID-19 on the risk of developing oral pathology

Nosology	Relative risks	95 % DI	
		5 %	95 %
Erythema	3.375	1.027	11.099
Petechiae	5.144	1.067	16.467
Macular spots	9.162	2.247	37.356
Papules	2.893	1.026	8.155
Pustules	4.340	1.343	14.026
Bullous elements	3.375	0.779	14.619
Vesicles	5.304	0.693	46.620
Ulcerative lesions	3.472	1.397	8.627
Desquamative gingivitis	2.214	1.473	3.307
Desquamative glossitis	2.687	1.587	4.547
Villous tongue	4.762	2.318	9.535
Oral candidiasis	3.150	1.913	5.187
Herpetiform lesions	5.022	1.843	13.684
Lichen planus	4.018	1.772	9.113

Noteworthy is the high incidence of desquamative gingivitis, equal to 39.53 % in patients in the post-covid state vs 18.03 % in the control group ($\chi^2 = 17.891$; $p \leq 0.001$; RR = 2.214; 95 % CI 1.473–3.307) and desquamative glossitis, respectively 30.83 % vs 11.48 % ($\chi^2 = 17.891$; $p \leq 0.001$; RR = 2.687; 95 % DI 1.587–4.547); and the corresponding frequency of such a symptom as a villous tongue was 31.23 % vs 6.56 % ($\chi^2 = 16.654$; $p \leq 0.001$; RR = 4.762; 95 % CI 2.318–9.535).

At the same time, patients in the post-COVID period showed a higher incidence of oral candidiasis – 38.74 % vs 12.30 % ($\chi^2 = 27.338$; $p \leq 0.001$; RR = 3.150; 95 % CI 1.913–5.187); herpetiform lesions of the oral mucosa – 16.67 % vs 3.28 % ($\chi^2 = 13.574$; $p \leq 0.001$; RR = 5.022; 95 % CI 1.843–13.684), as well as lichen planus mucosal tract – 19.76 % vs 4.92 % ($\chi^2 = 14.278$; $p \leq 0.001$; RR = 4.018; 95 % CI 1.772–9.113) (Tab. 3, 4).

Thus, in patients in the post-COVID period, a higher prevalence of pathology of the oral mucosa, mucous membrane of the tongue, and periodontium are recorded, while the presence of previous COVID-19 increases the risk of the detected pathology by 3.375–9.162 times (Tab. 3, 4).

Even though we did not find specific dental diseases, symptoms, or combinations of them for COVID-19, an increase in the prevalence of pathology was found in those who had coronavirus infection in the oral cavity, initiated by the general effect of intoxication and somatic pathology on the body.

In this connection, the association between the clinical characteristics of patients who underwent COVID-19 (assessed by levels of systemic inflammation and blood coagulation) and the severity and prevalence of dental pathology was investigated (see Tab. 3).

As can be seen from the data presented in Tab. 3, a significant correlation was established between the severity of clinical manifestations of the post-COVID period and the prevalence of dental pathology. Thus, the prevalence of erythema progressively increases from 3.33 % in asymptomatic patients to 6.10 % in patients with complaints and maximum – 23.53 % in patients with positive laboratory tests ($\chi^2 = 8.867$; $p \leq 0.05$); petechiae, respectively, 5.00; 13.41 and 29.41 % ($\chi^2 = 13.484$; $p \leq 0.01$); macula – 5.83; 17.07 and 33.33 % ($\chi^2 = 17.034$; $p \leq 0.01$); papules – 4.17; 8.54 and 23.53 % ($\chi^2 = 10.087$; $p \leq 0.01$); pustules – 5.83; 9.76 and 23.53 % ($\chi^2 = 10.323$; $p \leq 0.05$); bulla – 0.83; 6.10 and 15.69 % ($\chi^2 = 7.992$; $p \leq 0.05$); the prevalence of vesicles was 1.64; 3.66 and 11.76 % ($\chi^2 = 4.447$; $p \leq 0.05$); ulcerative lesions of the oral mucosa, respectively, 5.90; 10.98 and 41.18 % ($\chi^2 = 16.252$; $p \leq 0.01$); while the frequency of desquamative gingivitis left 19.17; 39.02 and 90.20 % ($\chi^2 = 49.521$; $p \leq 0.001$); desquamated glossitis 15.00; 34.15 and 62.75 % ($\chi^2 = 34.853$; $p \leq 0.001$); and villous tongue, respectively, 15.83; 32.93 and 64.71 % ($\chi^2 = 35.558$; $p \leq 0.001$); at the same time, the incidence of candidiasis of the oral mucosa increased from 20.00 to 35.37 and 88.24 % ($\chi^2 = 44.544$; $p \leq 0.001$); and the prevalence of herpetiform lesions from 6.67 to 15.85 and 41.18 % ($\chi^2 = 18.064$; $p \leq 0.001$); at the same time, a significant increase in the prevalence of OMM candidiasis was registered from 7.50 to 17.07 and 52.94 % ($\chi^2 = 22.284$; $p \leq 0.001$) (Tab. 3).

Conclusion. COVID-19 is a respiratory infection that manifests itself in other organs, independently or simultaneously with respiratory symptoms. One such organ is the oral cavity, where patients may develop lesions of the oral mucosa, periodontium, and salivary glands. These include COVID-19-specific bullous and/or erythematous lesions of the oral mucosa, candidiasis, tongue lesions, along with an increase in the prevalence of oral pathologies such as aphthous ulcers, stomatitis and glossitis – all of which are considered important early signs of the disease, as they may precede respiratory symptoms and are associated with more severe COVID-19 phenotypes. Moreover, patients with COVID-19 suffer from caries and periodontal disease to a greater extent than healthy controls. A positive correlation between dental pathology and COVID-19 indicates the need to organize its prevention and treatment.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

References

1. Fu L., Wang B., Yuan T., Chen X., Ao Y., Fitzpatrick T. [et al.]. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Infection*, 2020, vol. 80, no. 6, pp. 656–659. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.041>

2. Wu C., Chen X., Cai Y., Xia J., Zhou X., Xu S., Song Y. 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/10.1001/jamainternmed.2020.0994>
3. Alimova D. M., Fazylova L. G. Optimization of treatment of patients with chronic generalized periodontitis after suffering from coronavirus infection COVID-19. *International Conference on Business Economics, Management, Engineering Technology, Medical and Health Sciences*, 2021, pp. 48–51.
4. Bekjanova O. E., Adizov M. A. State of hard tissues of teeth of workers in oil refining industry. *KRS Journal of Medicine*, 2022, vol. 2, no. 4, pp. 46–50.
5. Bekjanova O. E., Adizov M. A., Astanakulova M. Assessment of the prevalence and severity of caries in patients with gastroesophageal reflux disease. *Medicine and Innovation*, 2021, vol. 1, no. 4, pp. 567–573.
6. Bekjanova O. E., Kayumova V. R., Rizaev E. A. Features of the development of oral candidiasis infection in COVID-19. *Journal of Dental and Craniofacial Research*, 2021, vol. 2, no. 3, pp. 24–31.
7. Denisova Yu. L., Egorova K. Y. Clinical and laboratory assessment of the condition of periodontal tissues in patients with coronavirus infection. *Stomatolog [Dentist]*, 2024, no. 1, pp. 47–50 (in Russian). [https://doi.org/10.32993/dentist.2024.1\(52\).4](https://doi.org/10.32993/dentist.2024.1(52).4)
8. Denisova Yu. L., Egorova K. Y. Features of clinical manifestations of coronavirus infection in the oral cavity. *Stomatolog [Dentist]*, 2021, no. 3, pp. 55–59 (in Russian). [https://doi.org/10.32993/dentist.2021.3\(42\).5](https://doi.org/10.32993/dentist.2021.3(42).5)
9. Tsuchiya H. Oral symptoms associated with COVID-19 and their pathogenic mechanisms: A literature review. *Dentistry Journal*, 2021, vol. 9, no. 3, art. 32. <https://doi.org/10.3390/dj9030032>
10. Nalbandian A., Sehgal K., Gupta A., Madhavan M. V., McGroder C., Stevens J. S. [et al.]. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nature Medicine*, 2021, vol. 27, no. 4, pp. 601–615. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01283-z>
11. Mirzoyevna A. M., Esenovna B. O. The role of cytokines in the pathogenesis of exfoliative cheilitis. *European Science Review*, 2018, vol. 3, no. 4, pp. 136–139.
12. Alimova D. M. Effect of lipid peroxidation on severity of clinical course and recurrence of aphthous stomatitis. *European Science Review*, 2016, no. 9–10, pp. 60–63.
13. Chen L., Zhao J., Peng J., Li X., Deng X., Geng Z., Shen Z., Guo F., Zhang Q., Jin Y. [et al.]. Detection of 2019-nCoV in saliva gland characterization of oral symptoms in COVID-19 patients. *Preprints with The Lancet*, 2020. <https://doi.org/10.2139/ssrn.3556665>
14. Bekjanova O. E., Kayumova V. R., Shukurova U. A. Indicators of mixed saliva in patients in the postcovid period. *Meditsinskie novosti [Medical news]*, 2022, no. 6, pp. 72–75 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2020-17-1-20-27>
15. Bekjanova O. E., Kayumova V. R. Clinical manifestations of COVID-19 in the oral cavity. *Stomatologiya [Dentistry]*, 2021, no. 1, pp. 60–64 (in Russian).

Information about the authors

Olga E. Bekjanova – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Tashkent State Dental Institute (103, Makhtumkuli Str., Tashkent, Republic of Uzbekistan). <https://orcid.org/0000-0002-1686-1820>.

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

Visola R. Kayumova – Ph. D. (Med.), Assistant. Tashkent State Dental Institute (103, Makhtumkuli Str., Tashkent, Republic of Uzbekistan). <https://orcid.org/0000-0001-8391-6740>.

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>. E-mail: denisova-yul@mail.ru

Karina Y. Egorova – Ph. D. (Med.), Assistant. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0009-0007-6814-3349>.

Информация об авторах

Бекжанова Ольга Евгеньевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Ташкентский государственный стоматологический институт (ул. Махтумкули, 103, г. Ташкент, Республика Узбекистан). <https://orcid.org/0000-0002-1686-1820>.

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

Кайумова Висола Раимовна – канд. мед. наук, ассистент. Ташкентский государственный стоматологический институт (ул. Махтумкули, 103, г. Ташкент, Узбекистан). <https://orcid.org/0000-0001-8391-6740>.

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>. E-mail: denisova-yul@mail.ru

Егорова Карина Юрьевна – канд. мед. наук, ассистент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0009-0007-6814-3349>

ISSN 1814-6023 (Print)
 ISSN 2524-2350 (Online)
 УДК 616.216.3-073.756.8
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-33-44>

Поступила в редакцию 04.11.2024
 Received 04.11.2024

С. Л. Кабак¹, Ю. М. Мельниченко¹, Н. А. Саврасова², М. П. Юферева¹, Т. А. Шевчук¹

¹Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

²Медицинский центр «Элегия», Минск, Республика Беларусь

ЛИНЕЙНЫЕ И ОБЪЕМНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ПАЗУХИ КЛИНОВИДНОЙ КОСТИ ПО ДАННЫМ КОНУСНО-ЛУЧЕВОЙ КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ

Аннотация. Пазуха клиновидной кости является одной из четырех воздухоносных полостей черепа, сообщающихся с полостью носа. Она характеризуется высокой индивидуальной анатомической вариабельностью, включая половой диморфизм, этнической и географической изменчивостью морфометрических параметров.

Цель исследования – установить зависимость морфометрических параметров пазухи клиновидной кости от ее протяженности в переднезаднем и латеральном направлениях.

Изучены данные конусно-лучевой компьютерной томографии 245 стоматологических и ЛОР-пациентов (98 мужчин и 147 женщин, средний возраст 37 ± 13 лет), получивших медицинскую помощь в частных медицинских центрах г. Минска в 2023–2024 гг.

Постселлярный тип пазухи клиновидной кости оказался доминирующим как у мужчин, так и у женщин (71,4 и 66,6 % соответственно). Объем воздухоносной полости в изученной выборке варьировался в пределах 3,4–37,5 см³ и у мужчин был больше, чем у женщин. У пациентов в возрасте до 30 лет объем и ширина пазухи клиновидной кости оказались статистически значимо больше, чем у пациентов 31–84 лет. Все линейные размеры пазухи были больше при ее постселлярном типе. Ширина и объем пазухи с латеральной экспансией в большие крылья клиновидной кости статистически значимо больше, чем при отсутствии этой экспансии. У 56,7 % пациентов присутствовала парная пазуха клиновидной кости, разделенная перегородкой на правую и левую половины, чаще асимметричные. В 11,0 % случаев обнаружена одна воздушная полость. При этом контралатеральная сторона пазухи была сильно редуцирована. У 32,3 % пациентов помимо основной перегородки имелись добавочные перегородки, которые почти в половине случаев прикреплялись к костной стенке борозды внутренней сонной артерии при ее протрузии в пазуху.

В связи с высокой изменчивостью морфометрических параметров воздухоносной полости при рассмотрении возможности эндоскопического трансфеноидального доступа к основанию черепа рекомендуется проводить детальную предоперационную визуализацию пазухи клиновидной кости.

Ключевые слова: пазуха клиновидной кости, внутренняя сонная артерия, перегородка пазухи клиновидной кости, конусно-лучевая компьютерная томография

Для цитирования: Линейные и объемные параметры пазухи клиновидной кости по данным конусно-лучевой компьютерной томографии / С. Л. Кабак, Ю. М. Мельниченко, Н. А. Саврасова [и др.] // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2025. – Т. 22, № 1. – С. 33–44. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-33-44>

Sergey L. Kabak¹, Yuliya M. Melnichenko¹, Nina A. Savrasova², Melania P. Iofereva¹, Tatjana A. Shevchuk¹

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

²Dental clinic “Elegiya”, Minsk, Republic of Belarus

LINEAR AND VOLUMETRIC PARAMETERS OF THE SPHENOID SINUS ACCORDING TO CONE BEAM COMPUTED TOMOGRAPHY

Abstract. Sphenoid sinus is one of four air-filled spaces inside cranium bones, which drain into the nasal cavity. It has high individual anatomical variability, including sexual dimorphism, ethnic and geographic variations in morphometric parameters.

The purpose of the study was to establish the dependence of the morphometric parameters of the sphenoid sinus on its extent in the dorsal and lateral directions.

Cone beam computed tomography (CBCT) data of 245 patients (98 males and 147 females, mean age 37 ± 13 years) who received dental and ENT care at a private medical center in Minsk in 2023–2024 were assessed.

The postsellar type of the sphenoid sinus was more frequent in males and females (71.4 and 66.6 %, respectively). The volume of the sinus in the present study varied between 3.4–37.5 cm³. It was larger in males. In patients under 30 years of age, the volume and width of the sphenoid sinus were significantly larger compared to patients 31–84 years old. All linear dimensions of the sinus were significantly larger in the postsellar type. The width and volume of the sinus were significantly larger as lateral expansion into the greater wings of the sphenoid occurred. In 56.7 % of patients, the sphenoid sinus was divided by the septum into right and left parts, most often asymmetric. In 11.0 % of cases, one air cavity was detected. In 32.3 % of patients, in addition to the main septum, accessory septa were present, which in about half the cases were inserted at the wall of carotid prominence.

Due to the high variability of the morphometric parameters of the sphenoid sinus, when considering the possibility of an endoscopic transsphenoidal approach to the skull base, a thorough preoperative CBCT examination of the sinuses is recommended.

Keywords: sphenoid sinus, internal carotid artery, sphenoidal septum, cone beam computed tomography

For citation: Kabak S. L., Melnichenko Y. M., Savrasova N. A., Iofereva M. P., Shevchuk T. A. Linear and volumetric parameters of the sphenoid sinus according to cone beam computed tomography. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2025, vol. 22, no. 1, pp. 33–44 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-33-44>

Введение. Пазуха клиновидной кости¹ – одна из четырех воздухоносных полостей черепа, сообщающихся с полостью носа, – характеризуется высокой индивидуальной анатомической вариабельностью, включая половой диморфизм, этнической и географической изменчивостью морфометрических параметров [1, 2]. По данным литературы, горизонтальный размер пазухи, как правило, самый большой, а переднезадний диаметр – самый короткий [3, 4]. При рождении пазуха клиновидной кости находится в рудиментарном состоянии. Ее быстрое развитие начинается примерно с 3-летнего возраста, к 7 годам ее задняя стенка доходит до уровня турецкого седла, а к 12–13 годам пазуха практически достигает своих дефинитивных размеров [5–8].

В зависимости от протяженности воздухоносной полости клиновидной кости в переднезаднем направлении различают четыре типа пазухи: конхальный, преселлярный, селлярный и постселлярный [9, 10]. Частота встречаемости этих типов пазух существенно варьируется в разных популяциях [11, 12].

При латеральной экспансии за пределы тела клиновидной кости воздухоносная полость может заходить в крыловидные отростки, большие и малые крылья [13]. По данным Parameshwar с соавт. [11], одно- или двусторонняя пневматизация больших крыльев встречается в 26,8 % пазух.

Цель исследования – установить зависимость морфометрических параметров пазухи клиновидной кости от ее протяженности в переднезаднем и латеральном направлениях у жителей Республики Беларусь.

Материалы и методы исследования. Изучены данные конусно-лучевой компьютерной томографии (КЛКТ) 244 стоматологических и ЛОР-пациентов в возрасте от 18 до 84 лет (98 мужчин и 146 женщин, средний возраст 37 ± 13 лет), получивших медицинскую помощь в частных медицинских центрах г. Минска в 2023–2024 гг. Рентгенологическое исследование было выполнено на аппарате ProMax® 3D Max (Planmeca Oy, Helsinki, Финляндия) в программе Planmeca Romexis и на аппарате GALILEOS GAX5 в программе GALILEOS Viewer (Sirona, Bensheim, Германия) по стандартным методикам для визуализации околоносовых пазух.

Линейные размеры и объем пазух конхального и преселлярного типов не учитывали при расчете статических параметров, так как у таких пациентов тело клиновидной кости пневматизировалось на небольшом протяжении, и отсутствовала латеральная экспансия воздухоносной полости. Кроме того, такие типы пазухи были выявлены всего у 10 человек (4 % от общего количества пациентов).

Результаты исследования представлены в виде абсолютных величин и процентного соотношения. В список агрегированных показателей вошли: среднее значение, стандартное отклонение, медиана, процентная доля с указанием ее интервального покрытия (доверительного интервала (ДИ) с уровнем надежности 95 %). Вариабельность признаков оценивали с помощью коэффициента вариации. Проверку на соответствие выборочных совокупностей закону нормального распределения проводили с использованием теста Колмогорова–Смирнова и критерия согласия Шапиро–Уилка при уровне значимости 0,05. Для сравнения двух выборок количественных данных при нормальном распределении применяли *t*-критерий Стьюдента. Анализ выборок количественных данных, распределение которых было отличным от нормального, проводили с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни (*U*-тест). При сравнении качественных признаков использовали критерий соответствия Пирсона (метод χ^2). Статистически значимым

¹ Такое название представлено в Международной анатомической терминологии (FIPAT TA2) последней редакции (2019). В связи с этим в статье не используется термин «клиновидные пазухи», который встречается в литературе. Авторы считают, что в теле клиновидной кости находится одна воздухоносная полость, разделенная полной костной перегородкой на две половины.

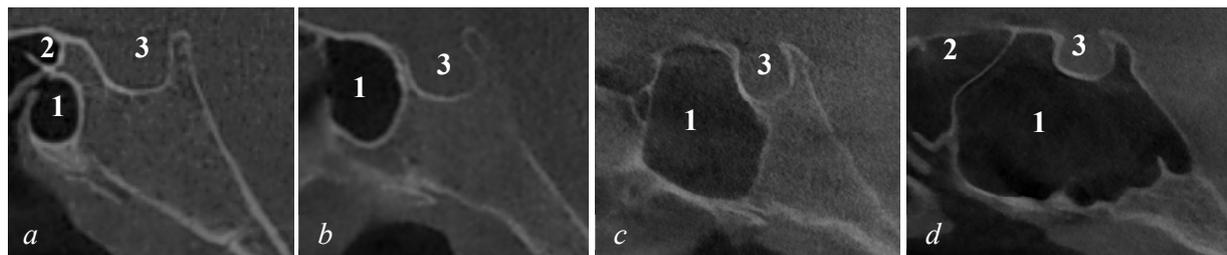


Рис. 1. Типы клиновидных пазух (КЛКТ, сагиттальные сканы): *a* – конхальный; *b* – преселлярный; *c* – селлярный; *d* – постселлярный. 1 – клиновидная пазуха; 2 – задняя решетчатая ячейка; 3 – турецкое седло

Fig. 1. Types of sphenoid sinuses (CBCT, sagittal scans): *a* – conchal type; *b* – pressellar type; *c* – sellar type; *d* – postsellar type. 1 – sphenoid sinus; 2 – posterior ethmoidal cell; 3 – sella turcica

считали результат, если вероятность ошибки в отрицании нулевой гипотезы об отсутствии различий не превышала 5 % ($p < 0,05$).

Классификация клиновидных пазух проводилась по трем морфологическим признакам [2]:

1. *Протяженность* воздухоносной полости в дорсальном направлении определялась относительно стенок турецкого седла (рис. 1). Конхальный (раковинный) тип пазухи – полость находится на уровне верхней носовой раковины, не доходя до передней стенки турецкого седла. Преселлярный тип – задняя стенка пазухи находится на уровне передней стенки седла. Селлярный тип – пневматизация тела клиновидной кости не распространяется за пределы задней стенки турецкого седла. Постселлярный (затылочно-клиновидный) тип – воздухоносная полость простирается кзади от спинки турецкого седла.

2. *Латеральная экспансия* пазухи клиновидной кости определялась по уровню расположения ее боковой стенки относительно линии, соединяющей круглое отверстие с крыловидным каналом. При этом учитывали случаи, когда воздухоносная полость пневматизировала одновременно крыловидный отросток и большие крылья клиновидной кости (рис. 2).

3. По *расположению основной перегородки*, а также по *наличию дополнительных перегородок* (септ) пазуху клиновидной кости классифицировали как одиночную, парную или многокомпонентную. Одиночная пазуха пневматизировала тело и отростки клиновидной кости. В зависимости от расположения основной перегородки парные пазухи подразделяли на симметричные и асимметричные (при девиации перегородки в сторону от срединной плоскости). При наличии высоких неполных добавочных септ в многокомпонентных пазухах последние разделялись на относительно изолированные компартменты.

На аксиальных КЛКТ-сканах (рис. 3) измеряли *ширину пазухи*, максимальный горизонтальный размер, а также *глубину*, максимальный переднезадний размер; на сагиттальных сканах – максимальный вертикальный размер, максимальную *высоту*.

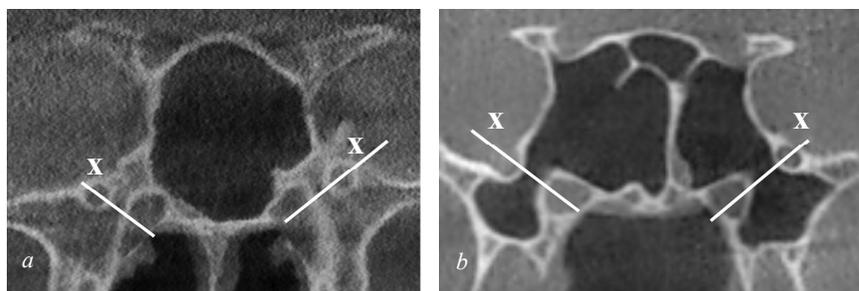


Рис. 2. Протяженность латеральной пневматизации клиновидной кости (КЛКТ, фронтальные сканы): *a* – воздушная полость не распространяется кнаружи от линии, соединяющей круглое отверстие и канал крыловидного нерва (линия *x*); *b* – пазуха клиновидной кости с двух сторон распространяется за пределы линии *x*

Fig. 2. Lateral extension of the sphenoid sinus (CBCT, frontal scans): *a* – air cavity does not extend outward from the line connecting the foramen rotundum and the pterygoid canal (line *x*); *b* – sphenoid sinus on both sides extends beyond the line *x*

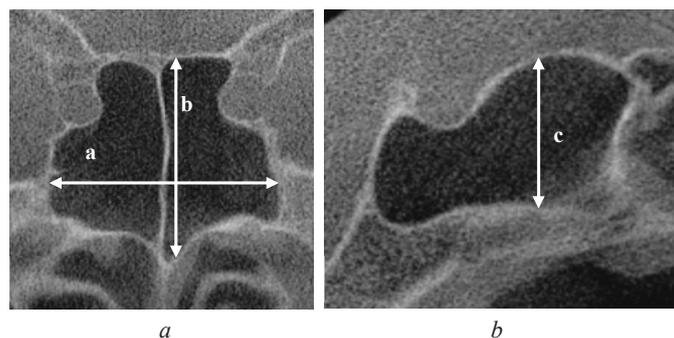


Рис. 3. Максимальные линейные размеры пазухи клиновидной кости (a – ширина, b – глубина, c – высота). КЛКТ, аксиальный (a) и сагиттальный (b) сканы

Fig. 3. Maximum linear dimensions of the sphenoid sinus (a – width, b – depth, c – height). CBCT, axial (a) and sagittal (b) scans

Объем воздухоносной полости рассчитывали по формуле

$$V = \frac{1}{2}abc,$$

где a – максимальная высота; b – максимальная ширина (двух пазух); c – максимальный переднезадний размер [14].

Средние (M) и медианные (Me) значения морфометрических показателей, а также первый и третий квартили (25; 75) рассчитывали отдельно у пациентов с сельлярным и постсельлярным типами клиновидной пазухи, а также в двух выборках – с наличием и с отсутствием ее латеральной экспансии.

У пациентов, разделенных на две возрастные группы (18–30 лет и 31–84 года), сравнивали объем пазухи клиновидной кости для определения возможного влияния возраста на степень пневматизации клиновидной кости.

Результаты исследования. В изученной выборке чаще всего встречался постсельлярный тип пазухи клиновидной кости (табл. 1).

Таблица 1. Частота встречаемости типов клиновидной пазухи

Table 1. Prevalence of sphenoid sinus pneumatization types

Тип пазухи	Мужчины, n (%) ДИ для доли	Женщины, n (%) ДИ для доли	Всего, n (%) ДИ для доли
Конхальный	$\frac{1 (1)}{0,18-5,56}$	$\frac{1 (0,7)}{0,12-3,75}$	$\frac{2 (0,8)}{0,22-2,93}$
Пресельлярный	$\frac{3 (3,1)}{1,05-8,62}$	$\frac{5 (3,4)}{1,46-7,71}$	$\frac{8 (3,3)}{1,66-6,31}$
Сельлярный	$\frac{24 (24,5)}{17,04-33,86}$	$\frac{43 (29,3)}{22,50-37,06}$	$\frac{67 (27,3)}{22,15-33,25}$
Постсельлярный	$\frac{70 (71,4)}{61,81-79,43}$	$\frac{98 (66,6)}{58,71-73,78}$	$\frac{168 (68,6)}{62,51-74,06}$
Итого	98 (100,0)	147 (100,0)	245 (100,0)

Примечание. Здесь и в табл. 2–6: n – количество пациентов; доверительный интервал (ДИ) рассчитан по методу Уилсона.

Установлено, что процентное соотношение типов клиновидной пазухи не зависит от пола ($p = 0,883$). Постсельлярный тип пазухи клиновидной кости оказался доминирующим как у мужчин, так и у женщин (около 68 % пациентов).

Объем воздухоносной полости варьировался в пределах 3,4–37,5 см³. Коэффициент вариации 37,5–50 % указывает на высокую изменчивость рассчитанного показателя как по всей выборке, так и отдельно по сельлярному и постсельлярному типам.

Объем пазухи клиновидной кости у пациентов в возрасте до 30 лет оказался статистически значимо больше, чем у пациентов 31–84 лет ($p = 0,038$) (табл. 2). При сравнении линейных размеров в двух возрастных группах статистически значимые большие показатели обнаружены только в отношении ширины воздухоносной полости у пациентов 18–30 лет ($p = 0,017$).

Таблица 2. Морфометрические параметры пазухи клиновидной кости в зависимости от возраста

Table 2. Morphometric parameters of the sphenoid sinus in relation to age

Морфометрический параметр	Пациенты в возрасте 18–30 лет	Пациенты в возрасте 31–84 года	Всего
	M ± SD (n = 87)	Me (25; 75), min–max / M ± SD (n = 148)	
Ширина, см	4,1 ± 1,1 (n = 87)	3,8 ± 0,9 (n = 148)	3,7 (3,1; 4,4) 1,7–7,8 (n = 235)
	$p = 0,017$		
Глубина, см	3,0 ± 0,5 (n = 87)	2,9 ± 0,5 (n = 148)	2,9 ± 0,5 (n = 235)
Высота, см	2,4 ± 0,3 (n = 87)	2,3 ± 0,4 (n = 148)	2,4 ± 0,4 (n = 235)
Объем, см ³	15,4 ± 7,4 (n = 87)	11,6 (9,2; 15,9) 3,4–37,5 (n = 148)	12,2 (9,5; 17,5) 3,4–37,5 (n = 235)
	$p = 0,038$		

Объем пазухи клиновидной кости оказался статистически значимо больше у мужчин, чем у женщин ($p = 0,010$) (табл. 3, рис. 4). При анализе объема пазухи отдельно при постселлярном и селлярном типах статистически значимые гендерные различия обнаружены только для постселлярного типа. Объем пазухи клиновидной кости при этом типе оказался больше у мужчин ($p = 0,008$).

Таблица 3. Объем пазухи в зависимости от типа пневматизации клиновидной кости, см³ (Me (25; 75), min–max / M ± SD)

Table 3. Sinus volume in relation to type of pneumatization of the sphenoid bone, cm³ (Me (25; 75), min–max / M ± SD)

Тип пазухи	Мужчины	Женщины	Всего	
Селлярный	9,0 (6,3; 12,5) 3,4–31,1 (n = 24)	9,0 (6,9; 11,5) 3,5–35,7 (n = 43)	9,0 (6,4; 11,5) 3,4–35,7 (n = 67)	$p = 0,000$
	14,9 (12,2; 20,5) 7,0–37,5 (n = 70)	12,8 (10,5; 17,9) 6,9–31,4 (n = 98)	14,0 (11,1; 18,8) 6,9–37,5 (n = 168)	
Итого	$p = 0,008$			
	15,8 ± 7,9 (n = 94)	11,5 (9,2; 15,8) 3,5–35,7 (n = 141)	12,2 (9,5; 17,5) 3,4–37,5 (n = 235)	
$p = 0,010$				

Представленная на рис. 4 диаграмма показывает больший разброс значений объема пазухи клиновидной кости у мужчин. Наибольшее количество пациентов обоего пола имели объем пазухи в пределах 10–15 см³ как у мужчин, так и у женщин. Доля мужчин, у которых объем пазухи оказался выше этих значений, превысила 40 %, в то время как доля женщин с большим объемом пазухи составила 27,6 %. Примечательно, что при этом среди мужчин доля пациентов с самым маленьким объемом клиновидной пазухи также оказалась выше – 3,2 % против 1,4 % у женщин.

При сравнении линейных размеров воздухоносной полости клиновидной кости у женщин и мужчин (табл. 4) оказалось, что ее ширина и высота статистически значимо больше у мужчин, в то время как достоверных гендерных различий по глубине не обнаружено.

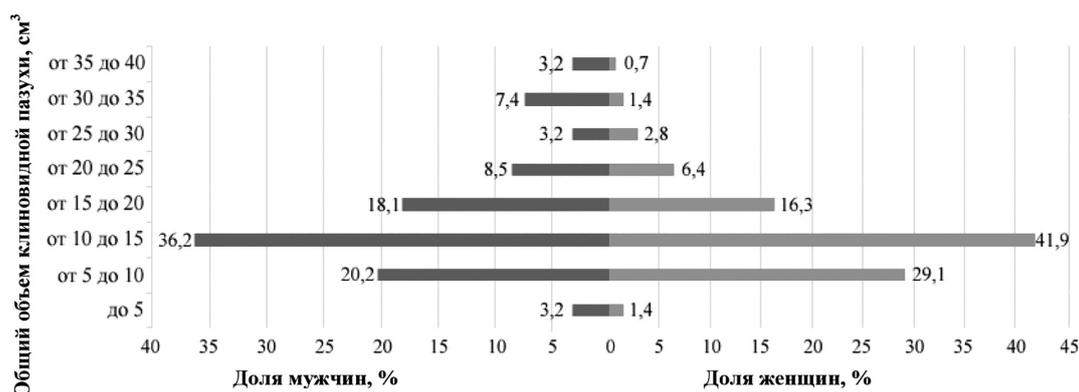


Рис. 4. Объем пазухи клиновидной кости у мужчин и женщин

Fig. 4. Volume of the sphenoid sinus in males and females

Т а б л и ц а 4. Линейные размеры пазухи клиновидной кости, Me (25; 75), min–max / M ± SD

T a b l e 4. Linear dimensions of the sphenoid sinus, Me (25; 75), min–max / M ± SD

Морфометрический параметр	Мужчины	Женщины	Всего
Ширина, см	4,1 ± 1,1 (n = 94)	3,6 (3,1; 4,1) 1,7–7,8 (n = 141)	3,7 (3,1; 4,4) 1,7–7,8 (n = 235)
	<i>p</i> = 0,010		
Глубина, см	3,0 ± 0,5 (n = 94)	2,9 ± 0,4 (n = 141)	2,9 ± 0,5 (n = 235)
Высота, см	2,4 ± 0,4 (n = 94)	2,3 ± 0,3 (n = 141)	2,4 ± 0,4 (n = 235)
	<i>p</i> = 0,016		

Сравнение линейных размеров при постселлярном и селлярном типах пазухи показало статистически значимые различия по всем показателям. Ширина, высота и глубина пазухи клиновидной кости были больше при постселлярном типе пазухи клиновидной кости (табл. 5).

Т а б л и ц а 5. Линейные размеры пазухи в зависимости от типа пневматизации клиновидной кости

T a b l e 5. Linear dimensions of sinus in relation to type of pneumatization of the sphenoid bone

Морфометрический параметр	Селлярный тип	Постселлярный тип	Всего
	M ± SD	Me (25; 75), min–max / M ± SD	
Ширина, см	3,4 ± 0,7 (n = 67)	3,8 (3,3; 4,6) 2,4–7,8 (n = 168)	3,7 (3,1; 4,4) 1,7–7,8 (n = 235)
	<i>p</i> = 0,000		
Глубина, см	2,5 ± 0,5 (n = 67)	3,1 ± 0,3 (n = 168)	2,9 ± 0,5 (n = 235)
	<i>p</i> = 0,000		
Высота, см	2,2 ± 0,4 (n = 67)	2,4 ± 0,4 (n = 168)	2,3 ± 0,4 (n = 235)
	<i>p</i> = 0,004		

Анализ ширины пазух клиновидной кости при наличии и отсутствии пневматизации больших крыльев показал, что значение этого параметра статистически значимо больше при латеральной экспансии пазухи (табл. 6).

Таблица 6. Ширина пазухи клиновидной кости при наличии или отсутствии латеральной пневматизации
Table 6. Width of the sphenoid sinus in relation to the presence of lateral pneumatization

Морфометрический параметр	Латеральная пневматизация присутствует	Латеральная пневматизация отсутствует	Всего Me (25; 75), min-max
	M ± SD		
Ширина, см	4,6 ± 1,0 (n = 114)	3,2 ± 0,5 (n = 121)	3,7 (3,1; 4,4) 1,7–7,8 (n = 235)
	<i>p</i> = 0,000		

При постселлярном типе клиновидной пазухи большие крылья клиновидной кости пневматизировались статистически достоверно чаще, чем при селлярном типе (*p* = 0,000) (рис. 5). В обоих случаях двустороннее распространение воздухоносной полости в большие крылья встречалось чаще, чем при односторонней экспансии.

При распространении воздухоносной полости в большие крылья клиновидной кости объем пазухи составил 18,3 ± 7,2 см³, при отсутствии латеральной пневматизации – 10,2 ± 3,2 см³ (различия статистически достоверны при *p* = 0,000).

У 139 (56,7 %) пациентов регистрировалась парная воздухоносная полость в клиновидной кости, которая разделялась полной перегородкой на правую и левую половины (рис. 6, *a*, *b*), причем у большинства из них (58,9 %) перегородка располагалась асимметрично. В 27 (11,0 %) случаях одна воздушная полость пневматизировала тело и другие части клиновидной кости с двух сторон, при этом контралатеральная сторона пазухи была гипоплазирована (рис. 6, *c*). У 79 (32,3 %) человек помимо основной (полной) перегородки слева и/или справа присутствовали добавочные перегородки, которые дополнительно разделяли их на относительно изолированные отсеки (рис. 6, *d*). У 37 (46,8 %) пациентов с септами они фиксировались к костной стенке, отделяющей пазуху от внутренней сонной артерии (рис. 7).

Обсуждение. Фактором, предопределяющим принятие решения об эндоскопическом оперативном вмешательстве на пазухе клиновидной кости и соседних структурах (например, гипофизе), является ее размер, включая объем и максимальный переднезадний диаметр [2]. По данным литературы, имеются существенные этнические и географические различия этих параметров. Например, у китайцев объем клиновидной пазухи больше, чем у жителей Малайзии [15]. Авторы

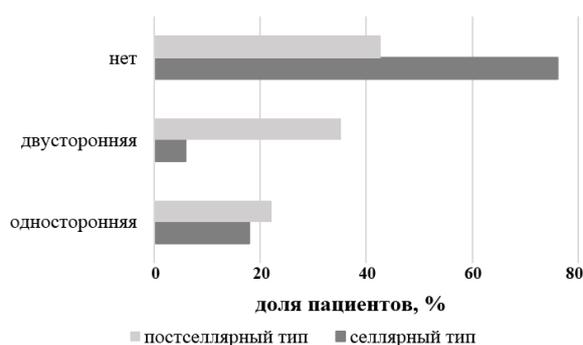


Рис. 5. Латеральная пневматизация (одно- или двусторонняя) клиновидной кости при селлярном и постселлярном типах клиновидной пазухи
Fig. 5. Lateral pneumatization (unilateral or bilateral) of the sphenoid bone in sellar and post-sellar types of sphenoid sinus



Рис. 6. Топография костных перегородок (стрелки) пазухи клиновидной кости (КЛКТ, аксиальные сканы):
a – полная перегородка, делящая пазуху на две симметричные части; *b* – полная перегородка, делящая пазуху на две асимметричные части; *c* – перегородка отделяет гипоплазированную половину (*) от контралатеральной стороны пазухи; *d* – множественные костные перегородки

Fig. 6. Topography of the bony septa (arrows) of the sphenoid sinus (CBCT, axial scans):
a – complete septum dividing the sinus into two symmetrical parts; *b* – complete septum dividing the sinus into two asymmetric parts; *c* – the septum separates the hypoplastic part (*) from the contralateral side of the sinus; *d* – multiple intrasphenoid septa

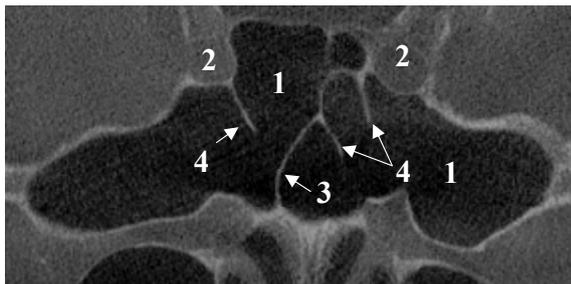


Рис. 7. Протрузия внутренней сонной артерии (КЛКТ, аксиальные сканы): 1 – пазуха клиновидной кости, 2 – внутренняя сонная артерия, 3 – основная септа, 4 – добавочные септы

Fig. 7. Protrusion of the internal carotid artery (CBCT, axial scans): 1 – sphenoid sinus, 2 – internal carotid artery, 3 – intersphenoid septum, 4 – accessory septa

отмечают, что при этом ее средний объем не превышает 12 см^3 . Kim с соавт. [16] объясняют объем пазухи в $13,8 \text{ см}^3$ у жителей Кореи большими размерами их головы относительно других частей тела. Средний объем воздухоносной пазухи клиновидной кости у жителей ряда стран в несколько раз ниже. Так, в Российской Федерации этот показатель составляет $6,8 \text{ см}^3$ [17], в Германии – $5,3 \text{ см}^3$ [18], в Испании – $3,5 \text{ см}^3$ [19], в Израиле – $4,0 \text{ см}^3$ [20].

В проанализированной нами выборке, включающей самые частые типы пазухи, объем воздухоносной полости в клиновидной кости варьировался в пределах $3,4\text{--}37,5 \text{ см}^3$ ($Me = 12,2 \text{ см}^3$). При этом коэффициент вариации составил $37,5\text{--}50 \%$, что указывает на высокую изменчивость данного параметра. К аналогичному выводу можно прийти, анализируя разброс значений показателей объема

воздухоносной полости, полученный другими исследователями. Кроме расово-этнических факторов причиной такого разброса может служить методика определения объема воздухоносной полости. Одни авторы определяли объем автоматическим методом, другие рассчитывали этот параметр по формуле на основании линейных размеров.

По нашим данным, объем пазух сельлярного типа статистически достоверно меньше объема пазух постсельлярного типа ($p = 0,000$). Полученные данные совпадают с результатами Pirinc с соавт. [21], которые также установили зависимость между типом пазухи и ее объемом. Таким образом, средние значения объема воздухоносной полости в клиновидной кости могут зависеть от соотношения разных типов в анализируемых выборках. В настоящем исследовании пазухи сельлярного и постсельлярного типов встречались соответственно в $27,3$ и $68,6 \%$ случаев (суммарно в $95,9 \%$). По данным литературы, постсельлярный тип пазухи диагностируется у $82,5 \%$ пациентов [22], а суммарно распространенность сельлярного и постсельлярного типов колеблется в диапазоне от 74 до $92,5 \%$ [10, 23, 24]. В то же время в исследованиях некоторых авторов доминирует сельлярный вариант пазухи клиновидной кости, варьируя в пределах $41,5\text{--}74 \%$ [21, 25–27].

Морфометрические параметры клиновидной пазухи меняются с возрастом. Ее линейные размеры и объем достигают максимальных значений к 15 годам [28]. В более старших возрастных группах большинство исследователей не выявили статистически достоверной связи между объемом пазухи и возрастом [15, 29, 30]. По данным Karakas и Kavakli [31], Cohen с соавт. [32], объем пазухи с возрастом уменьшается. Yonetsu с соавт. [8], анализируя объем пазухи клиновидной кости в разных возрастных группах (9 групп пациентов в возрасте от 1 года до 80 лет), установили, что он увеличивается до 30 лет, а затем уменьшается. В проведенном нами исследовании при сравнении объема пазухи клиновидной кости двух возрастных групп пациентов (18–30 и 31–84 лет) обнаружено, что значение этого показателя статистически значимо больше у пациентов в возрасте до 30 лет ($p = 0,038$).

Karakas и Kavakli [31], анализируя КТ-сканы пациентов в возрасте от 5 до 55 лет, выявили примерно одинаковые объемы клиновидных пазух у мужчин и женщин ($6,83 \pm 3,73$ и $6,00 \pm 3,02 \text{ см}^3$ соответственно). Напротив, большинство литературных источников содержат информацию, указывающую на наличие полового диморфизма в отношении объема пазухи [2, 21, 27, 29, 33]. У мужчин этот параметр больше, чем у женщин. По нашим данным, объем пазухи клиновидной кости при постсельлярном типе оказался статистически значимо больше у мужчин. При этом существенных гендерных различий в объеме клиновидной пазухи при ее сельлярном типе не выявлено.

Линейные размеры, так же как и объем, зависят от типа пазухи. По данным Štoković с соавт. [10], не только переднезадний, но и другие линейные параметры клиновидной пазухи (высота и ширина) были максимальными при постсельлярном типе и минимальными при конхальном типе.

По нашим данным, ширина и высота воздухоносной полости при сельлярном и постсельлярном типах статистически значимо больше у мужчин, в то время как достоверных гендерных различий по глубине не выявлено. Ширина пазухи клиновидной кости оказалась статистически значимо больше при наличии пневматизации больших крыльев.

Пациенты с пневматизацией крыловидных отростков, спинки турецкого седла и передних наклоненных отростков имеют больший объем пазухи, чем лица, у которых воздухоносная полость не выходит за пределы тела клиновидной кости [27]. Кроме того, авторы отмечают, что различия в объемах при разных типах пазухи статистически достоверны. В изученной выборке объем пазух с пневматизацией больших крыльев клиновидной кости оказался статистически значимо больше, чем при ее отсутствии ($p = 0,000$).

Famurewa с соавт. [34] обнаружили, что приблизительно у половины пациентов воздухоносная полость клиновидной кости разделяется одной перегородкой на две половины, в то время как у другой половины она разделяется на небольшие полости множественными септами. По данным этих авторов, только у 2,5 % пациентов септы (включая основную) отсутствовали. По нашим данным, у 56,7 % пациентов воздухоносная полость в клиновидной кости разделялась полной перегородкой на правую и левую половины, чаще асимметричные. У 11,0 % пациентов одна воздушная полость пневматизировала тело и отростки клиновидной кости одновременно с двух сторон. В 32,3 % случаев обнаружены добавочные (неполные) костные перегородки. При этом у 37 (15,1 %) пациентов основная или добавочные септы были прикреплены к костной стенке пазухи, прилежащей к внутренней сонной артерии. В литературе такой вариант расположения перегородок отмечен в диапазоне от 4,9 до 89 % случаев [34].

Заключение. Объем воздухоносной полости клиновидной кости и ее линейные размеры зависят от типа пазухи и ее экспансии за пределы тела. Максимальные значения всех параметров выявляются при постсельлярном типе пазухи и пневматизации больших крыльев кости. Имеются гендерные различия в объеме и линейных размерах полости. В связи с высокой изменчивостью морфометрических параметров воздухоносной полости при рассмотрении возможности эндоскопического трансфеноидального доступа к основанию черепа рекомендуется проводить детальную предоперационную визуализацию пазухи клиновидной кости.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Ominde, B. S. Pneumatization patterns of the sphenoid sinus in adult Nigerians and their clinical implications / B. S. Ominde, J. Ikubor, P. S. Igbigbi // *Ethiopian Journal of Health Sciences*. – 2021. – Vol. 31, N 6. – P. 1295–1302. <https://doi.org/10.4314/ejhs.v31i6.26>
2. Morphometric characteristics of the sphenoid sinus and potential influencing factors: A retrospective assessment using cone beam computed tomography (CBCT) / P. Singh, K. Hung, D. H. Ajmera [et al.] // *Anatomical Science International*. – 2021. – Vol. 96, N 4. – P. 544–555. <https://doi.org/10.1007/s12565-021-00622-x>
3. Wiebracht, N. D. Complex anatomy of the sphenoid sinus: A radiographic study and literature review / N. D. Wiebracht, L. A. Zimmer // *Journal of Neurological Surgery. Part B: Skull Base*. – 2014. – Vol. 75, N 6. – P. 378–382. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1376195>
4. Ramos, B. C. Volumetric and linear evaluation of the sphenoidal sinus of a Brazilian population, in cone beam computed tomography / B. C. Ramos, F. R. Manzi, A. I. Vespasiano // *Journal of Forensic and Legal Medicine*. – 2021. – Vol. 77. – Art. 102097. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2020.102097>
5. Development of the sphenoid sinus from newborn to age 18: A computed tomography imaging analysis / C. Aksakal, S. Aktı, M. E. Çeker [et al.] // *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. – 2022. – Vol. 162. – Art. 111327. <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2022.111327>
6. Volumetric changes of the paranasal sinuses with age: A systematic review / A. Iturralde-Garrote, J. L. Sanz, L. Forner [et al.] // *Journal of Clinical Medicine*. – 2023. – Vol. 12, N 10. – Art. 3355. <https://doi.org/10.3390/jcm12103355>
7. Sex determination using human sphenoid sinus in a Northeast Iranian population: A discriminant function analysis / S. A. Banihashem Rad, N. Anbiaee, S. Moeini, A. Bagherpour // *Journal of Dentistry (Shiraz)*. – 2023. – Vol. 24, suppl. 1. – P. 95–102. <https://doi.org/10.30476/dentjods.2022.92915.1685>
8. Yonetsu, K. Age-related expansion and reduction in aeration of the sphenoid sinus: volume assessment by helical CT scanning / K. Yonetsu, M. Watanabe, T. Nakamura // *American Journal of Neuroradiology*. – 2000. – Vol. 21, N 1. – P. 179–182.
9. Sphenoid sinus anatomical variants and pathologies: pictorial essay / K. S. Sethi, S. Choudhary, P. K. Ganesan [et al.] // *Neuroradiology*. – 2023. – Vol. 65, N 8. – P. 1187–1203. <https://doi.org/10.1007/s00234-023-03163-4>
10. Sphenoid sinus types, dimensions and relationship with surrounding structures / N. Štoković, V. Trkulja, I. Dumić-Čule [et al.] // *Annals of Anatomy*. – 2016. – Vol. 203. – P. 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2015.02.013>

11. The evaluation of variations in patterns of sphenoid sinus pneumatization using computed tomography in a South Indian population / B. H. P. Keerthi, S. G. Savagave, A. K. Sakalecha [et al.] // *Cureus*. – 2022. – Vol. 14, N 3. – P. e23174. <https://doi.org/10.7759/cureus.23174>
12. Karadayi Buyukozsoy, A. Evaluation of sphenoid sinus pneumatization subtypes in posteroanterior and lateral directions on CT imaging / A. Karadayi Buyukozsoy, E. Karatay, H. Tastekin Toz // *Journal of Kermanshah University of Medical Sciences*. – 2024. – Vol. 28, N 2. – P. e131911. <https://doi.org/10.5812/jkums-131911>
13. Pneumatization and extensions of the sphenoid sinus: a CT overlook / V. Budu, S. Crac, C. Goanta [et al.] // *Romanian Journal of Rhinology*. – 2021. – Vol. 11, N 41. – P. 24–29. <https://doi.org/10.2478/rjr-2021-0005>
14. Paranasal sinuses in children: size evaluation of maxillary, sphenoid, and frontal sinuses by magnetic resonance imaging and proposal of volume index percentile curves / G. Barghouth, J. Prior, D. Lepori [et al.] // *European Radiology*. – 2002. – Vol. 12, N 6. – P. 1451–1458. <https://doi.org/10.1007/s00330-001-1218-9>
15. Volumetric evaluation of the sphenoid sinus among different races in the Southeast Asian (SEA) population: a computerized tomography study / G. J. Tuang, F. D. Zahedi, S. Husain [et al.] // *International Journal of Medical Sciences*. – 2023. – Vol. 20, N 2. – P. 211–218. <https://doi.org/10.7150/ijms.68095>
16. Comparative study of the pneumatization of the mastoid air cells and paranasal sinuses using three-dimensional reconstruction of computed tomography scans / J. Kim, S. W. Song, J. H. Cho [et al.] // *Surgical and Radiologic Anatomy*. – 2010. – Vol. 32, N 6. – P. 593–599. <https://doi.org/10.1007/s00276-009-0618-4>
17. Intraoperative sphenoid sinus volume measurement as an alternative technique to intraoperative computer tomography / S. Karpishchenko, I. Arustamyan, O. Stancheva [et al.] // *Diagnostics (Basel)*. – 2020. – Vol. 10, N 6. – Art. 350. <https://doi.org/10.3390/diagnostics10060350>
18. Computed tomography measurements of different dimensions of maxillary and frontal sinuses / P. Sahlstrand-Johnson, M. Jannert, A. Strömbeck, K. Abul-Kasim // *BMC Medical Imaging*. – 2011. – Vol. 11. – Art. 8. <https://doi.org/10.1186/1471-2342-11-8>
19. Anatomical variations in the human paranasal sinus region studied by CT / I. Pérez-Piñas, J. Sabaté, A. Carmona [et al.] // *Journal of Anatomy*. – 2000. – Vol. 197, Pt. 2. – P. 221–227. <https://doi.org/10.1046/j.1469-7580.2000.19720221.x>
20. Volumetric analysis of the maxillary, sphenoid and frontal sinuses: A comparative computerized tomography based study / O. Cohen, M. Warman, M. Fried [et al.] // *Auris Nasus Larynx*. – 2018. – Vol. 45, N 1. – P. 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.anl.2017.03.003>
21. Classification and volumetric study of the sphenoid sinus on MDCT images / B. Pirinc, Z. Fazliogullari, I. Guler [et al.] // *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. – 2019. – Vol. 276, N 10. – P. 2887–2894. <https://doi.org/10.1007/s00405-019-05549-8>
22. Tavakoli, M. Sphenoid sinus pneumatization types and correlation with adjacent neurovascular structures using cone-beam computed tomography / M. Tavakoli, N. Jafari-Pozve, S. S. Aryanezhad // *Indian Journal of Otolaryngology and Head and Neck Surgery*. – 2023. – Vol. 75, N 3. – P. 2245–2250. <https://doi.org/10.1007/s12070-023-03796-0>
23. Sphenoid sinus: Pneumatization and septation patterns in a Hispanic population / J. L. Treviño-Gonzalez, F. Maldonado-Chapa, J. A. Becerra-Jimenez [et al.] // *Journal for Oto-rhino-laryngology and its Related Specialties*. – 2021. – Vol. 83, N 5. – P. 362–371. <https://doi.org/10.1159/000514458>
24. Morphometry and intracranial relations of the sphenoid sinus in context to endoscopic transnasal transsphenoidal surgery / K. Gandhi, S. T. Patil, B. Kumar [et al.] // *Cureus*. – 2023. – Vol. 15, N 6. – P. e40187. <https://doi.org/10.7759/cureus.40187>
25. Anatomical variations of the sphenoid sinus and their impact on trans-sphenoid pituitary surgery / O. Hamid, L. El Fiky, O. Hassan [et al.] // *Skull Base*. – 2008. – Vol. 18, N 1. – P. 9–15. <https://doi.org/10.1055/s-2007-992764>
26. Kayalioglu, G. Variations in sphenoid sinus anatomy with special emphasis on pneumatization and endoscopic anatomy distances / G. Kayalioglu, M. Erturk, T. Varol // *Neurosciences (Riyadh)*. – 2005. – Vol. 10, N 1. – P. 79–84.
27. Volumetric assessment of sphenoid sinuses through segmentation on CT scan / D. Gibelli, M. Cellina, S. Gibelli [et al.] // *Surgical and Radiologic Anatomy*. – 2018. – Vol. 40, N 2. – P. 193–198. <https://doi.org/10.1007/s00276-017-1949-1>
28. Development of the sphenoid sinus in Japanese children: A retrospective longitudinal study using three-dimensional computed tomography / M. Higashino, S. Abe, M. Sawada [et al.] // *Journal of Clinical Medicine*. – 2022. – Vol. 11, N 21. – Art. 6311. <https://doi.org/10.3390/jcm11216311>
29. Sphenoid sinus in relation to age, gender, and cephalometric indices / C. M. Özer, K. Atalar, I. I. Öz [et al.] // *Journal of Craniofacial Surgery*. – 2018. – Vol. 29, N 8. – P. 2319–2326. <https://doi.org/10.1097/SCS.00000000000004869>
30. Gurlek Celik, N. Analysis of sphenoid sinus and ethmoid sinus volume and asymmetry by sex: A 3D-CT study / N. Gurlek Celik, B. Akman // *Surgical and Radiologic Anatomy*. – 2024. – Vol. 46, N 5. – P. 551–558. <https://doi.org/10.1007/s00276-024-03319-8>
31. Karakas, S. Morphometric examination of the paranasal sinuses and mastoid air cells using computed tomography / S. Karakas, A. Kavakli // *Annals of Saudi Medicine*. – 2005. – Vol. 25, N 1. – P. 41–45. <https://doi.org/10.5144/0256-4947.2005.41>
32. Volumetric analysis of the maxillary, sphenoid and frontal sinuses: A comparative computerized tomography based study / O. Cohen, M. Warman, M. Fried [et al.] // *Auris Nasus Larynx*. – 2018. – Vol. 45, N 1. – P. 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.anl.2017.03.003>
33. Volumetric study of sphenoid sinuses: anatomical analysis in helical computed tomography / J. M. Oliveira, M. B. Alonso, M. J. de Sousa E. Tucunduva [et al.] // *Surgical and Radiologic Anatomy*. – 2017. – Vol. 39, N 4. – P. 367–374. <https://doi.org/10.1007/s00276-016-1743-5>
34. Sphenoid sinus pneumatization, septation, and the internal carotid artery: A computed tomography study / O. C. Famurewa, B. O. Ibitoye, S. A. Ameye [et al.] // *Nigerian Medical Journal*. – 2008. – Vol. 59, N 1. – P. 7–13. https://doi.org/10.4103/nmj.NMJ_138_18

References

1. Ominde B. S., Ikubor J., Igbigbi P. S. Pneumatization patterns of the sphenoid sinus in adult Nigerians and their clinical implications. *Ethiopian Journal of Health Sciences*, 2021, vol. 31, no. 6, pp. 1295–1302. <https://doi.org/10.4314/ejhs.v31i6.26>
2. Singh P., Hung K., Ajmera D. H., Yeung A. W. K., von Arx T., Bornstein M. M. Morphometric characteristics of the sphenoid sinus and potential influencing factors: A retrospective assessment using cone beam computed tomography (CBCT). *Anatomical Science International*, 2021, vol. 96, no. 4, pp. 544–555. <https://doi.org/10.1007/s12565-021-00622-x>
3. Wiebracht N. D., Zimmer L. A. Complex anatomy of the sphenoid sinus: A radiographic study and literature review. *Journal of Neurological Surgery Part B: Skull Base*, 2014, vol. 75, no. 6, pp. 378–382. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1376195>
4. Ramos B. C., Manzi F. R., Vespasiano A. I. Volumetric and linear evaluation of the sphenoidal sinus of a Brazilian population, in cone beam computed tomography. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 2021, vol. 77, art. 102097. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2020.102097>
5. Aksakal C., Akti S., Çeker M. E., Subaşı Aksakal B., Sapmaz E., Gökçe E. Development of the sphenoid sinus from newborn to age 18: A computed tomography imaging analysis. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 2022, vol. 162, art. 111327. <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2022.111327>
6. Iturralde-Garrote A., Sanz J. L., Forner L., Melo M., Puig-Herreros C. Volumetric changes of the paranasal sinuses with age: A systematic review. *Journal of Clinical Medicine*, 2023, vol. 12, no. 10, art. 3355. <https://doi.org/10.3390/jcm12103355>
7. Banihashem Rad S. A., Anbiaee N., Moeini S., Bagherpour A. Sex determination using human sphenoid sinus in a northeast Iranian population: A discriminant function analysis. *Journal of Dentistry (Shiraz)*, 2023, vol. 24, suppl. 1, pp. 95–102. <https://doi.org/10.30476/dentjods.2022.92915.1685>
8. Yonetsu K., Watanabe M., Nakamura T. Age-related expansion and reduction in aeration of the sphenoid sinus: volume assessment by helical CT scanning. *American Journal of Neuroradiology*, 2000, vol. 21, no. 1, pp. 179–182.
9. Sethi K. S., Choudhary S., Ganesan P. K., Sood N., Ramalingum W. B. S., Basil R., Dhawan S. Sphenoid sinus anatomical variants and pathologies: pictorial essay. *Neuroradiology*, 2023, vol. 65, no. 8, pp. 1187–1203. <https://doi.org/10.1007/s00234-023-03163-4>
10. Štoković N., Trkulja V., Dumić-Čule I., Čuković-Bagić I., Lauc T., Vukičević S., Grgurević L. Sphenoid sinus types, dimensions and relationship with surrounding structures. *Annals of Anatomy*, 2016, vol. 203, pp. 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2015.02.013>
11. Parameshwar Keerthi B. H., Savagave S. G., Sakalecha A. K., Reddy V., L Y. U. The evaluation of variations in patterns of sphenoid sinus pneumatization using computed tomography in a South Indian population. *Cureus*, 2022, vol. 14, no. 3, p. e23174. <https://doi.org/10.7759/cureus.23174>
12. Karadayi Buyukozsoy A., Karatay E., Tastekin Toz H. Evaluation of sphenoid sinus pneumatization subtypes in posteroanterior and lateral directions on CT imaging. *Journal of Kermanshah University of Medical Sciences*, 2024, vol. 28, no. 2, p. e131911. <https://doi.org/10.5812/jkums-131911>
13. Budu V., Crac S., Goanta C., Farcasanu P. D., Decuseara T., Lupoi D. Pneumatization and extensions of the sphenoid sinus: a CT overlook. *Romanian Journal of Rhinology*, 2021, vol. 11, no. 41, pp. 24–29. <https://doi.org/10.2478/rjr-2021-0005>
14. Barghouth G., Prior J., Lepori D., Duvoisin B., Schnyder P., Gudinchet F. Paranasal sinuses in children: size evaluation of maxillary, sphenoid, and frontal sinuses by magnetic resonance imaging and proposal of volume index percentile curves. *European Radiology*, 2002, vol. 12, no. 6, pp. 1451–1458. <https://doi.org/10.1007/s00330-001-1218-9>
15. Tuang G. J., Zahedi F. D., Husain S., Hamizan A. K. W., Kew T. Y., Thanabalan J. Volumetric evaluation of the sphenoid sinus among different races in the Southeast Asian (SEA) population: a computerized tomography study. *International Journal of Medical Sciences*, 2023, vol. 20, no. 2, pp. 211–218. <https://doi.org/10.7150/ijms.68095>
16. Kim J., Song S. W., Cho J. H., Chang K. H., Jun B. C. Comparative study of the pneumatization of the mastoid air cells and paranasal sinuses using three-dimensional reconstruction of computed tomography scans. *Surgical and Radiologic Anatomy*, 2010, vol. 32, no. 6, pp. 593–599. <https://doi.org/10.1007/s00276-009-0618-4>
17. Karpishchenko S., Arustamyan I., Stancheva O., Sharko K., Kaplun D., Bogachev M. I. Intraoperative sphenoid sinus volume measurement as an alternative technique to intraoperative computer tomography. *Diagnostics (Basel)*, 2020, vol. 10, no. 6, art. 350. <https://doi.org/10.3390/diagnostics10060350>
18. Sahlstrand-Johnson P., Jannert M., Strömbeck A., Abul-Kasim K. Computed tomography measurements of different dimensions of maxillary and frontal sinuses. *BMC Medical Imaging*, 2011, vol. 11, art. 8. <https://doi.org/10.1186/1471-2342-11-8>
19. Pérez-Piñas I., Sabaté J., Carmona A., Catalina-Herrera C. J., Jiménez-Castellanos J. Anatomical variations in the human paranasal sinus region studied by CT. *Journal of Anatomy*, 2000, vol. 197, pt. 2, pp. 221–227. <https://doi.org/10.1046/j.1469-7580.2000.19720221.x>
20. Cohen O., Warman M., Fried M., Shoffel-Havakuk H., Adi M., Halperin D., Lahav Y. Volumetric analysis of the maxillary, sphenoid and frontal sinuses: A comparative computerized tomography based study. *Auris Nasus Larynx*, 2018, vol. 45, no. 1, pp. 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.anl.2017.03.003>
21. Pirinc B., Fazliogullari Z., Guler I., Unver Dogan N., Uysal I. I., Karabulut A. K. Classification and volumetric study of the sphenoid sinus on MDCT images. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 2019, vol. 276, no. 10, pp. 2887–2894. <https://doi.org/10.1007/s00405-019-05549-8>
22. Tavakoli M., Jafari-Pozve N., Aryanezhad S. S. Sphenoid sinus pneumatization types and correlation with adjacent neurovascular structures using cone-beam computed tomography. *Indian Journal of Otolaryngology and Head and Neck Surgery*, 2023, vol. 75, no. 3, pp. 2245–2250. <https://doi.org/10.1007/s12070-023-03796-0>
23. Treviño-Gonzalez J. L., Maldonado-Chapa F., Becerra-Jimenez J. A., Soto-Galindo G. A., Morales-Del Angel J. A. Sphenoid sinus: Pneumatization and septation patterns in a Hispanic population. *Journal for Oto-Rhino-Laryngology and its Related Specialties*, 2021, vol. 83, no. 5, pp. 362–371. <https://doi.org/10.1159/000514458>

24. Gandhi K., Patil S. T., Kumar B., Patel M., Chawre P., Ahmad M., Pandita K., Parate S. B. Morphometry and intracranial relations of the sphenoid sinus in context to endoscopic transnasal transsphenoidal surgery. *Cureus*, 2023, vol. 15, no. 6, p. e40187. <https://doi.org/10.7759/cureus.40187>
25. Hamid O., El Fiky L., Hassan O., Kotb A., El Fiky S. Anatomic variations of the sphenoid sinus and their impact on trans-sphenoid pituitary surgery. *Skull Base*, 2008, vol. 18, no. 1, pp. 9–15. <https://doi.org/10.1055/s-2007-992764>
26. Kayalioglu G., Erturk M., Varol T. Variations in sphenoid sinus anatomy with special emphasis on pneumatization and endoscopic anatomy distances. *Neurosciences (Riyadh)*, 2005, vol. 10, no. 1, pp. 79–84.
27. Gibelli D., Cellina M., Gibelli S., Oliva A. G., Codari M., Termine G., Sforza C. Volumetric assessment of sphenoid sinuses through segmentation on CT scan. *Surgical and Radiologic Anatomy*, 2018, vol. 40, no. 2, pp. 193–198. <https://doi.org/10.1007/s00276-017-1949-1>
28. Higashino M., Abe S., Sawada M., Yamada H., Ayani Y., Haginomori S. I. [et al.]. Development of the sphenoid sinus in Japanese children: A retrospective longitudinal study using three-dimensional computed tomography. *Journal of Clinical Medicine*, 2022, vol. 11, no. 21, art. 6311. <https://doi.org/10.3390/jcm11216311>
29. Özer C. M., Atalar K., Öz I. I., Toprak S., Barut Ç. Sphenoid sinus in relation to age, gender, and cephalometric indices. *Journal of Craniofacial Surgery*, 2018, vol. 29, no. 8, pp. 2319–2326. <https://doi.org/10.1097/SCS.00000000000004869>
30. Gurlek Celik N., Akman B. Analysis of sphenoid sinus and ethmoid sinus volume and asymmetry by sex: A 3D-CT study. *Surgical and Radiologic Anatomy*, 2024, vol. 46, no. 5, pp. 551–558. <https://doi.org/10.1007/s00276-024-03319-8>
31. Karakas S., Kavakli A. Morphometric examination of the paranasal sinuses and mastoid air cells using computed tomography. *Annals of Saudi Medicine*, 2005, vol. 25, no. 1, pp. 41–45. <https://doi.org/10.5144/0256-4947.2005.41>
32. Cohen O., Warman M., Fried M., Shoffel-Havakuk H., Adi M., Halperin D., Lahav Y. Volumetric analysis of the maxillary, sphenoid and frontal sinuses: A comparative computerized tomography based study. *Auris Nasus Larynx*, 2018, vol. 45, no. 1, pp. 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.anl.2017.03.003>
33. Oliveira J. M., Alonso M. B., de Sousa E. Tucunduva M. J., Fuziy A., Scocate A. C., Costa A. L. Volumetric study of sphenoid sinuses: anatomical analysis in helical computed tomography. *Surgical and Radiologic Anatomy*, 2017, vol. 39, no. 4, pp. 367–374. <https://doi.org/10.1007/s00276-016-1743-5>
34. Famurewa O. C., Ibitoye B. O., Amede S. A., Asaleye C. M., Ayoola O. O., Onigbinde O. S. Sphenoid sinus pneumatization, septation, and the internal carotid artery: A computed tomography study. *Nigerian Medical Journal*, 2008, vol. 59, no. 1, pp. 7–13. https://doi.org/10.4103/nmj.NMJ_138_18

Информация об авторах

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

Мельниченко Юлия Михайловна – канд. мед. наук, доцент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0002-8742-6973>. E-mail: mjm1980@yandex.ru

Саврасова Нина Александровна – канд. мед. наук, доцент, врач-рентгенолог. Стоматологическая клиника «Элегия» (ул. Розы Люксембург, 143, 220036, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0003-1297-0226>. E-mail: ninasavrassova@tut.by

Юферева Мелания Павловна – студент. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0009-0000-2884-1133>. E-mail: melaniiaufere@yandex.ru

Шевчук Татьяна Александровна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Белорусский государственный медицинский университет (ул. Ленинградская, 6, 220006, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: t1266@mail.ru

Information about the authors

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

Yuliya M. Melnichenko – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0002-8742-6973>. E-mail: mjm1980@yandex.ru

Nina A. Savrasova – Ph. D. (Med.), Associate Professor, radiologist. Dental clinic “Elegiya” (143, Rosa Luxemburg Str., 220136, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0003-1297-0226>. E-mail: ninasavrassova@tut.by

Melania P. Iofereva – student. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0009-0000-2884-1133>. E-mail: melaniiaufere@yandex.ru

Tatjana A. Shevchuk – Ph. D. (Biol.), Senior Researcher. Belarusian State Medical University (6, Leningradskaya Str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: t1266@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 616.24.002:615.37
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-45-56>

Поступила в редакцию 22.12.2023
Received 22.12.2023

**М. П. Костинов^{1,2}, В. В. Зверев^{1,2}, В. Р. Татевосов³, В. В. Гайнитдинова²,
В. Б. Полищук¹, В. Н. Осипцов³, В. И. Губань³, Н. Е. Ястребова¹,
Е. А. Курбатова¹, Е. В. Маркелова⁴, И. В. Шубин⁵**

¹Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И. И. Мечникова,
Москва, Российская Федерация

²Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова,
Москва, Российская Федерация

³Главный военный клинический госпиталь войск национальной гвардии Российской Федерации,
Московская область, Российская Федерация

⁴Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Российская Федерация

⁵Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова,
Москва, Российская Федерация

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЛИГАНДЫ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ В ОРГАНИЗОВАННЫХ КОЛЛЕКТИВАХ

Аннотация. Несмотря на достигнутые успехи в лечении внебольничных пневмоний (ВП), тактика терапии нуждается в совершенствовании, особенно при создании коллективов военнослужащих нового пополнения.

Цель исследования – изучение клинико-иммунологических особенностей действия иммуотропного препарата бактериального происхождения Иммуновак-ВП-4 в комплексном лечении внебольничной пневмонии легкого течения у военнослужащих нового пополнения.

В исследование были включены 35 пациентов (группа 1, основная), поступивших на стационарное лечение по поводу ВП легкого течения, которым помимо базисной антибактериальной терапии вводилась вакцина Иммуновак-ВП-4. Группу 2 (контрольную) составили 53 пациента, получавших только базисную антибактериальную терапию. Иммуновак-ВП-4 (содержит лизаты *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*) назначали по назально-подкожной схеме с 1-х по 13-е сутки нахождения в стационаре. В основе механизма действия препарата лежит активация ключевых эффекторов врожденного и адаптивного иммунитета.

В основной группе отмечено повышение таких показателей, как пиковая объемная скорость выдоха, максимальная объемная скорость при выдохе на уровне 25 % форсированной жизненной емкости легких (МОС₂₅), МОС₅₀, МОС₇₅, выработка IgG-антител к компонентам клеточной стенки 4 условно-патогенных микроорганизмов, относительное уменьшение уровня ИЛ-6 и концентрации ИФН-γ в сыворотке крови на фоне введения бактериального иммуномодулятора.

Включение подкожно-назальной схемы применения поликомпонентной антибактериальной вакцины в комплексное лечение ВП легкого течения может быть рекомендовано как один из способов терапии, который приводит к нормализации медиаторов воспаления и является важным фактором профилактики респираторных инфекций у данной когорты пациентов.

Ключевые слова: внебольничная пневмония, лечение пневмонии, иммуномодуляторы, вакцина Иммуновак-ВП-4

Для цитирования: Бактериальные лиганды в комплексном лечении внебольничных пневмоний в организованных коллективах / М. П. Костинов, В. В. Зверев, В. Р. Татевосов [и др.] // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2025. – Т. 22, № 1. – С. 45–56. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-45-56>

**Mikhail P. Kostinov^{1,2}, Vitaly V. Zverev², Vitaly R. Tatevosov³, Viliya V. Gainitdinova²,
Valentina B. Polishchuk¹, Valery N. Osiptsov³, Victor I. Guban³, Natalia E. Yastrebova¹,
Ekaterina A. Kurbatova¹, Elena V. Markelova⁴, Igor V. Shubin⁵**

¹I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

²I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

³Main Military Clinical Hospital of the National Guard Troops of the Russian Federation, Moscow Region, Russian Federation

⁴Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

⁵Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

BACTERIAL LIGANDS IN COMPLEX TREATMENT OF COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA IN ORGANIZED GROUPS

Abstract. Despite the successes achieved in treating community-acquired pneumonia (CAP), tactics still need to be improved, especially when forming new organized collectives of military personnel.

The purpose of the study was to examine clinical and immunological features of action of an immunotropic drug of bacterial origin Immunovac-VP-4 in complex treatment of mild community-acquired pneumonia in newly recruited military personnel.

The study included 35 patients (main group 1) hospitalized with mild CAP who, in addition to basic antibacterial therapy, were treated with the Immunovac-VP-4 vaccine. Control group 2 consisted of 53 patients who received only basic antibacterial therapy. Immunovac-VP-4 contains lysates of *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli* and was prescribed according to the nasal-subcutaneous regimen from 1 to 13 days of hospital stay. The mechanism of action is based on activating key effectors of innate and adaptive immunity.

In the main group there were an increase of respiratory function indicators, production of IgG antibodies to all antigens of the drug, a relative decrease in IL-6 and IFN- γ concentration in blood serum after administration of a bacterial immunomodulator.

Including the multicomponent antibacterial vaccine in subcutaneous-nasal regimen in complex treatment of mild CAP can be recommended as one of the treatment methods leading to the normalization of inflammatory mediators and the prevention of respiratory infections in this cohort of patients.

Keywords: community-acquired pneumonia, treatment of pneumonia, immunomodulators, Immunovac-VP-4 vaccine

For citation: Kostinov M. P., Zverev V. V., Tatevosov V. R., Gainitdinova V. V., Polishchuk V. B., Osiptsov V. N., Guban' V. I., Yastrebova N. E., Kurbatova E. A., Markelova E. V., Shubin I. V. Bacterial ligands in complex treatment of community-acquired pneumonia in organized groups. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2025, vol. 22, no. 1, pp. 45–56 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-45-56>

Введение. Внебольничная пневмония (ВП) относится к числу наиболее распространенных острых инфекционных заболеваний. Согласно данным зарубежных эпидемиологических исследований, заболеваемость ВП у взрослых (≥ 18 лет) колеблется в широком диапазоне: у лиц молодого и среднего возраста она составляет 1–11,6 %, в старших возрастных группах – 25–44 %. В России в 2019 г. на долю пневмоний в структуре смертности от болезней органов дыхания приходилось 41,9 %, в 2018 г. смертность составила 17,0 случая на 100 тыс. населения. Вероятность неблагоприятного исхода при ВП зависит от многих факторов – возраста пациента, тяжести течения заболевания и наличия сопутствующих заболеваний. Летальность является наименьшей (1–3 %) у лиц молодого и среднего возраста без сопутствующих заболеваний и нетяжелом течении ВП [1].

Анализ российских и зарубежных данных показал, что дополнительным фактором риска неблагоприятного исхода является позднее обращение пациентов за медицинской помощью и неадекватная стартовая антибактериальная терапия (АБТ) [2, 3]. В то же время отмечалось, что даже при адекватной стартовой АБТ существует вероятность летальных исходов [4]. ВП может вызывать тяжелое воспаление легких и системное воспаление. Высокие уровни медиаторов воспаления связаны с нарушением альвеолярного газообмена, сепсисом, дисфункцией органов и систем организма и повышенным риском ранних и поздних летальных исходов [5].

Серьезной глобальной проблемой здравоохранения является развитие и распространение антибиотикорезистентности у бактерий, которые обычно вызывают инфекции нижних дыхательных путей. Это диктует необходимость поиска новых подходов к терапии и реабилитации пациентов с различными воспалительными заболеваниями системы органов дыхания.

В связи с этим возрос интерес к различным дополнительным методам лечения, направленным на снижение смертности, связанной с ВП [6]. Дополнительная (или адьювантная) терапия направлена на реакцию макро-, а не микроорганизма и включает противовоспалительные, антикоагулянтные, иммуномодулирующие и экспериментальные регенеративные методы лечения. Иммунологический мониторинг группы пациентов с ВП, получавших базисную терапию в сочетании с иммуномодуляторами, продемонстрировал уменьшение содержания циркулирующих иммунных комплексов, ИЛ-6, ИЛ-4, ФНО- α , С-реактивного белка, повышение относительного содержания CD3⁺ лимфоцитов, фагоцитарного и иммунорегуляторного индексов, а также существенный рост CD16⁺ NK-клеток, значительно опережающий аналогичный показатель у пациентов группы контроля (без иммунокоррекции). Назначение иммуностропных препаратов позволило сократить длительность периода интоксикации и регрессирования очага пневмонии, число возможных осложнений, что напрямую влияло на процесс выздоровления, а следовательно, и на количество проведенных в стационаре койко-дней [7, 8].

Результаты ряда исследований показали, что клиническое применение иммуностропных препаратов снижает частоту острых респираторных инфекций (ОРИ) и рецидивов хронических инфекций нижних дыхательных путей; обеспечивает течение инфекционного процесса с быстрым

и полным выздоровлением и эрадикацией возбудителя; сокращает сроки и объем АБТ, стоимость лечения; способствует снижению антибиотикорезистентности. Кроме того, есть данные, что бактериальные лизаты способствуют благоприятному для организма изменению состава цитокинов, содержащихся в сыворотке крови, предотвращая повторные инфекции дыхательных путей [9, 10].

Очевидно, что, несмотря на многолетний опыт изучения иммунологических аспектов патогенеза пневмонии и немалый перечень предложенных вариантов иммунокоррекции (включая введение иммуноглобулинов, а также активирующих клеточные механизмы иммунитета средств, воздействующих на воспалительные механизмы, в том числе цитокинов), на сегодняшний день нет однозначной трактовки обоснованности иммуномодулирующего лечения, недостаточно доказательных исследований, посвященных оценке его эффективности и безопасности. Следовательно, актуальным является дальнейшее изучение этиопатогенетических аспектов ВП и их связи с иммунными нарушениями, приводящими к тяжелому и осложненному течению заболевания. Это позволит обосновать принципы патогенетической, иммунокорректирующей терапии, направленной на регуляцию и устранение выявленных изменений, разработать клинико-иммунологические критерии оценки ее эффективности.

Несомненными лидерами среди иммуномодуляторов, используемых в лечении заболеваний дыхательных путей, являются лизаты бактерий наиболее частых возбудителей неспецифических воспалительных заболеваний соответствующей локализации, которые эффективно применяют на протяжении почти 30 лет более чем в 60 странах мира [11–13]. Эти препараты обладают неспецифическим иммуностимулирующим и специфическим (вакцинальным) эффектами в отношении возбудителей, на основе которых они производятся [14].

Отечественный препарат Иммуновак-ВП-4 представляет собой комплекс водорастворимых антигенов микробных клеток *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*. При разработке Иммуновак-ВП-4 использованы новые подходы, основанные на получении антигенов из специально отобранных наиболее иммуногенных штаммов бактерий, содержащих внутри- и межвидовые перекрестные протективные антигены. Последние входят в состав вакцины и содержат патоген-ассоциированные молекулярные структуры, являющиеся лигандами для Толл-подобных рецепторов (Toll-like receptors – TLRs) клеток врожденного иммунитета. В основе механизма действия препарата лежит активация ключевых эффекторов врожденного и адаптивного иммунитета. Иммуновак-ВП-4 активирует TLRs 1/2, 4, 5/6, 9; стимулирует дендритные клетки к созреванию и экспрессии коstimуляторных CD40, CD80, CD86 и антигенпрезентирующих молекул МНСI, МНСII; увеличивает продукцию цитокинов (TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12, IFN α , IFN γ); повышает цитотоксичность NK-клеток; усиливает фагоцитарную активность макрофагов; корректирует количество и функциональную активность субпопуляций лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, CD16, CD72); программирует дифференцировку CD4 Т-лимфоцитов по Th1 пути; корректирует синтез изотипов иммуноглобулинов в направлении снижения IgE и повышения IgG, IgA, sIgA и способствует выработке антител к антигенам клеточной стенки (КС) 4 видов условно-патогенных микроорганизмов, антигены которых входят в состав препарата [15–18].

Активируя клетки системы врожденного иммунитета через систему Toll-подобных рецепторов, бактериальные лиганды, с одной стороны, ускоряют созревание дендритных клеток и усиливают презентацию ими инфекционных паттернов, а с другой – способствуют миграции комплекса «антиген – антигенпрезентирующая клетка» в периферические лимфоидные органы, где инициируется формирование основных факторов противоинфекционного иммунитета [19]. Кроме того, бактериальные вакцины способствуют накоплению цинка в мононуклеарных клетках, с чем связаны иммуномодулирующий и антиоксидантный эффекты этих препаратов [20]. Помимо описанных эффектов презентация антигена зрелыми дендритными клетками слизистых оболочек индуцирует CD4+-зависимую активацию В-лимфоцитов с последующим образованием плазматических клеток, продуцирующих противоинфекционные IgA, что способствует усилению мукозального иммунитета [21, 22].

Таким образом, поликомпонентные бактериальные вакцины могут оказывать положительное влияние на течение острых и хронических заболеваний респираторного тракта. В настоящее

время их назначение при остром процессе показано только при наличии клинических признаков иммунокомпрометации [23].

В то же время в отечественной и зарубежной литературе отсутствуют данные о применении бактериальных иммуномодуляторов в комплексном лечении ВП с первых дней поступления пациента в стационар.

Учитывая роль бактериальных иммуномодуляторов в лечении и профилактике болезней органов дыхания, целью исследования являлось изучение клинико-иммунологических особенностей действия Иммуновак-ВП-4 в комплексном лечении внебольничной пневмонии легкого течения у военнослужащих нового пополнения.

Материалы и методы исследования. В исследование были включены 88 военнослужащих по призыву из числа нового пополнения, поступивших на стационарное лечение по поводу ВП легкого течения. Основную группу составили 35 пациентов, которым помимо базисной АБТ вводилась терапевтическая поликомпонентная антибактериальная вакцина Иммуновак-ВП-4; контрольную группу – 53 пациента, получавших базисную АБТ.

Критерии включения больных в исследование:

- мужчины в возрасте 18–25 лет;
- рентгенологически подтвержденная ВП;
- отсутствие АБТ до установления диагноза;
- отсутствие сопутствующих хронических заболеваний (бронхиальная астма, иммунодефицит, сахарный диабет, поражение почек);
- отсутствие спутанности или угнетения сознания;
- отсутствие возможной аспирации;
- частота дыхания <30 в минуту;
- стабильная гемодинамика;
- одностороннее поражение;
- $SpO_2 > 93$ % при дыхании атмосферным воздухом;
- отсутствие экссудативного плеврита;
- отсутствие абсцедирования;
- отсутствие лейкопении ($<4 \cdot 10^9/л$) или лейкоцитоза ($>20 \cdot 10^9/л$);
- отсутствие анемии при концентрации гемоглобина <90 г/л;
- концентрация мочевины <7 ммоль/л;
- отсутствие дыхательной недостаточности;
- наличие подписанного и датированного информированного согласия на участие в клиническом исследовании.

Критерии исключения из исследования:

- возраст моложе 18 лет или старше 25 лет;
- тяжелое течение пневмонии;
- АБТ до начала исследования;
- септический шок;
- частота дыхания $\geq 30/мин$;
- $PaO_2/FiO_2 \leq 250$ или $SpO_2 \leq 93$ %;
- мультилобарная инфильтрация;
- нарушение сознания;
- лейкопения (лейкоциты $<4 \cdot 10^9/л$);
- тромбоцитопения (тромбоциты $<100 \cdot 10^{12}/л$);
- отказ от участия в исследовании.

Критерии полного выздоровления:

отсутствие рентгенологических проявлений пневмонии (свежие очагово-инфильтративные изменения, усиление легочного рисунка);

отсутствие клинических проявлений пневмонии (лихорадка, кашель, выделение мокроты, одышка, боль в грудной клетке, а также физикальные признаки – укорочение перкуторного звука, мелкопузырчатые хрипы или крепитация, усиление голосового дрожания);

нормализация температуры тела;

нормализация показателей клинического анализа крови.

Все пациенты были разделены на две группы: группа 1 (основная) – 35 пациентов с ВП легкого течения, получавших помимо базисной АБТ (амоксциллин/клавулановая кислота по 1,2 г внутривенно 3 раза в день или цефтриаксон (цефоперазон) по 1,0 г внутримышечно 2 раза в день) вакцинотерапию вышеуказанным бактериальным иммуномодулятором; группа 2 (группа сравнения) – 53 пациента с ВП легкого течения, получавшие только базисную АБТ (амоксциллин/клавулановая кислота по 1,2 г внутривенно 3 раза в день или цефтриаксон (цефоперазон) по 1,0 г внутримышечно 2 раза в день).

Поликомпонентную антибактериальную вакцину применяли по назально-подкожной схеме: в 1-е сутки лечения – интраназально по 1 капле в один носовой ход + подкожно в дозе 0,05 мл; на 2-е сутки – интраназально по 1 капле в оба носовых хода; на 3-и сутки – интраназально по 2 капли в оба носовых хода; на 4, 7, 10 и 13-е сутки – подкожно в дозах 0,1; 0,2; 0,2 и 0,3 мл соответственно.

Поликомпонентная вакцина Иммуновак-ВП-4 содержит антигены *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*. Вакцина разработана в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» и разрешена к применению в практике здравоохранения РФ (регистрационное удостоверение ЛСР-001293/10 от 24.02.2010 г.). В одной ампуле с лиофилизатом для приготовления раствора для подкожного введения содержится 0,5 мг антигенов условно-патогенных микроорганизмов.

Клинико-лабораторное и инструментальное наблюдение в динамике проводилось в период стационарного лечения и через 6 мес. Контроль иммунологических показателей (уровни ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-17, ФНО- α , ИФН- γ и ИФН- α) в образцах сыворотки крови определяли методом твердофазного иммуоферментного анализа (ООО «Цитокин», Россия). Для исследования уровней IgG антител к компонентам вакцины (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*) использовали способ определения состояния гуморального иммунитета к условно-патогенным бактериям (Способ определения состояния гуморального иммунитета к условно-патогенным бактериям с одновременным выявлением IgG антител: патент на изобретение RU 2213972 С1, 10.10.2003; заявка № 2002124823/14 от 19.09.2002).

Исследование у группы пациентов функции внешнего дыхания с оценкой параметров, таких как форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), пиковая объемная скорость выдоха (ПОС), максимальная объемная скорость при выдохе 25 % ФЖЕЛ (МОС₂₅), 50 % ФЖЕЛ (МОС₅₀) и 75 % ФЖЕЛ (МОС₇₅), проводили при помощи спирографа SpiroUSB (Германия).

Клиническую эффективность применения бактериального иммуномодулятора оценивали на основании анализа частоты повторных пневмоний, ОРИ, острого бронхита, острого риносинусита в анализируемых группах военнослужащих в течение 6 мес. после выписки из стационара.

Результаты и их обсуждение. Согласно результатам исследования, поликомпонентная антибактериальная вакцина хорошо переносилась участниками исследования. Болезненность отмечалась только в течение первых 4 сут исследования, причем в 1-е сутки на боль в месте введения вакцины указывали 10 (28,6 %) пациентов, к 4-м суткам – 1 (2,9 %). Гиперемия ≥ 1 см выявлена у одного пациента на 1-е и 2-е сутки исследования. В дальнейшем инъекции препаратом не сопровождались возникновением гиперемии. Температура тела 37,0–37,5 °С наблюдалась в течение первых 3 сут исследования, причем в 1-е сутки температура тела в указанном диапазоне отмечалась у максимального количества пациентов – 8 (22,9 %) человек. Начиная с 4-х суток у всех пациентов наблюдалась нормализация температуры тела. Это может быть связано с проводимой АБТ основного заболевания, но в то же время указывает на отсутствие пирогенного потенциала поликомпонентной антибактериальной вакцины, так как в указанные дни продолжалось введение препарата по подкожно-назальной схеме. Недомогание отмечено только у 1 (2,9 %) пациента в 1-е сутки исследования. Других нежелательных явлений при применении препарата в течение 15 сут наблюдения не выявлено. Также не отмечено серьезных нежелательных явлений. Полученные нами результаты свидетельствуют о безопасности применения поликомпонентной антибак-

териальной вакцины в комплексном лечении ВП легкого течения у военнослужащих нового пополнения.

Наблюдение за пациентами в течение 6 мес. после выписки из стационара показало, что в группе военнослужащих, получивших вакцину Иммуновак-ВП-4, не зарегистрировано случаев острого риносинусита и отмечено снижение числа случаев пневмонии до 3 (9 %), в то же время у лиц, получавших стандартную базисную терапию, указанные заболевания зарегистрированы у 9 (17 %) ($p = 0,01$) и 15 (28 %) ($p = 0,031$) человек соответственно. Показатели частоты повторных случаев присоединения других респираторных инфекций на протяжении 6-месячного периода наблюдения в сравниваемых группах пациентов не различались, хотя тенденция к их уменьшению у пациентов, получивших иммуностропный препарат, прослеживалась (частота ОРИ составляла 17 и 23 % ($p = 0,598$), острого бронхита – 9 и 17 % ($p = 0,349$) соответственно). Это может свидетельствовать о дополнительном иммуномодулирующем и протективном действии поликомпонентной антибактериальной вакцины, что приобретает особую важность в период пандемии инфекции, вызванной SARS-CoV-2, на что указывают результаты последующих исследований [24–28].

Изучение функции внешнего дыхания через 6 мес. показало повышение показателей ПОС, МОС₂₅, МОС₅₀ у пациентов, получивших бактериальный иммуномодулятор, при этом в группе 2 значимых изменений анализируемых параметров не выявлено (таблица). Это может свидетельствовать о том, что на фоне иммунотерапии воспалительный процесс в бронхолегочной системе уменьшается в более короткие сроки и присоединение иммуностропного препарата к стандартной терапии оказывает благоприятное влияние на течение и разрешение ВП легкого течения у военнослужащих нового пополнения.

Показатели функции внешнего дыхания у пациентов исследуемых групп
Indicators of external respiratory function in patients of the study groups

Показатель	Иммуновак-ВП-4 (группа 1, n = 23)			Контроль (группа 2, n = 23)			p_{1-2}	
	исходно	через 6 мес.	p	исходно	через 6 мес.	p	исходно	через 6 мес.
ФЖЕЛ, л	5,2 (4,7–5,8)	5,6 (5,0–6,0)	0,09	4,9 (4,5–5,4)	5,1 (4,5–5,6)	0,33	0,10	0,13
ОФВ ₁ , л/с	4,6 (4,2–5,2)	4,6 (4,3–5,4)	0,22	4,4 (3,8–4,8)	4,5 (4,1–4,9)	0,11	0,17	0,33
ПОС, л/с	472 (428–547)	537 (511–574)	<0,001	454 (433–503)	491 (460–536)	0,08	0,42	0,02
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ, %	85,5 (74,5–89,3)	83,0 (77,5–88,5)	0,83	86,5 (74,5–93,8)	88,0 (81,0–93,0)	0,66	0,53	0,13
МОС ₂₅ , л/с	7,6 (6,7–8,7)	8,6 (7,6–9,7)	0,002	7,5 (7,1–7,9)	7,9 (7,2–8,6)	0,13	0,55	0,06
МОС ₅₀ , л/с	4,7 (4–6,3)	6,2 (4,4–7,1)	0,007	4,9 (4,1–5,6)	5,1 (4,6–5,7)	0,14	0,52	0,08
МОС ₇₅ , л/с	2,3 (1,7–3,3)	2,6 (1,7–3,6)	0,63	2,6 (1,8–3,4)	2,7 (2,1–3,4)	0,21	0,50	0,42

Примечание. Достоверность различий: p – сравнение между контрольными точками, p_{1-2} – сравнение между группами 1 и 2.

Нами изучена динамика уровней поствакцинальных IgG-антител к компонентам КС условно-патогенных микроорганизмов у военнослужащих нового пополнения с ВП легкого течения исходно, на 15-е сутки и через 6 мес. Как и ожидалось, выработка специфических IgG-антител отмечена только у пациентов, получивших поликомпонентную антибактериальную вакцину, что отражено на примере динамики уровня IgG-антител к антигенам КС *K. pneumoniae*, когда наибольший прирост отмечен на 15-е сутки, а также через 6 мес. (рис. 1). Так, в группе 1 медиана уровня IgG-антител к КС *E. coli* через 6 мес. увеличилась в 1,3 раза (с 67,3 (56,5; 72,4) до 89,2 (67,4; 106,3) у. е/мл, $p = 0,002$), к КС *K. pneumoniae* – в 1,8 раза (с 76 (63,7; 98,3) до 140,3 (117,5; 164,4) у. е/мл, $p < 0,001$), к КС *P. vulgaris* – в 1,4 раза (с 63,7 (51,8; 72,4) до 88,5 (74,6; 129,2) у. е/мл, $p < 0,001$), к КС *S. aureus* – в 1,3 раза (с 73,2 (47,6; 88,5) до 96,5 (76,2; 105,6) у. е/мл, $p < 0,001$). У пациентов группы 2 в аналогичные сроки значимых изменений данных параметров не выявлено.

В экспериментальных исследованиях показано, что поликомпонентная антибактериальная вакцина повышает устойчивость организма к *S. pneumoniae*, *H. influenzae* и ряду других патоген-

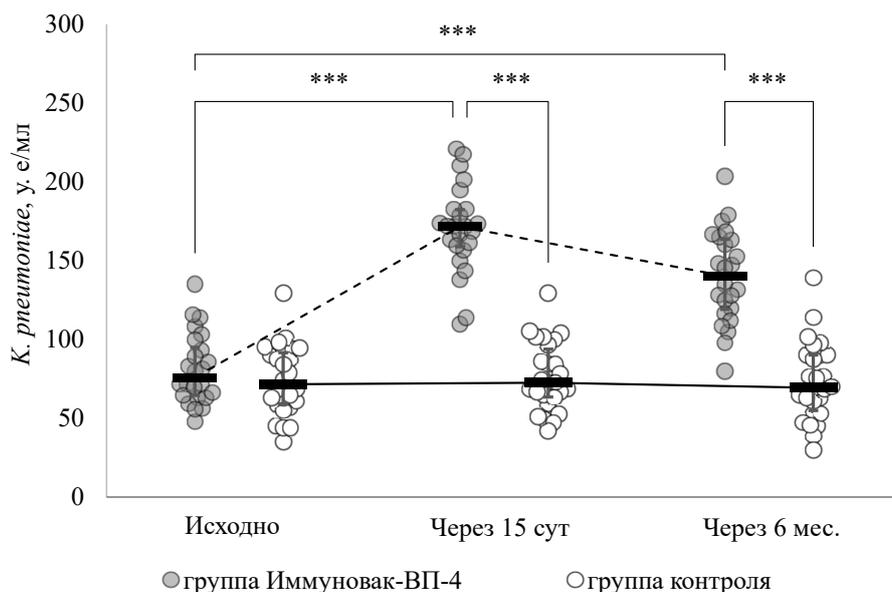


Рис. 1. Динамика уровней IgG-антител к антигенам клеточной стенки *Klebsiella pneumoniae* в группах исследования (***) – $p < 0,001$). Здесь и на рис. 2 для расчета использовалась робастная линейная модель смешанных эффектов, апостериорные сравнения проводились с поправкой Холма

Fig. 1. Dynamics of IgG antibody levels to *Klebsiella pneumoniae* cell wall antigens in the study groups (***) – $p < 0.001$). Here and in Fig. 2, a robust linear mixed effects model was used for the calculation, and post hoc comparisons were performed with the Holm correction

нов за счет присутствия в ее составе межвидовых перекрестных протективных антигенов [16]. В нашем исследовании в обеих группах военнослужащих нового пополнения с ВП легкого течения значимого изменения уровней IgG-антител к компонентам КС *H. influenzae*, *P. aeruginosa*, *S. pneumoniae* не выявлено. Это может свидетельствовать об отсутствии формирования перекрестных протективных антител при применении препарата у данной категории пациентов.

Оценка динамики содержания цитокинов (базальный уровень) у военнослужащих обеих групп с ВП легкого течения исходно, на 15-е сутки и через 6 мес. после выписки показала, что их изменение носит разнонаправленный характер. Исходно в группе пациентов, получавших иммуностимулирующий препарат, в сыворотке крови выявлено значимо большее содержание ИЛ-6, чем в группе сравнения, хотя концентрации данного провоспалительного цитокина в общем были невысокими (25,79 пг/мл в основной группе и 13,22 пг/мл в группе сравнения, $p < 0,05$). Клиническая важность и иммунопатофизиологическое значение данного различия, по нашему мнению, отсутствуют. Однако изучение дальнейшей динамики содержания ИЛ-6 в сыворотке крови представляется весьма интересным. Так, в обеих группах содержание данного показателя выросло, однако в группе 1 на фоне применения Иммуновак-ВП-4 через 15 сут отмечалась статистически значимо более низкая его концентрация, чем у пациентов, получавших только стандартную терапию (53,87 и 113,45 пг/мл соответственно, $p < 0,05$). К моменту выписки из стационара содержание ИЛ-6 в сыворотке крови у военнослужащих нового пополнения, получавших иммуностимулирующую терапию, было значимо выше, чем у пациентов группы 2 (25,83 и 10,75 пг/мл соответственно, $p < 0,05$), вернувшись, таким образом, к исходным значениям в обеих группах. Столь выраженное повышение содержания ИЛ-6 в сыворотке крови на 15-е сутки в группе 2 по сравнению с таковым у пациентов группы 1 можно объяснить дополнительным иммуномодулирующим влиянием Иммуновак-ВП-4, сдерживающим активность системного воспаления, что, возможно, является благоприятным фактором, направленным на адекватное разрешение имеющегося патологического процесса.

Изучение динамики концентрации ИФН- γ в сыворотке крови показало, что исходные концентрации ИФН- γ у пациентов группы контроля и у пациентов, получавших бактериальный иммуномодулятор, были сопоставимы (рис. 2). Дальнейший анализ показал, что на 15-е сутки у пациентов

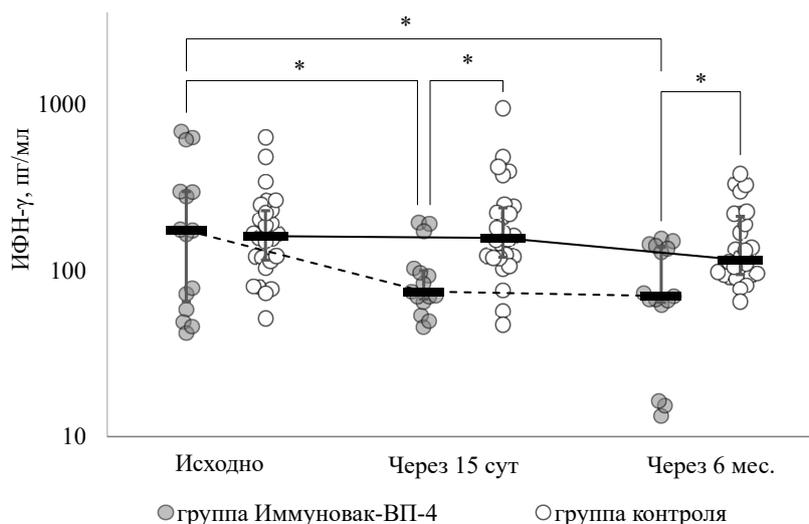


Рис. 2. Динамика содержания ИФН- γ у пациентов обеих групп (* – $p \leq 0,05$, ** – $p < 0,01$). Приведены индивидуальные значения, медиана и интерквартильный размах

Fig. 2. Dynamics of IFN- γ concentration (* – $p \leq 0.05$), ** – $p < 0.01$). Individual values, medians and interquartile range in patients of both groups are given

группы 1 концентрация ИФН- γ на фоне применения препарата снизилась, в то время как у пациентов группы 2 (без его применения) она оставалась без изменений относительно исходного уровня. Различия между группой контроля и основной группой через 15 сут после начала исследования были статистически значимы. Через 6 мес. после введения поликомпонентной антибактериальной вакцины отмечалось уменьшение концентрации ИФН- γ в сыворотке крови – до 70,5 (62,5–141,5) пг/мл, в то время как в контрольной группе данный показатель составил 116,3 (94,5–221,1) пг/мл.

Значимого изменения концентраций ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-17, ФНО- α в сыворотке крови пациентов обеих групп исходно, через 15 сут и 6 мес. не выявлено.

Заключение. Таким образом, результаты исследования показали, что ответом на введение бактериального иммуномодулятора в комплексном лечении внебольничной пневмонии легкого течения стали выработка специфических IgG-антител, значимо меньшая концентрация ИФН- γ в основной группе, наблюдаемая через 6 мес., по сравнению с таковой у пациентов группы 2, а также нормализация других изучаемых параметров и последующее уменьшение частоты возникновения респираторных инфекций и их осложнений. Таким образом, включение подкожно-назальной схемы применения поликомпонентной антибактериальной вакцины в комплексное лечение внебольничной пневмонии легкого течения может быть рекомендовано как один из способов лечения и профилактики, а также важным фактором в иммунореабилитации данной когорты пациентов. Это предположение было подтверждено при использовании препарата в период реабилитации у пациентов с постковидным синдромом [29–35].

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Российский статистический ежегодник / Федер. служба гос. статистики. – М., 2019. – URL: <http://www.demoscope.ru/weekly/2020/0845/biblio03.php> (дата обращения: 04.12.2024).
2. Трифанова, Н. М. Факторы риска летального исхода при тяжелой внебольничной пневмонии / Н. М. Трифанова, И. В. Лещенко // Уральский медицинский журнал. – 2008. – № 13 (53). – С. 114–121.
3. Шаймуратов, Р. И. Структурный анализ причин летальных исходов пациентов, госпитализированных с внебольничной пневмонией в стационары Татарстана: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.25; 15.05.2018 / Шаймуратов Рустем Ильдарович. – СПб., 2018. – 159 л.
4. Sibila, O. Nonantibiotic Adjunctive therapies for community-acquired pneumonia (corticosteroids and beyond): Where are we with them? / O. Sibila, A. Rodrigo-Troyano, A. Torres // Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine. – 2016. – Vol. 37, N 6. – P. 913–922. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1593538>

5. Inflammatory markers at hospital discharge predict subsequent mortality after pneumonia and sepsis / S. Yende, G. D'Angelo, J. A. Kellum [et al.] // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. – 2008. – Vol. 177, N 11. – P. 1242–1247. <https://doi.org/10.1164/rccm.200712-1777OC>
6. Wunderink, R. G. Adjunctive therapy in community-acquired pneumonia / R. G. Wunderink // *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*. – 2009. – Vol. 30, N 2. – P. 146–153. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1202933>
7. Караулов, А. В. Иммунология внебольничных пневмоний / В. А. Караулов // *Пневмония* / под ред. А. Г. Чучалина, А. И. Синопальникова, Н. Е. Чернеховской. – М., 2002. – С. 67–93.
8. Клинико-иммунологическая эффективность имунофана и полиоксидония в комплексной терапии внебольничной пневмонии / Л. Р. Мухамадиева, Г. А. Мавзютова, Р. М. Фазлыева, Н. Р. Бикметова // *Медицинская иммунология*. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 57–62.
9. Evolution of cytokines/chemokines in cases with community-acquired pneumonia and distinct etiologies / E. C. Nascimento-Carvalho, Â. G. Vasconcellos, J. Clarêncio [et al.] // *Pediatric Pulmonology*. – 2020. – Vol. 55, N 1. – P. 169–176. <https://doi.org/10.1002/ppul.24533>
10. Zielnik-Jurkiewicz, B. Effectiveness of Broncho-Vaxom in prevention of recurrent upper respiratory tract infection in children / B. Zielnik-Jurkiewicz, D. Jurkiewicz, W. Stankiewicz // *Polski Merkuriusz Lekarski*. – 2005. – Vol. 9, N 113. – P. 625–629.
11. Клинико-иммунологическая эффективность вакцинации конъюгированной пневмококковой вакциной детей с компенсированным хроническим тонзиллитом / И. И. Абабий, Л. А. Данилов, С. С. Гинда [и др.] // *Педиатрия. Журнал имени Г. Н. Сперанского*. – 2018. – Т. 97, № 2. – С. 134–139.
12. Фошина, Е. П. Влияние бактериальных вакцин на состояние микробиоценоза носоглотки и оценка их клинической эффективности у детей с хроническими риносинуситами и тонзиллофарингитами / Е. П. Фошина, М. П. Костинов, А. В. Поддубиков // *Педиатрия. Журнал имени Г. Н. Сперанского*. – 2018. – Т. 97, № 2. – С. 129–133.
13. Влияние иммуномодуляторов на различные маркеры острой фазы воспаления у больных с нетяжелой внебольничной пневмонией / М. П. Костинов, В. В. Гайнитдинова, С. В. Кажарова [и др.] // *Туберкулез и болезни легких*. – 2021. – Т. 99, № 4. – С. 36–43.
14. Delivery with polycations extends the immunostimulant Ribomunyl into a potent antiviral Toll-like receptor 7/8 agonist / S. Herberhold, C. Coch, T. Zillinger [et al.] // *Antiviral Therapy*. – 2011. – Vol. 16, N 5. – P. 751–758. <https://doi.org/10.3851/IMP1822>
15. Новый тип вакцин с комбинацией агонистов Toll-подобных рецепторов – TLRs 1/2, 4, 5/6, 9 / Н. Б. Егорова, Е. А. Курбатова, И. М. Грубер [и др.] // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2011. – № 4. – С. 40–46.
16. Поликомпонентная вакцина Имуновак-ВП-4 и иммунотерапевтическая концепция ее использования для профилактики и лечения заболеваний, вызываемых условно патогенными микроорганизмами / Н. Б. Егорова, Е. А. Курбатова, Н. К. Ахматова, И. М. Грубер // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2019. – № 1. – С. 43–49.
17. Терапевтические вакцины / Б. Ф. Семенов, Н. Б. Егорова, И. Б. Семенова, Е. А. Курбатова // *Российские медицинские вести*. – 2000. – Т. 5, № 3. – С. 26–32.
18. Егорова, Н. Б. Иммунотерапевтическая концепция использования микробных антигенов при атопии и патологии, ассоциированной с условно-патогенной микрофлорой (на примере поликомпонентной вакцины Имуновак-ВП-4) / Н. Б. Егорова, Е. А. Курбатова // *Медицинская иммунология*. – 2008. – Т. 10, № 1. – С. 13–20.
19. Giovannini, M. P. Bacterial extracts as immunomodulators for the prevention of recurrent respiratory infections in children / M. Giovannini, F. Salvini, E. Riva // *Journal of Medical Microbiology and Diagnosis*. – 2014. – Vol. 3, N 2. – Art. 1000136. <https://doi.org/10.4172/2161-0703.1000136>
20. Shi, J. H. The evolvement of Th1/Th2 imbalance accommodates to the progress of airway inflammation in asthmatic subjects and rat model / J.-H. Shi, T.-S. Li, Y.-G. Lin // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. – 2004. – Vol. 84, N 17. – P. 1440–1444.
21. Костинов, М. П. Профилактика пневмококковой инфекции у призывников / М. П. Костинов, В. Б. Полищук // *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. – 2017. – № 6 (23). – С. 37–41.
22. Impact of a mixed bacterial lysate (OM-85 BV) on the immunogenicity, safety and tolerability of inactivated influenza vaccine in children with recurrent respiratory tract infection / S. Esposito, P. Marchisio, E. Prada [et al.] // *Vaccine*. – 2014. – Vol. 32, N 22. – P. 2546–2552. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.03.055>
23. Костинов, М. П. Вакцины нового поколения в профилактике инфекционных заболеваний / М. П. Костинов, В. Ф. Лавров. – 2-е изд., доп. – М.: Группа МДВ, 2010. – 192 с.
24. Костинов, М. П. Потенциальная иммунопрофилактика COVID-19 у групп высокого риска инфицирования. Временное пособие для врачей / М. П. Костинов, О. А. Свитич, Е. В. Маркелова. – М.: Группа МДВ, 2020. – 64 с.
25. Вакцинопрофилактика COVID-19 у пациентов с коморбидными заболеваниями. Руководство для врачей / М. П. Костинов, В. Б. Полищук, О. А. Свитич [и др.]; под ред. М. П. Костинова. – М.: Группа МДВ, 2022. – 176 с.
26. Мукозальный иммунитет у пациентов с COVID-19: лечение и реабилитация / Н. Д. Абрамова, Н. К. Ахматова, И. В. Бишева [и др.]; под ред. А. Г. Чучалина, О. А. Свитич, М. П. Костинова. – М.: Группа МДВ, 2022. – 128 с.
27. Changes in nasal, pharyngeal and salivary secretory IgA levels in patients with COVID-19 and the possibility of correction of their secretion using combined intranasal and oral administration of a pharmaceutical containing antigens of opportunistic microorganisms / M. P. Kostinov, O. Svitich, A. Chuchalin [et al.] // *Drugs Contexts*. – 2023. – Vol. 12. – Art. 2022-10-4. <https://doi.org/10.7573/dic.2022-10-4>
28. Secretory IgA and course of COVID-19 in patients receiving a bacteria-based immunostimulant agent in addition to background therapy / M. P. Kostinov, O. Svitich, A. Chuchalin [et al.] // *Journal of Clinical and Cellular Immunology*. – 2023. – Vol. 14, N 2. – P. 682. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-61341-7>

29. Вакцинация против *Staphylococcus aureus* и некоторых представителей семейства Enterobacteriaceae в комплексном лечении внебольничной пневмонии легкого течения у военнослужащих нового пополнения / М. П. Костинов [и др.] // Медицинский вестник МВД. – 2021. – № 6 (115). – С. 23–29.
30. Секреторный иммуноглобулин А респираторной системы и COVID-19 / Н. О. Крюкова, Е. Б. Ракунова, М. П. Костинов [и др.] // Пульмонология. – 2021. – Т. 31, № 6. – С. 792–798.
31. Бактериальные лиганды в реабилитации медицинских работников после COVID-19 / Н. О. Крюкова, Н. Д. Абрамова, Е. А. Хромова [и др.] // Пульмонология. – 2022. – Т. 32, № 5. – С. 716–727.
32. Mucosal immunity in health care workers' respiratory tracts in the post-COVID-19 period / N. Kryukova, I. Baranova, N. Abramova [et al.] // Scientific Reports. – 2023. – Vol. 13, N 1. – Art. 7162. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32670-w>
33. Крюкова, Н. О. Фагоцитарная активность лейкоцитов слизистых дыхательных путей и крови в постковидном периоде / Н. О. Крюкова, М. П. Костинов, И. А. Баранова [и др.] // Медицинский вестник МВД. – 2023. – № 4 (124). – С. 68–73.
34. Гуморальный иммунный ответ слизистых дыхательных путей у медицинских работников в постковидном периоде / Н. О. Крюкова, А. А. Хасанова, И. А. Баранова [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2023. – Т. 26, № 4. – С. 633–640.
35. Костинов, М. П. Отечественные иммуностимуляторы в профилактике, терапии и реабилитации пациентов с COVID-19 / М. П. Костинов. – М.: Группа МДВ, 2024. – 172 с.

References

1. *Russian Statistical Yearbook*. Moscow, 2019. Available at: <http://www.demoscope.ru/weekly/2020/0845/biblio03.php> (date of access 04.12.2024) (in Russian).
2. Trifanova N. M., Leshchenko I. V. Risk factors of mortality from severe community acquired pneumonia. *Ural'skii meditsinskii zhurnal* [Ural medical journal], 2008, no. 13 (53), pp. 114–121 (in Russian).
3. Shaimuratov R. I. *Structural analysis of the causes of deaths of patients hospitalized with community-acquired pneumonia in Tatarstan hospitals*. Ph. D. Thesis. Sankt-Peterburg, 2018. 159 p. (in Russian).
4. Sibila O., Rodrigo-Troyano A., Torres A. Nonantibiotic adjunctive therapies for community-acquired pneumonia (corticosteroids and beyond): Where are we with them? *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 2016, vol. 37, no. 6, pp. 913–922. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1593538>
5. Yende S., D'Angelo G., Kellum J. A., Weissfeld L., Fine J., Welch R. D., Kong L., Carter M., Angus D. C. Inflammatory markers at hospital discharge predict subsequent mortality after pneumonia and sepsis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2008, vol. 177, no. 11, pp. 1242–1247. <https://doi.org/10.1164/rccm.200712-1777OC>
6. Wunderink R. G. Adjunctive therapy in community-acquired pneumonia. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 2009, vol. 30, no. 2, pp. 146–153. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1202933>
7. Karaulov A. V. Immunology of community-acquired pneumonia. *Pneumonia*. Moscow, 2002, pp. 67–93 (in Russian).
8. Mukhamadiev L. R., Mavzyutova G. A., Fazlyeva R. M., Bikmetova N. R. Clinical and immunological efficiency of imunofan and polyoxidonium in combined therapy of community-acquired pneumonia. *Meditsinskaya immunologiya* [Medical immunology], 2009, vol. 11, no. 1, pp. 57–62 (in Russian).
9. Nascimento-Carvalho E. C., Vasconcellos Â. G., Clarêncio J., Andrade D., Barral A., Barral-Netto M., Nascimento-Carvalho C. M. Evolution of cytokines/chemokines in cases with community-acquired pneumonia and distinct etiologies. *Pediatric Pulmonology*, 2020, vol. 55, no. 1, pp. 169–176. <https://doi.org/10.1002/ppul.24533>
10. Zielnik-Jurkiewicz B., Jurkiewicz D., Stankiewicz W. Effectiveness of Broncho-Vaxom in prevention of recurrent upper respiratory tract infection in children. *Polski Merkuriusz Lekarski*, 2005, vol. 19, no. 113, pp. 625–629 (in Polish).
11. Ababii I. I., Danilov L. A., Ginda S. S., Manyuk M. K., Ababii P. I., Kostinov M. P. Clinical and immunological efficacy of conjugated pneumococcal vaccine in children with compensated chronic tonsillitis. *Pediatrics. Zhurnal imeni G. N. Speranskogo* [Pediatrics. Journal named after G. N. Speransky], 2018, vol. 97, no. 2, pp. 134–139 (in Russian).
12. Foshina E. P., Kostinov M. P., Poddubikov A. V. Influence of vaccine therapy on the nasopharyngeal microbiocenosis state and evaluation of its clinical efficacy in children with chronic rhinosinusitis and tonsillopharyngitis. *Pediatrics. Zhurnal imeni G. N. Speranskogo* [Pediatrics. Journal named after G. N. Speransky], 2018, vol. 97, no. 2, pp. 129–133 (in Russian).
13. Kostinov M. P., Gainitdinova V. V., Kazharova S. V., Zorina V. N., Polishchuk V. B., Vlasenko A. E. The effect of immunomodulators on various markers of the acute inflammation phase in patients with mild community-acquired pneumonia. *Tuberkulez i bolezni legkikh* [Tuberculosis and lung diseases], 2021, vol. 99, no. 4, pp. 36–43 (in Russian).
14. Herberhold S., Coch C., Zillinger T., Hommertgen B., Busch N., Schuberth C. [et al.]. Delivery with polycations extends the immunostimulant Ribomunyl into a potent antiviral Toll-like receptor 7/8 agonist. *Antiviral Therapy*, 2011, vol. 16, no. 5, pp. 751–758. <https://doi.org/10.3851/IMP1822>
15. Egorova N. B., Kurbatova E. A., Gruber I. M., Semenova I. B., Mikhailova N. A., Zverev V. V. Novel type of vaccine with a combination of toll like receptor agonists – TLR 1/2, 4, 5/6, 9. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* [Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology], 2011, no. 4, pp. 40–46 (in Russian).
16. Egorova N. B., Kurbatova E. A., Akhmatova N. K., Gruber I. M. Polycationic vaccine immunovac-VP-4 and immunotherapeutic concept of its use for the prevention and treatment of diseases caused by opportunistic microorganisms. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* [Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology], 2019, no. 1, pp. 43–49 (in Russian).
17. Semenov B. F., Egorova N. B., Semenova I. B., Kurbatova E. A. Therapeutic vaccines. *Rossiiskie meditsinskie vesti* [Russian medical news], 2000, vol. 5, no. 3, pp. 26–32 (in Russian).

18. Egorova N. B., Kurbatova E. A. An immunotherapeutic concept of microbial antigen application in atopy and disorders associated with facultative microflora, as exemplified by a polycomponent Immunovac VP4 vaccine. *Meditsinskaya immunologiya* [Medical immunology], 2008, vol. 10, no. 1, pp. 13–20 (in Russian).
19. Giovannini M., Salvini F., Riva E. Bacterial extracts as immunomodulators for the prevention of recurrent respiratory infections in children. *Journal of Medical Microbiology and Diagnosis*, 2014, vol. 3, no. 2, art. 1000136. <https://doi.org/10.4172/2161-0703.1000136>
20. Shi J.-H., Li T.-S., Lin Y.-G. The evolvement of Th1/Th2 imbalance accommodates to the progress of airway inflammation in asthmatic subjects and rat model. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2004, vol. 84, no. 17, pp. 1440–1444 (in Chinese).
21. Kostinov M. P., Polishchuk V. B. About the prevention of pneumococcal infections in people liable to recruitment for military service. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie* [Infectious diseases: news, opinions, training], 2017, no. 6 (23), pp. 37–41 (in Russian).
22. Esposito S., Marchisio P., Prada E., Daleno C., Porretti L., Carsetti R., Bosco A., Ierardi V., Scala A., Principi N. Impact of a mixed bacterial lysate (OM-85 BV) on the immunogenicity, safety and tolerability of inactivated influenza vaccine in children with recurrent respiratory tract infection. *Vaccine*, 2014, vol. 32, no. 22, pp. 2546–2552. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.03.055>
23. Kostinov M. P., Lavrov V. F. *New generation vaccines in the prevention of infectious diseases. 2nd ed.* Moscow, Gruppya MDV Publ., 2010. 192 p. (in Russian).
24. Kostinov M. P., Svitich O. A., Markelova E. V. *Potential immunoprophylaxis of COVID-19 in high-risk groups: A temporary guide for physicians.* Moscow, Gruppya MDV Publ., 2020. 64 p. (in Russian).
25. Kostinov M. P., Polishchuk V. B., Svitich O. A., Ryzhov A. A., Kostinov A. M., Tarasova A. A. [et al.]. *COVID-19 vaccine prophylaxis in patients with comorbid diseases.* Moscow, Gruppya MDV Publ., 2022. 176 p. (in Russian).
26. Abramova N. D., Akhmatova N. K., Bisheva I. V., Vinnitskaya A. B., Gainitdinova V. V., Kostinov M. P. [et al.]. *Mucosal immunity in patients with COVID-19: treatment and rehabilitation.* Moscow, Gruppya MDV Publ., 2022. 128 p. (in Russian).
27. Kostinov M., Svitich O., Chuchalin A., Abramova N., Osipov V., Khromova E. [et al.]. Changes in nasal, pharyngeal and salivary secretory IgA levels in patients with COVID-19 and the possibility of correction of their secretion using combined intranasal and oral administration of a pharmaceutical containing antigens of opportunistic microorganisms. *Drugs Contexts*, 2023, vol. 12, art. 2022-10-4. <https://doi.org/10.7573/dic.2022-10-4>
28. Kostinov M., Svitich O., Chuchalin A., Osipov V., Khromova E., Abramova N. [et al.]. Secretory IgA and course of COVID-19 in patients receiving a bacteria-based immunostimulant agent in addition to background therapy. *Journal of Clinical and Cellular Immunology*, 2023, vol. 14, no. 2, p. 682. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-61341-7>
29. Kostinov M. P., Tatevosov V. R., Protasov A. D., Gainitdinova V. V., Sizov A. V. Vaccination against *Staphylococcus aureus* and some Enterobacteriaceae in the complex treatment of mild community-acquired pneumonia in conscript servicemen. *Meditsinskii vestnik MVD* [MIA medical bulletin], 2021, no. 6 (115), pp. 23–29 (in Russian).
30. Kryukova N. O., Rakunova E. B., Kostinov M. P., Baranova I. A., Svitich O. A. Secretory immunoglobulin a of the respiratory system and COVID-19. *Pul'monologiya* [Pulmonology], 2021, vol. 31, no. 6, pp. 792–798 (in Russian).
31. Kryukova N. O., Abramova N. D., Khromova E. A., Khasanova A. A., Bisheva I. V., Skhodova S. A., Kostinov M. P., Baranova I. A., Svitich O. A., Chuchalin A. G. Bacterial ligands in the rehabilitation of healthcare workers after COVID-19. *Pul'monologiya* [Pulmonology], 2022, vol. 32, no. 5, pp. 716–727 (in Russian).
32. Kryukova N., Baranova I., Abramova N., Khromova E., Pachomov D., Svitich O., Chuchalin A., Kostinov M. Mucosal immunity in health care workers' respiratory tracts in the post-COVID-19 period. *Scientific Reports*, 2023, vol. 1, no. 1, art. 7162. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32670-w>
33. Kryukova N. O., Kostinov M. P., Baranova I. A., Svitich O. A., Chuchalin A. G. Phagocytic activity of leukocytes of respiratory mucosa and blood in the post-COVID-19 period. *Meditsinskii vestnik MVD* [MIA medical bulletin], 2023, no. 4 (124), pp. 68–73 (in Russian).
34. Kryukova N. O., Khasanova A. A., Baranova I. A., Kostinov M. P., Svitich O. A., Chuchalin A. G. Mucosal humoral immune response of respiratory tract in medical workers during the post-COVID-19 period. *Rossiiskii immunologicheskii zhurnal* [Russian journal of immunology], 2023, vol. 26, no. 4, pp. 633–640 (in Russian).
35. Kostinov M. P. *Domestic immunotropic agents in the prevention, therapy and rehabilitation of patients with COVID-19.* Moscow, Gruppya MDV Publ., 2024. 172 p. (in Russian).

Информация об авторах

Костинов Михаил Петрович – член-корреспондент РАН, д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией Научно-исследовательского института вакцин и сывороток имени И. И. Мечникова (Малый Казенный переулок, 5А, 105064, г. Москва, Российская Федерация); заведующий кафедрой Первого Московского государственного медицинского университета имени И. М. Сеченова (ул. Трубецкая, 8, 119048, г. Москва, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0002-1382-9403>. E-mail: monolit.96@mail.ru

Information about the authors

Mikhail P. Kostinov – RAS Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of the I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera (5A, Maly Kazenny Pereulok, 105064, Moscow, Russian Federation); Head of the Department of the I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (8, Trubetskaya Str., 119048, Moscow, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-1382-9403>. E-mail: monolit.96@mail.ru

Зверев Виталий Васильевич – академик РАН, д-р биол. наук, профессор, научный руководитель Научно-исследовательского института вакцин и сывороток имени И. И. Мечникова (Малый Казенный переулок, 5А, 105064, г. Москва, Российская Федерация); заведующий кафедрой Первого Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова (ул. Трубецкая, 8, 119048, г. Москва, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0001-5808-2246>. E-mail: vitalyzverev@outlook.com

Татевозов Виталий Рантикович – полковник мед. службы, начальник отделения. Главный военный клинический госпиталь войск национальной гвардии Российской Федерации (Вишняковское шоссе, 101, 143914, г. Балашиха, Московская обл., Российская Федерация). E-mail: vitalic-tatevosov@mail.ru

Гайнитдинова Виля Вилевна – д-р мед. наук, профессор. Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (ул. Трубецкая, 8, 119048, г. Москва, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0001-9928-926X>. E-mail: gaynitdinova_v_v@staff.sechenov.ru

Полищук Валентина Борисовна – канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник. Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И. И. Мечникова (Малый Казенный переулок, 5А, 105064, г. Москва, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0003-0533-0909>. E-mail: polishhook@mail.ru

Осицов Валерий Николаевич – подполковник мед. службы, начальник отделения. Главный военный клинический госпиталь войск национальной гвардии Российской Федерации (Вишняковское шоссе, 101, 143914, г. Балашиха, Московская обл., Российская Федерация). E-mail: valeraosiptsov2@gmail.com

Губань Виктор Иванович – полковник мед. службы, начальник Главного военного клинического госпиталя войск национальной гвардии Российской Федерации (Вишняковское шоссе, 101, 143914, г. Балашиха, Московская обл., Российская Федерация).

Ястребова Наталья Евгеньевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И. И. Мечникова (Малый Казенный переулок, 5А, 105064, г. Москва, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0002-6911-1345>. E-mail: yastreb03@rambler.ru

Курбатова Екатерина Алексеевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий лабораторией. Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И. И. Мечникова (Малый Казенный переулок, 5А, 105064, г. Москва, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0002-0282-4471>. E-mail: kurbatova6162@yandex.ru

Маркелова Елена Владимировна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Тихоокеанский государственный медицинский университет (пр. Острякова, 2, 690002, г. Владивосток, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0001-5846-851X>. E-mail: markev2010@mail.ru

Шубин Игорь Владимирович – д-р мед. наук, профессор. Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова (ул. Островитянова, 1, 117997, г. Москва, Российская Федерация). <https://orcid.org/0000-0003-2393-4685>. E-mail: shubin-igor@mail.ru

Vitaly V. Zverev – RAS Academician, D. Sc. (Biol.), Professor, Scientific Adviser of the I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera (5A, Maly Kazenny Pereulok, 105064, Moscow, Russian Federation); Head of the Department of the I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (8, Trubetskaya Str., 119048, Moscow, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0001-5808-2246>. E-mail: vitalyzverev@outlook.com

Vitaly R. Tatevosov – Colonel of the Medical Service, Head of the Department. Main Military Clinical Hospital of the National Guard Troops of the Russian Federation (101, Vishnyakovskoe shosse, 143914, Balashikha, Moscow region, Russian Federation). E-mail: vitalic-tatevosov@mail.ru

Viliya V. Gainitdinova – D. Sc. (Med.), Professor. I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (8, Trubetskaya Str., 119048, Moscow, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0001-9928-926X>. E-mail: gaynitdinova_v_v@staff.sechenov.ru

Valentina B. Polishchuk – Ph. D. (Med.), Leading Researcher. I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera (5A, Maly Kazenny Pereulok, 105064, Moscow, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0003-0533-0909>. E-mail: polishhook@mail.ru

Valery N. Osiptsov – Lieutenant Colonel of the Medical Service, Head of the Department. Main Military Clinical Hospital of the National Guard Troops of the Russian Federation (101, Vishnyakovskoe shosse, 143914, Balashikha, Moscow region, Russian Federation). E-mail: valeraosiptsov2@gmail.com

Victor I. Guban' – Colonel of the Medical Service, Head of The Main Military Clinical Hospital of the National Guard Troops of the Russian Federation (101, Vishnyakovskoe shosse, 143914, Balashikha, Moscow region, Russian Federation).

Natalia E. Yastrebova – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory. I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera (5A, Maly Kazenny Pereulok, 105064, Moscow, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-6911-1345>. E-mail: yastreb03@rambler.ru

Ekaterina A. Kurbatova – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory. I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera (5A, Maly Kazenny Pereulok, 105064, Moscow, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0002-0282-4471>. E-mail: kurbatova6162@yandex.ru

Elena V. Markelova – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Pacific State Medical University (2, Ost-ryakov Ave., 690002, Vladivostok, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0001-5846-851X>. E-mail: markev2010@mail.ru

Igor V. Shubin – D. Sc. (Med.), Professor. Pirogov Russian National Research Medical University (1, Ostrovityanov Str., 117997, Moscow, Russian Federation). <https://orcid.org/0000-0003-2393-4685>. E-mail: shubin-igor@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.419-018.46:602.9

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-57-64>

Поступила в редакцию 16.04.2024

Received 16.04.2024

А. А. Жерносеченко, Я. И. Исайкина

*Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии,
д. Боровляны, Минский р-н, Республика Беларусь*

ЭФФЕКТ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПОЛУЧЕНИЕ ПРЕДДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ В ХОНДРОГЕННОМ НАПРАВЛЕНИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ/СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Аннотация. Мезенхимальные стволовые/стромальные клетки (МСК) обладают уникальными функциональными свойствами, в частности способностью дифференцироваться в хондрогенном направлении. Благодаря этому данная популяция клеток широко востребована при репарации хрящевой ткани. Различные комбинации ростовых факторов не только способствуют экспрессии генов-маркеров гиалинового хряща, но и индуцируют маркеры, ассоциированные с гипертрофией. Есть данные, что аскорбиновая кислота может стимулировать хондрогенную дифференцировку МСК за счет увеличения транскрипции генов коллагенов *Col2*. В связи с этим изучено влияние аскорбиновой кислоты при ее добавлении в дифференцировочную среду к ранее разработанному коктейлю цитокинов с целью получения гиалиноподобного матрикса. Ввиду спорного времени индукции процесса хондрогенеза в МСК сделано предположение о возможности сокращения срока индукции хондрогенной преддифференцировки МСК.

На основе проведенных исследований подтверждено положительное влияние аскорбиновой кислоты на экспрессию гена *Col2*, что свидетельствует об образовании гиалиноподобной хрящевой ткани при хондрогенной дифференцировке МСК. Анализ экспрессии генов-маркеров хондрогенной дифференцировки МСК и синтеза компонентов внеклеточного матрикса на 4-е и 7-е сутки показал возможность сокращения срока преддифференцировки до 4 сут.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые/стромальные клетки, хондрогенная дифференцировка, аскорбиновая кислота

Для цитирования: Жерносеченко, А. А. Эффект аскорбиновой кислоты на получение преддифференцированных в хондрогенном направлении мезенхимальных стволовых/стромальных клеток / А. А. Жерносеченко, Я. И. Исайкина // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2025. – Т. 22, № 1. – С. 57–64. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-57-64>

Hanna A. Zhernasechanka, Yanina I. Isaikina

*Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, v. Borovliany,
Minsk Region, Republic of Belarus*

EFFECT OF ASCORBIC ACID ON OBTAINING CHONDROGENIC PRE-DIFFERENTIATED MESENCHYMAL STEM/STROMAL CELLS

Abstract. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs) have unique functional properties, one of which is the chondrogenic differentiation. This population of cells is being used in clinical practice for repairing cartilage tissue. Various combinations of growth factors promote the expression of markers of hyaline cartilage, but also induce hypertrophy's markers. There is evidence that ascorbic acid can promote chondrogenic differentiation of MSCs by increasing the transcription of *Col2*, so we have studied when adding ascorbic acid to the differentiation medium to the previously developed cytokine cocktail in order to obtain a hyaline-like matrix. There is a different time of induction of chondrogenesis in MSCs, so we assumed to reduce the induction period of chondrogenic pre-differentiation of MSCs. Based on our studies we confirmed a positive effect of ascorbic acid on the expression of *Col2*, which indicates the possibility of obtaining strong and stable chondrogenic differentiation of MSCs. The analysis of the expression of genes-markers of chondrogenic differentiation of MSCs and the synthesis of extracellular matrix components on the 4th and 7th days showed a possibility of reducing the pre-differentiation period to 4 days.

Keywords: mesenchymal stem/stromal cells, chondrogenic differentiation, ascorbic acid

For citation: Zhernasechanka H. A., Isaikina Ya. I. Effect of ascorbic acid on obtaining chondrogenic pre-differentiated mesenchymal stem/stromal cells. *Vesti Natsyyanal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya medytsynskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2025, vol. 22, no. 1, pp. 57–64 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-57-64>

Введение. А. J. Friedenstein с соавт. [1] были первыми исследователями, которые описали популяцию выделенных из костного мозга веретенообразных, колониеобразующих, способных адгезировать к пластику фибробластов. Позднее благодаря А. I. Caplan [2] эти клетки получили название «мезенхимальные стволовые клетки» (МСК). В настоящее время источником получения данной популяции клеток являются костный мозг, жировая ткань, плацента, пуповинная кровь, пульпа зуба, кожа и подкожная клетчатка, слюнные железы, печень, легкое, менструальная кровь, периферическая кровь, обонятельная выстилка и т. д. [3–7].

В 2006 г. Международное общество клеточной терапии (ISCT, англ. *International Society for Cellular Therapy*) предложило обязательные критерии для подтверждения принадлежности клеток к МСК: наличие адгезивных свойств; экспрессия поверхностных молекул CD105, CD73 и CD90 и отсутствие экспрессии CD45, CD34, CD14 или CD11b, CD79 α или CD19 и HLA-DR; способность к дифференцировке в остеогенном, адипогенном и хондрогенном направлениях *in vitro* [8].

Благодаря своим уникальным функциональным свойствам (мультипотентности, высокой пролиферативной активности, гипои иммуногенности, трофической способности, иммуномодулирующей активности) МСК находят широкое клиническое применение в иммуносупрессивной и противовоспалительной терапии, поддержке гемопоэза, репарации органов и тканей и др. [9].

Научный интерес вызывают исследования по изучению различных условий направленной хондрогенной дифференцировки МСК. Исследователи экспериментально подбирают и анализируют эффективность различных факторов и их комбинаций в качестве хондроиндукторов [10], оценивают продолжительность воздействия ростовых факторов с целью включения их в программы хондрогенной дифференцировки в МСК [11].

Время индукции процесса хондрогенеза в МСК спорно. Есть данные, что это происходит на 2–5-е [11], 8-е [12] или 10-е [13] сутки от начала культивирования в присутствии ростовых факторов. Согласно Т. Branly с соавт., время дифференцировки МСК с 14-х по 28-е сутки является уже периодом синтеза компонентов внеклеточного матрикса [14].

Одной из сложностей *in vitro* хондрогенной дифференцировки МСК является получение гипертрофированных хондроцитоподобных клеток, которые впоследствии могут подвергаться апоптозу и кальцификации [15, 16].

Анализируя различные комбинации 5 ростовых факторов – TGF β (англ. *transforming growth factor beta*), BMP (англ. *bone morphogenetic protein*), дексаметазона, IGF (англ. *insulin-like growth factor*), FGF (англ. *fibroblast growth factor*), – R. B. Jakobsen с соавт. отметили, что, несмотря на то что все факторы способствуют экспрессии генов-маркеров гиалинового хряща (*Agg* (кодирует агрекан), *Col2* (кодирует коллаген II типа), *Col11* (кодирует коллаген XI типа), *COMP* (англ. *cartilage oligomeric matrix protein*, кодирует одноименный белок), представленные факторы также индуцировали ассоциированные с гипертрофией маркеры – *Col10* (кодирует коллаген X типа), *RUNX2* (англ. *runt-related transcription factor 2*, кодирует одноименный белок) [10].

На сегодняшний день нет однозначного ответа на вопрос, почему в процессе хондрогенной дифференцировки МСК параллельно происходит экспрессия *Col2* и *Col10*. Есть мнение, что это обусловлено особенностями метилирования гена *Col10* в МСК [17]. Согласно другой точке зрения, это следствие изменения пространственно-временного влияния Sox9 (англ. *SRY-Box transcription factor 9*) на экспрессию генов *Col10*, который присутствует *in vivo*, но отсутствует *in vitro*. Поэтому в результате *in vitro* дифференцировки МСК экспрессируют *Col2* и *Col10* одновременно [18].

Аскорбиновая кислота (витамин С) может способствовать хондрогенной дифференцировке МСК за счет увеличения транскрипции генов коллагенов и стимулирования выработки внеклеточного матрикса (коллагена II типа и агрекана), а также за счет ингибирования пролиферации фибробластов (что косвенно поддерживает образование гиалинового хряща) и подавления апоптоза МСК. Считается, что после трансплантации в дефекты хряща более 50 % трансплантированных клеток подвергаются апоптозу [19]. К негативному эффекту применения аскорбиновой кислоты можно отнести то, что она способствует активации остеобласт-специфических генов, таких как *Coll* [20].

Цель исследования – изучить влияние аскорбиновой кислоты и возможность сокращения срока индукции хондрогенной преддифференцировки мезенхимальных стволовых/стромальных

клеток для усовершенствования метода получения *in vitro* хондрогенно предифференцированных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга.

Материалы и методы исследования. *Получение МСК из костного мозга доноров.* Для получения МСК моноклеарные клетки (МНК) выделяли из проб костного мозга на гистопакет плотностью 1,077 г/мл (Sigma-Aldrich, США), отмывали в 0,9%-м NaCl (ОАО «Несвижский завод медицинских препаратов», Беларусь), ресуспендировали в IMDM (Life technologies, США) с 10%-й эмбриональной телячьей сывороткой (Life technologies, США) и переносили в концентрации $(2-3) \cdot 10^6$ /мл во флакон с площадью поверхности 25 см² (Sarstedt, Германия). Клетки инкубировали при +37 °С и 5 % CO₂ (Nuairе, США), со сменой среды через каждые 3 дня. При получении 80–90%-го конфлюэнтного слоя МСК дезаггезировали 0,25%-м трипсином-ЭДТА (Sigma, США), отмывали в 0,9%-м NaCl и переносили во флаконы с площадью поверхности 75 см² в количестве $0,5 \cdot 10^6$ для экспансии. Таким образом проводили 2 или 3 пассажа.

Оценка жизнеспособности МСК. Для анализа жизнеспособности в центрифужную пробирку вносили 20 мкл суспензии клеток и 20 мкл 0,4%-го раствора трипанового синего, тщательно ресуспендировали содержимое пробирки. При помощи светового микроскопа визуально подсчитывали в камере Горяева окрашенные (мертвые) и неокрашенные (живые) клетки в количестве не менее 100. Рассчитывали коэффициент жизнеспособности клеток в процентах от общего подсчитанного числа клеток.

Иммунофенотипический анализ МСК. Окраску клеток моноклональными антителами CD105, CD90, CD73, CD34, CD14, меченными PE, и CD45, меченными FITC (Beckman Coulter), осуществляли по стандартной методике. Оценку неспецифического связывания моноклональных антител учитывали с использованием изотипического контроля. К образцу (100–200 тыс. клеток) добавляли 20 мкл специфических моноклональных антител и изотипического контроля и инкубировали в темноте при комнатной температуре 25–30 мин. После инкубации с антителами клетки дважды отмывали в фосфатном буфере, центрифугируя 5 мин при 300 g. Анализ проводили на проточном цитофлуориметре NAVIOS с использованием программы CellQuestPro (США). Для каждого образца анализировали не менее 10 тыс. клеток. Дополнительно регистрировали параметры прямого и бокового светорассеяния клеток.

Дифференцировка МСК в хондрогенном направлении в 2D-культуре. Использовали МСК 2-го или 3-го пассажей. Для получения монослойной 2D-культуры МСК культивировали в аналогичной среде DMEM, содержащей 1 % антибиотика (Life technologies, США), 10 нг/мл TGFβ3 (Life technologies, США), 100 нг/мл IGF (Life technologies, США), 100 нмоль дексаметазона (Sigma-Aldrich, США) и 50 мкг/мл L-аскорбиновой кислоты (Sigma-Aldrich, США), в течение 7 сут. Смену среды проводили на 3–4-е сутки.

Метод иммунофлуоресцентного окрашивания. Метод использовали для изучения накопления белков внеклеточного матрикса. Материалом являлись культуры клеток на 4-е и 7-е сутки культивирования. Для проведения исследования образцов проводили пермеабиллизацию клеток 0,1%-м Triton X-100. Затем готовые к окрашиванию образцы 2 ч инкубировали при +4 °С с раствором первичных антител: анти-Aggrecan (1 : 100) и анти-COL2A1 (1 : 50) (Life technologies, США). Добавляли раствор вторичных антител: меченных Nothern Lihgt 637 (1 : 100) и AlexaFluor 488 (1 : 400) (Life technologies, США). Через 1 ч образцы отмывали, добавляли пропидиум йодид для окрашивания клеточных ядер и анализировали с помощью конфокального сканирующего лазерного микроскопа Leica (Leica Microsystems GmbH, Германия).

Метод количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени. Методом количественной ПЦР в реальном времени определяли экспрессию генов *Col2*, *Coll*, *Coll10*, *Sox9*, *Agg*, *Coll1*, *COMP*, *Ver* в образцах МСК. Методом обратной транскрипции проводили синтез комплементарных цепочек ДНК, используя в качестве матрицы выделенную РНК, для чего 1 мкг РНК в концентрации 0,1 мкг/мкл воды денатурировали в течение 10 мин при 70 °С. Затем аликвоту РНК, охлажденную на льду, вносили в смесь для обратной транскрипции (4 мкл 5-кратного буфера для обратной транскриптазы (Promega, США), 2 мкл 10 ммоль смеси дезнуклеотидтрифосфатов, 1 мкл 50 ммоль случайных праймеров (рэндом гексамеров) (Invitrogen, США), 0,5 мкл ингибитора рибонуклеаз в концентрации 40 Ед/мкл, 1 мкл 200 Ед/мкл обратной транскриптазы

MMLV (Promega, США) и 1,5 мкл воды и инкубировали, используя следующую программу: 20 °С – 10 мин, 42 °С – 45 мин, 99 °С – 3 мин. Разводили кДНК водой до конечного объема 50 мкл. В работе использовали праймеры к исследуемым генам. С помощью онлайн-программ Primer3Plus® (<https://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>) и PrimerBlast® (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) осуществляли дизайн праймеров таким образом, чтобы они отжигались в наиболее консервативных участках при температуре 60 °С. В качестве контрольного использовали ген *ABL*, при этом значение экспрессии генов рассчитывали как отношение экспрессии интересующих генов по отношению к контрольному. В качестве флуоресцентного красителя использовали SYBR Green. Реакционную смесь готовили с помощью набора QuantiTect SYBR Green PCR Kits (QIAGEN, США). ПЦР проводили как однокомпонентную реакцию (в каждой пробирке праймеры к одной мишени). Условия проведения реакции были следующими: 50 °С – 2 мин, 95 °С – 15 мин, 94 °С – 15 с, 60 °С – 30 с, 72 °С – 30 с. Анализ специфичности амплификации проверяли по кривым плавления.

Методы статистической обработки данных. Статистическую обработку данных проводили с помощью программного обеспечения Statistica 7.0 (StatSoft, США), Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, США). Значения показателей представлены в виде медианы (Me), интерквартильный размах – в виде 25-го и 75-го перцентилей. Для анализа данных использовали непараметрический Wilcoxon Matched Pairs Test. При уровне значимости $p < 0,05$ различия показателей считали достоверными.

Результаты и их обсуждение. Ранее нами был разработан *in vitro* метод получения биомедицинского клеточного продукта на основе преддифференцированных МСК костного мозга, который включал в себя применение комплекса ростовых факторов TGFβ3/IGF в условиях монослойной культуры в течение 7 сут [21].

С целью усовершенствования полученного ранее метода нами изучено влияние аскорбиновой кислоты при ее добавлении в культуральную среду и сокращение срока дифференцировки на хондрогенную преддифференцировку МСК.

С этой целью получены культуры МСК костного мозга от здоровых доноров ($n = 12$). Полученная популяция клеток имела характерный иммунофенотип (более 90 % клеток экспрессировали антигены CD90, CD105, CD73, менее 2 % – CD14) и обладала жизнеспособностью 96,5 (95,0; 98,0) %.

Для оценки влияния аскорбиновой кислоты на хондрогенную преддифференцировку МСК проведен сравнительный анализ экспрессии генов-маркеров *Col2*, *Coll*, *Coll10*, *Sox9*, *Coll1* в клетках, которые были культивированы в хондрогенной среде в присутствии и в отсутствие аскорбиновой кислоты (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Экспрессия генов в МСК после культивирования в присутствии и в отсутствие аскорбиновой кислоты *in vitro*

Table 1. Gene expression in MSC after culture in the presence and in the absence of ascorbic acid *in vitro*

Ген-маркер	Относительный уровень экспрессии, Me (25 %; 75 %)		<i>p</i>
	при культивировании с аскорбиновой кислотой	при культивировании без аскорбиновой кислоты	
<i>Col2</i>	0,002 (0,002; 0,007)	0,001 (0,001; 0,002)	0,03*
<i>Coll</i>	39,56 (11,43; 187,39)	32,90 (20,39; 187,40)	0,86
<i>Coll10</i>	0,02 (0,003; 0,148)	0,001 (0,0004; 0,025)	0,06
<i>Sox9</i>	0,69 (0,31; 0,95)	0,60 (0,24; 0,85)	0,87
<i>Coll1</i>	0,049 (0,02; 0,33)	0,037 (0,01; 0,09)	0,67

Пр и м е ч а н и е. * – достоверность различий ($p < 0,05$).

Согласно полученным данным, в культурах клеток в присутствии аскорбиновой кислоты отмечена более высокая экспрессия *Col2*, но не выявлено статистически значимых различий между относительными уровнями экспрессии *Coll*, *Coll10*, *Sox9*, *Coll1*.

В нативной хрящевой ткани содержание коллагена II типа составляет приблизительно 95 %, а его синтез является доказательством формирования гиалинового хряща [22] и стабильности полученной ткани. Считается, что основным недостатком при создании биоинженерного хряща является низкое количество коллагенов, поэтому более значимую положительную экспрессию *Col2* в культурах МСК с добавлением аскорбиновой кислоты можно рассматривать как наиболее предпочтительное сочетание ростовых факторов для получения стабильной популяции хондро-бластподобных клеток.

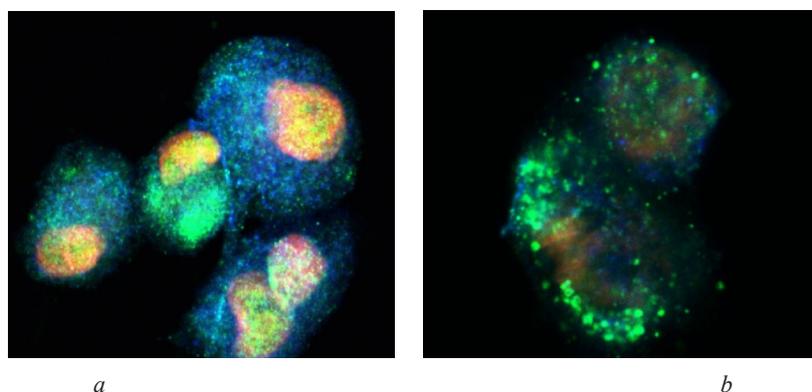
F. Langenbach с соавт. показали, что аскорбиновая кислота значительно увеличивает экспрессию *Coll* при остеогенной дифференцировке [20], но при добавлении аскорбиновой кислоты к коктейлю ростовых факторов при хондрогенной дифференцировке данный эффект нами не отмечен. Коллаген I типа способствует образованию фиброзного хряща, который не способен противостоять естественным нагрузкам. Физиологическая нагрузка на сустав сохраняет хондроцитарный фенотип, а смещение или растяжение могут стимулировать оссификацию.

Так как имеются данные о том, что хондрогенная преддифференцировка МСК может начаться уже на 2–5-е сутки, было выдвинуто предположение, что срок культивирования МСК в хондрогенной среде в разработанном ранее методе получения преддифференцированных МСК можно сократить до 4 сут. Поэтому был проведен сравнительный анализ экспрессии генов-маркеров *Col2*, *Coll*, *Coll10*, *Sox9*, *Agg*, *Coll1*, *COMP*, *Ver* на 4-е и 7-е сутки хондрогенной дифференцировки МСК. Проанализированы маркеры ранней хондрогенной дифференцировки *Col2*, *Coll1* и *Sox9*, маркер волокнистого хряща *Coll*, маркер гипертрофии *Coll10*. При анализе экспрессии генов-маркеров хондрогенеза на 4-е и 7-е сутки не выявлено статистически значимых различий ни в одном из исследованных генов (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Экспрессия генов в МСК на 4-е и 7-е сутки хондрогенной дифференцировки *in vitro*

Table 2. Gene expression in MSC on the 4th and 7th day of chondrogenic differentiation *in vitro*

Ген-маркер	Относительный уровень экспрессии, Ме (25 %; 75 %)		<i>p</i>
	на 4-е сутки	на 7-е сутки	
<i>Col2</i>	0,01 (0,001; 0,36)	0,003 (0,0004; 0,84)	0,98
<i>Coll</i>	451,9 (263,2; 962,1)	187,4 (1,42; 903,89)	0,30
<i>Coll10</i>	0,06 (0,001; 0,93)	0,002 (0,001; 0,02)	0,25
<i>Sox9</i>	0,56 (0,279; 0,90)	0,39 (0,20; 0,63)	0,28
<i>Agg</i>	0,67 (0,51; 1,58)	1,14 (0,38; 1,89)	0,96
<i>Coll1</i>	0,28 (0,03; 0,81)	0,10 (0,02; 0,38)	0,13
<i>COMP</i>	19,74 (4,85; 25,28)	5,58 (0,28; 25,81)	0,27
<i>Ver</i>	11,32 (5,1; 16,4)	9,00 (0,11; 17,03)	0,44



Иммунофлуоресцентное окрашивание (зеленый – коллаген II, синий – агрекан, красный – ядра клеток) компонентов внеклеточного матрикса при хондрогенной преддифференцировке МСК на 4-е (a) и 7-е (b) сутки *in vitro*. ×400

Immunofluorescent staining (green – collagen II, blue – aggrecan, red – cell nuclei) of extracellular matrix components during chondrogenic MSCs predifferentiation on 4th (a) and 7th (b) days *in vitro*. ×400

Изучено также накопление компонентов внеклеточного матрикса – агрекан и коллагена $\text{I}\alpha\text{1}$ типа.

Структуру суставного хряща можно разделить на две основные составляющие – хондроциты (около 1 %) и внеклеточный матрикс. Внеклеточный матрикс, в свою очередь, также можно разделить – на коллагеновые волокна, которые переплетены в трехмерную сеть, и основное вещество, состоящее из протеогликанов и воды. Основной задачей волокнистой сети является удержание других молекул посредством механических и электростатических связей. Протеогликаны в суставном хряще представлены в форме больших агрегатов, основу которых составляет связанный с гиалуроновой кислотой агрекан, обладающий способностью образовывать нерастворимую при физиологических условиях конструкцию [23].

Результаты исследования накопления белков на различных стадиях хондрогенной дифференцировки МСК методом иммунофлуоресцентного окрашивания с последующим анализом на конфокальном сканирующем лазерном микроскопе показали, что во всех образцах клетки активно синтезируют коллаген $\text{I}\alpha\text{1}$ типа и агрекан на 4-е и 7-е сутки преддифференцировки (рисунок), в отличие от исходной культуры на 0-е сутки (данные не представлены). При этом внутриклеточная локализация белков отмечалась без секреции данных компонентов внеклеточного матрикса (коллагена $\text{I}\alpha\text{1}$ типа и агрекана) во внеклеточное пространство.

Отсутствие достоверных различий в экспрессии основных генов-маркеров на 4-е и 7-е сутки, а также наличие синтеза компонентов внеклеточного матрикса на 4-е и 7-е сутки направленной хондрогенной преддифференцировки МСК позволяет сократить время культивирования в хондрогенной среде до 4 сут.

Заключение. Результаты исследования по изучению влияния аскорбиновой кислоты на хондрогенную преддифференцировку МСК показали положительное влияние аскорбиновой кислоты на экспрессию *Col2*, что подтверждает возможность получения гиалиноподобной ткани.

Анализ экспрессии генов-маркеров хондрогенной дифференцировки МСК и синтеза компонентов внеклеточного матрикса на 4-е и 7-е сутки показал возможность сокращения срока дифференцировки до 4 сут.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Научное исследование проведено при поддержке гранта Президента Республики Беларусь.

Acknowledgements. The research was carried out with the support of a grant from the President of the Republic of Belarus.

Список использованных источников

1. Friedenstein, A. J. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells / A. J. Friedenstein, R. K. Chailakhjan, K. S. Lalykina // Cell and Tissue Kinetics. – 1970. – Vol. 3, N 4. – P. 393–403. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.1970.tb00347.x>
2. Caplan, A. I. Mesenchymal stem cells / A. I. Caplan // Journal of Orthopaedic Research. – 1991. – Vol. 9, N 5. – P. 641–650. <https://doi.org/10.1002/jor.1100090504>
3. Mesenchymal stem/stromal cell-based therapy: mechanism, systemic safety and biodistribution for precision clinical applications / W.-Z. Zhuang, Y.-H. Lin, L.-J. Su [et al.] // Journal of Biomedical Science. – 2021. – Vol. 28, N 1. – Art. 28. <https://doi.org/10.1186/s12929-021-00725-7>
4. Роль мезенхимальных стволовых клеток в поддержании жизнеспособности и функциональной активности культуры гепатоцитов *in vitro* / А. А. Коритко, С. И. Кривенко, А. Е. Щерба [и др.] // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2017. – № 1. – С. 7–14.
5. Оптимизация протоколов дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток в клетки костной и хрящевой ткани для использования в клинической практике: отчет о НИР / С. М. Космачева, Д. Л. Дубовик, С. И. Игнатенко [и др.]; Респ. науч.-практ. центр трансфизиологии и мед. биотехнологий; рук.: Г. Я. Хулуп, И. Д. Волоотовский. – Минск, 2015. – URL: http://med.by/dmn/book.php?book=15-18_5 (дата обращения: 22.11.2024).
6. Терапия хронических стенозов трахеи гортани мезенхимальными стволовыми клетками: результаты двухлетнего наблюдения / Н. Г. Антонец, А. Е. Гончаров, В. Л. Чекан [и др.] // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2020. – Т. 17, № 4. – С. 417–426.
7. Extracellular matrix dynamics during mesenchymal stem cells differentiation / T. Assis-Ribas, M. F. Forni, S. M. B. Winischofer [et al.] // Developmental Biology. – 2018. – Vol. 437, N 2. – P. 63–74. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2018.03.002>
8. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement / M. Dominici, K. Le Blanc, I. Mueller [et al.] // Cytotherapy. – 2006. – Vol. 8, N 4. – P. 315–317. <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>

9. Isolation and characterization of human mesenchymal stromal cell subpopulations: Comparison of bone marrow and adipose tissue / H. Busser, M. Najar, G. Raicevic [et al.] // *Stem Cells and Development*. – 2015. – Vol. 24, N 18. – P. 2142–2157. <https://doi.org/10.1089/scd.2015.0172>
10. Analysis of the effects of five factors relevant to *in vitro* chondrogenesis of human mesenchymal stem cells using factorial design and high throughput mRNA-profiling / R. B. Jakobsen, E. Østrup, X. Zhang [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, N 5. – P. e96615. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096615>
11. Ruhl, T. Quantification of chondrogenic differentiation in monolayer cultures of mesenchymal stromal cells / T. Ruhl, J. P. Beier // *Analytical Biochemistry*. – 2019. – Vol. 582. – Art. 113356. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2019.113356>
12. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells from bone marrow: differentiation-dependent gene expression of matrix components / F. Barry, R. E. Boynton, B. Liu, J. M. Murphy // *Experimental Cell Research*. – 2001. – Vol. 268, N 2. – P. 189–200. <https://doi.org/10.1006/excr.2001.5278>
13. Chondrogenic predifferentiation of human mesenchymal stem cells in collagen type I hydrogels / F. Fensky, J. C. Reichert, A. Traube [et al.] // *Biomedical Engineering*. – 2014. – Vol. 59, N 5. – P. 375–383. <https://doi.org/10.1515/bmt-2013-0076>
14. Improvement of the chondrocyte-specific phenotype upon equine bone marrow mesenchymal stem cell differentiation: influence of culture time, transforming growth factors and type I collagen siRNAs on the differentiation index / T. Branly, R. Contentin, M. Desancé [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2018. – Vol. 19, N 2. – Art. 435. <https://doi.org/10.3390/ijms19020435>
15. The regulatory role of signaling crosstalk in hypertrophy of MSCs and human articular chondrocytes / L. Zhong, X. Huang, M. Karperien, J. N. Post // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2015. – Vol. 16, N 8. – P. 19225–19247. <https://doi.org/10.3390/ijms160819225>
16. TGF- β 3-induced chondrogenesis in co-cultures of chondrocytes and mesenchymal stem cells on biodegradable scaffolds / R. L. Dahlin, M. Ni, V. V. Meretoja [et al.] // *Biomaterials*. – 2014. – Vol. 35, N 1. – P. 123–132. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.09.086>
17. Correlation of COL10A1 induction during chondrogenesis of mesenchymal stem cells with demethylation of two CpG sites in the COL10A1 promoter / P. Zimmermann, S. Boeuf, A. Dickhut [et al.] // *Arthritis and Rheumatism*. – 2008. – Vol. 58, N 9. – P. 2743–2753. <https://doi.org/10.1002/art.23736>
18. Independent chondrogenic potential of canine bone marrow-derived mesenchymal stem cells in monolayer expansion cultures decreases in a passage-dependent pattern / E. C. Bwalya, H. S. Wijekoon, J. Fang [et al.] // *Journal of Veterinary Medical Science*. – 2018. – Vol. 80, N 11. – P. 1681–1687. <https://doi.org/10.1292/jvms.18-0202>
19. Ascorbic acid and iron supplement treatment improves stem cell-mediated cartilage regeneration in a minipig model / A. J. Theruvath, E. E. Mahmoud, W. Wu [et al.] // *American Journal of Sports Medicine*. – 2021. – Vol. 49, N 7. – P. 1861–1870. <https://doi.org/10.1177/03635465211005754>
20. Langenbach, F. Effects of dexamethasone, ascorbic acid and β -glycerophosphate on the osteogenic differentiation of stem cells *in vitro* / F. Langenbach, J. Handschel // *Stem Cell Research and Therapy*. – 2013. – Vol. 4, N 5. – Art. 117. <https://doi.org/10.1186/scrt328>
21. Жерносеченко, А. Влияние комбинации ростовых факторов TGF β и IGF на хондрогенный потенциал мезенхимальных стволовых клеток костного мозга / А. Жерносеченко, Я. Исайкина, Т. Филипович // *Наука и инновации*. – 2021. – № 2. – С. 78–83.
22. Mahmoudifar, N. Chondrogenesis and cartilage tissue engineering: the longer road to technology development / N. Mahmoudifar, P. M. Doran // *Trends in Biotechnology*. – 2012. – Vol. 30, N 3. – P. 166–176. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2011.09.002>
23. Articular cartilage: from formation to tissue engineering / S. Camarero-Espinosa [et al.] // *Biomaterials Science*. – 2016. – Vol. 4, N 5. – P. 734–767. <https://doi.org/10.1039/C6BM00068A>

References

1. Friedenstein A. J., Chailakhjan R. K., Lalykina K. S. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell and Tissue Kinetics*, 1970, vol. 3, no. 4, pp. 393–403. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.1970.tb00347.x>
2. Caplan A. I. Mesenchymal stem cells. *Journal of Orthopaedic Research*, 1991, vol. 9, no. 5, pp. 641–650. <https://doi.org/10.1002/jor.1100090504>
3. Zhuang W.-Z., Lin Y.-H., Su L.-J., Wu M.-S., Jeng H.-Y., Chang H.-C., Huang Y.-H., Ling T.-Y. Mesenchymal stem/stromal cell-based therapy: mechanism, systemic safety and biodistribution for precision clinical applications. *Journal of Biomedical Science*, 2021, vol. 28, no. 1, art. 28. <https://doi.org/10.1186/s12929-021-00725-7>
4. Koritko A. A., Krivenko S. I., Shcherba A. E., Primakova E. A., Gomon A. A., Petrovskaya E. G., Dedyulya N. I., Buzuk E. S. Role of mesenchymal stem cells in maintaining the viability and functional activity of hepatocyte culture *in vitro*. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Medical series*, 2017, no. 1, pp. 7–14 (in Russian).
5. Kosmacheva S. M., Dubovik D. L., Ignatenko S. I., Severin I. N., Kuvyrkov E. V., Khulup G. Ya. *Optimization of protocols for the differentiation of mesenchymal stem cells into cells of bone and cartilage tissue for use in clinical practice*. Available at: http://med.by/dmn/book?book=15-18_5 (accessed 22.11.2024) (in Russian).
6. Antonevich N. G., Goncharov A. E., Chekan V. L., Shulepova E. A., Rynda E. G. Therapy of chronic stenosis of laryngotracheal stenosis with the use of mesenchymal stem cells: two-year observation results. *Vestsi Natsyyanal'nai*

akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series, 2020, vol. 17, no. 4, pp. 417–426 (in Russian.)

7. Assis-Ribas T., Forni M. F., Winnischofer S. M. B., Sogayar M. C., Trombetta-Lima M. Extracellular matrix dynamics during mesenchymal stem cells differentiation. *Developmental Biology*, 2018, vol. 437, no. 2, pp. 63–74. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2018.03.002>

8. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop D., Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 2006, vol. 8, no. 4, pp. 315–317. <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>

9. Busser H., Najar M., Raicevic G., Pieters K., Velez Pombo R., Philippart P., Meuleman N., Bron D., Lagneaux L. Isolation and characterization of human mesenchymal stromal cell subpopulations: Comparison of bone marrow and adipose tissue. *Stem Cells and Development*, 2015, vol. 24, no. 18, pp. 2142–2157. <https://doi.org/10.1089/scd.2015.0172>

10. Jakobsen R. B., Østrup E., Zhang X., Mikkelsen T. S., Brinchmann J. E. Analysis of the effects of five factors relevant to *in vitro* chondrogenesis of human mesenchymal stem cells using factorial design and high throughput mRNA-profiling. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 5, p. e96615. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096615>

11. Ruhl T., Beier J. P. Quantification of chondrogenic differentiation in monolayer cultures of mesenchymal stromal cells. *Analytical Biochemistry*, 2019, vol. 582, art. 113356. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2019.113356>

12. Barry F., Boynton R. E., Liu B., Murphy J. M. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells from bone marrow: differentiation-dependent gene expression of matrix components. *Experimental Cell Research*, 2001, vol. 268, no. 2, pp. 189–200. <https://doi.org/10.1006/excr.2001.5278>

13. Fensky F., Reichert J. C., Traube A., Rackwitz L., Siebenlist S., Nöth U. Chondrogenic predifferentiation of human mesenchymal stem cells in collagen type I hydrogels. *Biomedizinische Technik. Biomedical Engineering*, 2014, vol. 59, no. 5, pp. 375–383. <https://doi.org/10.1515/bmt-2013-0076>

14. Branly T., Contentin R., Desancé M., Jacquet T., Bertoni L., Jacquet S. [et al.]. Improvement of the chondrocyte-specific phenotype upon equine bone marrow mesenchymal stem cell differentiation: Influence of culture time, transforming growth factors and type I collagen siRNAs on the differentiation index. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, vol. 19, no. 2, art. 435. <https://doi.org/10.3390/ijms19020435>

15. Zhong L., Huang X., Karperien M., Post J. N. The regulatory role of signaling crosstalk in hypertrophy of MSCs and human articular chondrocytes. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, vol. 16, no. 8, pp. 19225–19247. <https://doi.org/10.3390/ijms160819225>

16. Dahlin R. L., Ni M., Meretoja V. V., Kasper F. K., Mikos A. G. TGF- β -induced chondrogenesis in co-cultures of chondrocytes and mesenchymal stem cells on biodegradable scaffolds. *Biomaterials*, 2014, vol. 35, no. 1, pp. 123–132. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.09.086>

17. Zimmermann P., Boeuf S., Dickhut A., Boehmer S., Olek S., Richter W. Correlation of COL10A1 induction during chondrogenesis of mesenchymal stem cells with demethylation of two CpG sites in the COL10A1 promoter. *Arthritis and Rheumatism*, 2008, vol. 58, no. 9, pp. 2743–2753. <https://doi.org/10.1002/art.23736>

18. Bwalya E. C., Wijekoon H. S., Fang J., Kim S., Hosoya K., Okumura M. Independent chondrogenic potential of canine bone marrow-derived mesenchymal stem cells in monolayer expansion cultures decreases in a passage-dependent pattern. *Journal of Veterinary Medical Science*, 2018, vol. 80, no. 11, pp. 1681–1687. <https://doi.org/10.1292/jvms.18-0202>

19. Theruvath A. J., Mahmoud E. E., Wu W., Nejadnik H., Kiru L., Liang T., Felt S., Daldrup-Link H. E. Ascorbic acid and iron supplement treatment improves stem cell-mediated cartilage regeneration in a minipig model. *American Journal of Sports Medicine*, 2021, vol. 49, no. 7, pp. 1861–1870. <https://doi.org/10.1177/03635465211005754>

20. Langenbach F., Handschel J. Effects of dexamethasone, ascorbic acid and β -glycerophosphate on the osteogenic differentiation of stem cells *in vitro*. *Stem Cell Research and Therapy*, 2013, vol. 4, no. 5, art. 117. <https://doi.org/10.1186/scrt328>

21. Zhernosechenko A., Isaikina Ya., Filipovich T. Effect of a combination of TGF β and IGF growth factors on the chondrogenic potential of mesenchymal bone marrow stem cells. *Nauka i innovatsii* [Science and innovations], 2021, no. 2, pp. 78–83 (in Russian).

22. Mahmoudifar N., Doran P. M. Chondrogenesis and cartilage tissue engineering: the longer road to technology development. *Trends in Biotechnology*, 2012, vol. 30, no. 3, pp. 166–176. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2011.09.002>

23. Camarero-Espinosa S., Rothen-Rutishauser B., Fosterac E. J., Weder Ch. Articular cartilage: from formation to tissue engineering. *Biomaterials Science*, 2016, vol. 4, no. 5, pp. 734–767. <https://doi.org/10.1039/C6BM00068A>

Информация об авторах

Жерносеченко Анна Александровна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0009-0006-9593-7067>. E-mail: sapphire.anna@gmail.com

Исайкина Янина Ивановна – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии (ул. Фрунзенская, 43, 223053, Минский р-н, д. Боровляны, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0001-5196-8554>. E-mail: yaninai@mail.ru

Information about the authors

Hanna A. Zhernasechanka – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., v. Borovliany, 223053, Minsk Region, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0009-0006-9593-7067>. E-mail: sapphire.anna@gmail.com

Yanina I. Isaikina – Ph. D. (Biol.), Head of the Laboratory. Republican Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology (43, Frunzenskaya Str., v. Borovliany, 223053, Minsk Region, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0001-5196-8554>. E-mail: yaninai@mail.ru

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.39-039.41:575.174.015.3]-091

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-65-72>

Поступила в редакцию 21.12.2023

Received 21.12.2023

Т. Н. Гриневич, С. А. Ляликов, А. В. Шульга, М. О. Кот

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *MMP-2*, *MMP-9*, *TIMP-2* И ХАРАКТЕР ЭКСПРЕССИИ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ ТИПОВ 2 И 9 ПЛАЦЕНТЫ ЖЕНЩИН С ПРИВЫЧНЫМ НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

Аннотация. Изучены показатели экспрессии матриксных металлопротеиназ (*MMP*) типов 2 и 9 и полиморфизм генов *MMP-2*, *MMP-9* и их тканевого ингибитора (*TIMP-2*) в плацентарной ткани женщин с ранними репродуктивными потерями. Установлено, что у женщин с привычным невынашиванием беременности в первом триместре экспрессия *MMP-2* в препаратах плацентарной ткани существенно выше, чем у женщин с нормально протекающей беременностью. Выявлены ассоциации мутантного аллеля Т полиморфизма 735 С/Т гена *MMP-2* и мутантного аллеля С полиморфизма 418 G/C гена *TIMP-2* с высоким уровнем экспрессии *MMP-2*. Уровни экспрессии *MMP-9* в плаценте женщин с привычным выкидышем и с физиологическим течением беременности статистически значимо не различались.

Ключевые слова: матриксные металлопротеиназы, привычное невынашивание беременности, экспрессия, полиморфизм, плацента

Для цитирования: Полиморфизм генов *MMP-2*, *MMP-9*, *TIMP-2* и характер экспрессии матриксных металлопротеиназ типов 2 и 9 плаценты женщин с привычным невынашиванием беременности / Т. Н. Гриневич, С. А. Ляликов, А. В. Шульга, М. О. Кот // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2025. – Т. 22, № 1. – С. 65–72. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-65-72>

Tatyana N. Grinevich, Sergey A. Lyalikov, Andrey V. Shulga, Maksim O. Kot

Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

POLYMORPHISM OF THE *MMP-2*, *MMP-9*, *TIMP-2* GENES AND THE EXPRESSION PATTERN OF MATRIX METALLOPROTEINASES OF TYPES 2 AND 9 OF THE PLACENTA OF WOMEN WITH RECURRENT MISCARRIAGE

Abstract. Expression indices of matrix metalloproteinases (*MMPs*) of types 2 and 9 and polymorphism of *MMP-2*, *MMP-9* and their tissue inhibitor (*TIMP-2*) genes in placental tissue of women with early reproductive losses were determined. *MMP-2* expression in placental tissue preparations was found to be significantly higher among women with recurrent miscarriage in the first trimester pregnancy than in women with normal pregnancy. Associations of the mutant T allele of the 735 C/T polymorphism of the *MMP-2* gene and the mutant C allele of the 418 G/C polymorphism of the *TIMP-2* gene with a high level of matrix *MMP-2* expression were found. The level of *MMP-9* expression in the placenta of women with recurrent miscarriage and with physiological pregnancy was not statistically significantly different.

Keywords: matrix metalloproteinases, recurrent miscarriage, expression, polymorphism, placenta

For citation: Grinevich T. N., Lyalikov S. A., Shulga A. V., Kot M. O. Polymorphism of the *MMP-2*, *MMP-9*, *TIMP-2* genes and the expression pattern of matrix metalloproteinases types 2 and 9 of the placenta of women with recurrent miscarriage. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2025, vol. 22, no. 1, pp. 65–72 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-65-72>

Введение. На сегодняшний день доказано, что молекулы матриксных металлопротеиназ (*MMP*) и их тканевые ингибиторы (*TIMP*) играют критическую роль в обеспечении нормального функционирования плаценты. Во время беременности в процессе формирования плаценты происходит пролиферация клеток и перестройка в локальной сосудистой системе. Для успешной имплантации и плацентации необходимо ремоделирование эндометрия матки при участии этих ферментов.

MMP синтезируются целым рядом клеток, например фибробластами, хондроцитами, эпителиальными клетками, фагоцитами, лимфоцитами. Активность цинк-зависимых ферментов данного семейства, секретируемых в латентной форме в виде проэнзимов и регулируемых эндогенными ингибиторами (*TIMP*), во время беременности повышается [1]. Желатиназы *MMP-2* и *MMP-9*

играют важную роль в различных физиологических процессах, таких как пролиферация, подвижность клеток, заживление ран, ангиогенез. Кроме того, они играют ключевую роль в инвазии цитотрофобластов на ранних сроках беременности, разрушая базальную мембрану, состоящую преимущественно из коллагена IV типа [2, 3].

Во время беременности в строме клеток ворсин трофобласта, в местах контакта с базальной мембраной, определяются высокие уровни *MMP-2* и *MMP-9* [4]. Установлено, что в первые 6–8 недель (соответствует времени имплантации) экспрессия *MMP-2* доминирует над экспрессией *MMP-9*. На 8–11-й неделе экспрессия *MMP-9* увеличивается и преобладает до конца беременности. Продукция *MMP-9* трофобластом человека определяет скорость инвазии. Таким образом, *MMP-2* играет главную роль в период имплантации, а *MMP-9* – во время инвазии [5, 6]. Успешная инвазия трофобласта обеспечивает нормальное развитие тканей плаценты и эмбриона [7].

Тканевые ингибиторы *TIMP-1* и *TIMP-2* регулируют активность *MMP* [8]. *TIMP-1* и *TIMP-2* экспрессируются децидуальными клетками в течение первого и третьего триместров беременности. Причем большинство *TIMP-1* локализуется в строме децидуальной оболочки, а *TIMP-2* – в ворсинах [9]. На ранних сроках беременности уровни *TIMP* в матке, децидуальной оболочке и плаценте особенно высоки. Пик экспрессии *TIMP-1* коррелирует с наиболее инвазивным периодом развития эмбриона [10]. Напротив, экспрессия *TIMP-2* на протяжении всей беременности повышается постепенно [11].

Для нормального функционирования внеклеточного матрикса должен поддерживаться строгий баланс между активностью *MMP* и факторами их подавления [12]. Дисбаланс между активными *MMP-2* и *TIMP-2* в пользу повышенной активности *MMP-2* может привести к неадекватной деградации внеклеточного матрикса, и наоборот, дисбаланс в пользу *TIMP-2* может снизить активность *MMP-2*, что приведет к избыточному отложению экстрацеллюлярного матрикса. Результатом дисбаланса между процессами синтеза и расщепления матрикса является нарушение процессов имплантации и плацентации, что клинически может проявляться спонтанными выкидышами.

Цель работы – изучить частоту генотипов и аллелей полиморфизмов генов *MMP-2*, *MMP-9*, *TIMP-2* и оценить показатели экспрессии *MMP-2* и *MMP-9* в плацентарной ткани женщин с привычным невынашиванием беременности.

Материалы и методы исследования. Всего было обследовано 49 женщин репродуктивного возраста. Из них 26 пациенток с привычным невынашиванием беременности (ПНБ) и ранними репродуктивными потерями (до 12 недель беременности) в анамнезе составили основную группу. Возраст обследуемых этой группы составил от 25 до 39 лет, медиана – 31 (28; 35) год. Критериями включения в исследование были ПНБ, т. е. наличие в анамнезе женщины трех и более самопроизвольных прерываний беременности подряд в сроках до 22 недель, отсутствие тяжелой соматической и гинекологической патологии.

Контрольную группу составили 23 повторнобеременные (искусственный аборт по желанию женщины в анамнезе). У женщин этой группы был благоприятный акушерский анамнез, отсутствовали самопроизвольные выкидыши и другие акушерские осложнения. Возраст женщин контрольной группы составил от 22 до 39 лет, медиана – 35 (31; 39) лет. Исследование в основной группе проводилось с использованием архивного материала (парафиновых блоков) последов и плацентарных площадок, полученных после спонтанно прервавшихся или ранее замерших беременностей. Контролем служили образцы хориальной ткани, взятые при артифициальном аборте.

ДНК плаценты выделяли из срезов архивных тканей плаценты, фиксированных в формалине и залитых в парафиновые блоки, используя фирменный набор QIAamp® DNA FFPE Tissue (QIAGEN, Германия) согласно инструкции производителя. Полиморфные варианты генов (*MMP-2* 735 C/T, *TIMP-2* 418 G/C) в тканях плаценты выявляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с определением длин рестрикционных фрагментов (PCR-RFLP). Генотипирование полиморфных локусов гена *MMP-9* Gln279Arg осуществляли методом ПЦР (real-time PCR) с использованием набора реагентов ООО «Синтол» (Россия).

Иммуногистохимическое исследование проводили по стандартной методике с использованием антител к *MMP-2* (ab86607, 1 : 200, Abcam), *MMP-9* (FNab05247, 1 : 200, FineTest) и Expose mouse and Rabbit Specific HRP/DAB Detection System (ab80436, Abcam) и определением положительных

и отрицательных контрольных реакций. Срезы контрокрашивали гематоксилином Майера и заключали в монтирующую среду (Glassel-Synt).

Иммуногистохимическое окрашивание с антителами оценивали с помощью ручного подсчета, выраженность экспрессии – полуколичественным способом в баллах (0 – отрицательная реакция с исследуемыми антителами, 1 балл – слабо выраженная, 2 балла – умеренно выраженная, 3 балла – резко выраженная).

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 10.0 (SN AXAR207F394425FA-Q). Результаты статистической обработки представлены в виде величины верхней (Q_{75}) и нижней (Q_{25}) квартилей и медианы (Me ($Q_{25}-Q_{75}$)), частоты встречаемости – в процентах с указанием 95%-го доверительного интервала (ДИ). Для сравнения переменных использовали непараметрические критерии: Манна–Уитни (для двух независимых групп) и Краскела–Уоллиса (для трех и более независимых групп).

Результаты и их обсуждение. Результаты распределения частот генотипов и аллелей полиморфных вариантов Gln279Arg гена *MMP-9*, 735 C/T гена *MMP-2* и 418 G/C гена *TIMP-2* в основной и контрольной группах представлены в табл. 1.

Таблица 1. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизмов Gln279Arg гена *MMP-9*, 735 C/T гена *MMP-2* и 418 G/C гена *TIMP-2* в тканях плаценты женщин с ПНБ и женщин с физиологически протекающей беременностью

Table 1. Distribution of genotype and allele frequencies of Gln279Arg polymorphisms of the *MMP-9* gene, 735 C/T of the *MMP-2* gene, and 418 G/C of the *TIMP-2* gene in placental tissues of women with recurrent miscarriage and women with physiological pregnancy

Полиморфизм/генотип, аллель	Частота генотипов исследованных полиморфизмов, % (ДИ)	
	Женщины с ПНБ ($n = 26$)	Контрольная группа ($n = 23$)
<i>MMP-9</i> Gln279Arg		
A/A	42,3 (26,23–58,37)	34,78 (27,63–41,93)
A/G	50,0 (40,29–59,71)	56,52 (44,84–68,2)
G/G	7,69 (4,93–10,45)	8,7 (6,99–10,41)
Аллель А	0,673	0,63
Аллель G	0,327	0,37
<i>MMP-2</i> 735 C/T		
C/C	84,6 (52,27–100)	87,0 (50,48–100,0)
C/T	3,8 (3,16–4,44)	13,0 (10,81–16,39)
T/T	11,5 (7,5–16,5)	0
Аллель С	0,865	0,935
Аллель Т	0,135	0,065
<i>TIMP-2</i> 418 G/C		
G/G	23,1 (18,67–27,43)	73,9 (43,9–100,0)
G/C	69,2 (55,73–82,67)	17,4 (13,88–20,92)
C/C	7,7 (4,94–10,46)	8,7 (5,4–12,1)
Аллель G	0,423	0,174
Аллель С	0,578	0,826

У женщин с ПНБ характер распределения частот и аллелей полиморфизма Gln279Arg гена *MMP-9* достоверно не отличался от аналогичного показателя в контрольной группе ($p > 0,05$).

Доля гомозигот по мутантному аллелю Т/Т полиморфизма 735 C/T гена *MMP-2* у женщин основной группы составила 11,5 %, тогда как в контрольной группе редкий гомозиготный вариант Т/Т не встречался ($p = 0,09$). У женщин с ПНБ частота встречаемости минорного (патологического) аллеля Т была в 2 раза выше, чем у женщин с физиологически протекающей беременностью, в то время как частота встречаемости протективного аллеля С была выше в контрольной группе.

Частота гомозигот G/G (гомозиготный вариант по «дикому» аллелю) полиморфизма 418 G/C гена *TIMP-2* была статистически значимо выше в контрольной группе ($p = 0,004$). У женщин с ПНБ преобладал гетерозиготный генотип G/C, который встречался в 3,98 раза чаще, чем в контроле

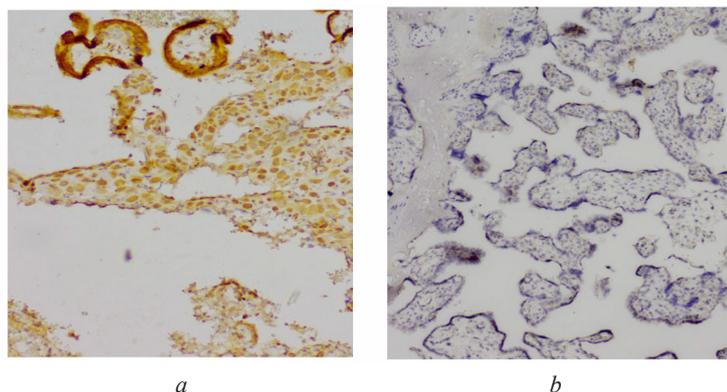


Рис. 1. Иммуногистохимическое окрашивание антителами к *MMP-2* в плаценте женщин основной (а) и контрольной (b) групп. $\times 100$

Fig. 1. Immunohistochemical staining with antibodies to *MMP-2* expression in the placenta of women of experiment (a) and control (b) groups. $\times 100$

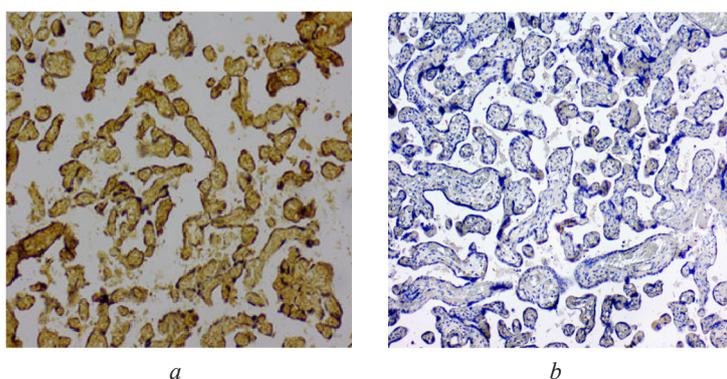


Рис. 2. Иммуногистохимическое окрашивание антителами к *MMP-9* в плаценте женщин основной (а) и контрольной (b) групп. $\times 100$

Fig. 2. Immunohistochemical staining with antibodies to *MMP-9* in the placenta of women of experiment (a) and control (b) groups. $\times 100$

($p < 0,001$). Протективный аллель G гена *TIMP-2* достоверно чаще встречался у женщин с ПНБ ($p = 0,002$), в то время как минорный аллель С данного гена преобладал у женщин с физиологически протекающей беременностью ($p = 0,004$).

Согласно результатам иммуногистохимического исследования, уровни экспрессии *MMP-2* тканями плаценты в исследуемых группах статистически значимо различались ($p = 0,0008$). Так, интенсивность иммуногистохимической реакции *MMP-2* в плацентарной ткани женщин с ПНБ была выше, чем у женщин контрольной группы (рис. 1).

Уровень экспрессии *MMP-9* в образцах основной группы статистически значимо не различался с уровнем экспрессии данной желатиназы в контрольной группе (рис. 2).

Интенсивность экспрессии *MMP* типов 2 и 9 в препаратах плацентарной ткани представительниц обеих групп представлена полуколичественно в баллах (табл. 2).

При изучении степени экспрессии *MMP-2* в препаратах плацентарной ткани женщин с ПНБ в подавляющем большинстве наблюдений (69,23 %) отмечалась резко выраженная экспрессия данного маркера (3 балла). Слабо выраженная (1 балл) и умеренно выраженная (2 балла) экспрессия *MMP-2* в ткани плаценты женщин основной группы выявлена в 15,38 и 11,54 % случаев соответственно. Отсутствие окраски (0 баллов) наблюдалось только у 3,85 % женщин с ПНБ.

Напротив, в контрольной группе в подавляющем большинстве случаев (60,87 %) выявлен отрицательный результат (отсутствие окраски), в то время как слабо выраженная экспрессия *MMP-2* в плацентарной ткани выявлена у 34,78 % женщин с физиологическими родами в анамнезе, умеренно выраженная окраска – только в одном случае (4,35 %), резко выраженная экспрессия маркера в этой группе не наблюдалась.

Таблица 2. Интенсивность экспрессии металлопротеиназ типов 2 и 9 в препаратах плацентарной ткани женщин с ПНБ и женщин контрольной группы

Table 2. Expression intensity of type 2 and type 9 metalloproteinases in placental tissue preparations of women with recurrent miscarriage and controls

Группа	Уровень экспрессии MMP-2 и MMP-9			
	0 баллов	1 балл	2 балла	3 балла
MMP-2				
Основная (n = 26), n (%)	1 (3,85)	4 (15,38)	3 (11,54)	18 (69,23)
Контрольная (n = 23), n (%)	14 (60,87)	8 (34,78)	1 (4,35)	0
MMP-9				
Основная (n = 24), n (%)	4 (16,67)	15 (62,5)	5 (20,83)	0
Контрольная (n = 22), n (%)	5 (22,73)	6 (27,27)	6 (27,27)	5 (22,73)

При изучении степени экспрессии MMP-9 в препаратах плацентарной ткани женщин основной группы в большинстве наблюдений (62,5 %) отмечалась слабо выраженная экспрессия данного маркера (1 балл). Выраженная экспрессия MMP-9 (3 балла) в ткани плаценты женщин с ПНБ не встречалась. Отсутствие экспрессии (0 баллов) и умеренно выраженная экспрессия MMP-9 (2 балла) в плаценте женщин с ПНБ выявлена в 16,67 и 20,83 % случаев соответственно. В контрольной группе результаты экспрессии MMP-9 по баллам распределились почти равномерно: по 22,73 % (0 и 3 балла) и 27,27 % (1 и 2 балла).

Результаты распределения частот встречаемости генотипов исследуемых полиморфизмов и их аллелей в зависимости от степени выраженности экспрессии MMP-2 в плацентарной ткани в группе женщин с ПНБ представлены в табл. 3.

Таблица 3. Распределение частот генотипов полиморфизмов Gln279Arg гена MMP-9, 735 C/T гена MMP-2 и 418 G/C гена TIMP-2 и их аллелей (%) в зависимости от выраженности экспрессии MMP-2 в плаценте женщин с ПНБ

Table 3. Genotype frequency distribution of the MMP-9 gene Gln279Arg, MMP-2 gene 735 C/T and the TIMP-2 gene 418 G/C polymorphisms and their alleles (%) depending on the severity of MMP-2 expression in the placenta of women with recurrent miscarriage

Полиморфизм/генотип, аллель	Уровень экспрессии MMP-2			
	0 баллов	1 балл	2 балла	3 балла
MMP-2 735 C/T				
C/C	4,54	13,64	13,64	68,18
C/T	0	100,0	0	0
T/T	0	0	0	100,0
Аллель С	4,35	17,39	13,04	65,22
Аллель Т	0	25,0	0	75,0
MMP-9 Gln279Arg				
A/A	0	9,09	0	90,91
A/G	7,69	15,38	23,8	53,85
G/G	0	50,0	0	50,0
Аллель А	4,17	12,5	12,5	70,83
Аллель G	6,67	20,0	20,0	53,33
TIMP-2 G418C				
G/G	0	16,67	33,33	50,0
G/C	0	11,11	11,11	77,78
C/C	50,0	0	0	50,0
Аллель G	0	16,67	12,5	70,83
Аллель С	5,0	10,0	10,0	75,0

Распределение уровня экспрессии *MMP-2* в зависимости от генотипов полиморфизма 735 C/T гена *MMP-2* в плацентарной ткани представительниц основной группы было следующим: резко выраженная экспрессия *MMP-2* в плацентарной ткани (3 балла) выявлена у всех женщин с гомозиготным мутантным генотипом (T/T) и в 68,18 % случаев с гомозиготным диким генотипом (C/C), слабо выраженная экспрессия данного маркера (1 балл) – у всех женщин с гетерозиготным генотипом (C/T). Далее нами был проведен анализ распределения иммуногистохимического окрашивания в зависимости от аллельных вариаций полиморфизма 735 C/T гена *MMP-2*. Полученные данные свидетельствуют о том, что женщины с мутантным аллелем T имели более высокую степень экспрессии *MMP-2* (3 балла) по сравнению с женщинами с протективным аллелем C ($p = 0,0001$).

Распределение уровня экспрессии *MMP-2* в зависимости от генотипов полиморфизма Gln279Arg гена *MMP-9* было следующим: резко выраженная экспрессия *MMP-2* в плацентарной ткани (3 балла) у большинства (90,91 %) женщин основной группы с гомозиготным диким генотипом (A/A) и почти у половины женщин с гетерозиготным (A/G) и гомозиготным мутантным генотипами (G/G) – 53,85 и 50,0 % соответственно. Однако достоверных ассоциаций между наличием различных вариантов SNP Gln279Arg гена *MMP-9* и интенсивностью иммуноэкспрессии *MMP-2* не обнаружено.

При изучении ассоциаций между полиморфизмом 418 G/C гена ингибитора металлопротеиназы *TIMP-2* и экспрессией *MMP-2* в плаценте женщин с мутантным аллелем C выявлен более высокий уровень иммуногистохимического ответа (3 балла), чем у женщин основной группы, имеющих протективный аллель G ($p = 0,0001$).

Результаты распределения частот встречаемости генотипов исследуемых полиморфизмов и их аллелей в зависимости от степени выраженности экспрессии *MMP-9* в плацентарной ткани в группе женщин с ПНБ представлены в табл. 4.

Таблица 4. Распределение частот генотипов полиморфизмов Gln279Arg гена *MMP-9*, 735 C/T гена *MMP-2* и 418 G/C гена *TIMP-2* и их аллелей (%) в зависимости от выраженности экспрессии *MMP-9* в плаценте женщин с ПНБ

Table 4. Genotype frequency distribution of the *MMP-9* gene Gln279Arg, *MMP-2* gene 735 C/T and *TIMP-2* gene 418 G/C polymorphisms and their alleles (%) depending on the expression of *MMP-9* in the placenta of women with recurrent miscarriage

Полиморфизм/генотип, аллель	Уровень экспрессии <i>MMP-9</i>			
	0 баллов	1 балл	2 балла	3 балла
<i>MMP-2</i> 735 C/T				
C/C	10,53	68,42	21,05	0
C/T	0	0	100	0
T/T	66,67	33,33	0	0
Аллель С	10,0	65,0	25,0	0
Аллель Т	50,0	25,0	25,0	0
<i>MMP-9</i> Gln279Arg				
A/A	22,22	55,56	22,22	0
A/G	15,38	69,23	15,38	0
G/G	0	50,0	50,0	0
Аллель А	18,18	63,64	18,18	0
Аллель G	13,33	66,67	20,0	0
<i>TIMP-2</i> G418C				
G/G	0	66,67	33,33	0
G/C	18,75	68,75	12,50	0
C/C	50,0	0	50,0	0
Аллель G	13,64	68,18	18,18	0
Аллель С	22,22	61,11	16,67	0

Анализ распределения уровня экспрессии *MMP-9* в зависимости от генотипов и аллелей исследуемых полиморфизмов показал отсутствие выраженной экспрессии (3 балла) в группе женщин с ПНБ. Во всех случаях при наличии гетерозиготного генотипа (С/Т) полиморфизма 735 С/Т гена *MMP-2* наблюдался умеренный уровень экспрессии *MMP-9* (2 балла).

Ассоциаций между интенсивностью иммуноэкспрессии *MMP-9* с генотипами полиморфизмов 735 С/Т гена *MMP-2*, Gln279Arg гена *MMP-9* и 418 G/C гена *TIMP-2* у женщин с ПНБ не выявлено.

При изучении распределения окраски в зависимости от аллелей данных полиморфизмов у лиц с протективным аллелем G полиморфизма 418 G/C гена *TIMP-2* слабая окраска (1 балл) выявлялась чаще, чем у женщин с мутантным С аллелем данного гена ($p = 0,06$).

Выводы

Экспрессия *MMP-2* в препаратах плацентарной ткани у женщин с ПНБ существенно выше, чем у женщин с нормально протекающей беременностью, уровень экспрессии *MMP-9* в плаценте женщин обеих групп статистически значимо не различался.

Наличие мутантного аллеля Т полиморфизма 735 С/Т гена *MMP-2* 418 и мутантного аллеля С полиморфизма 418 G/C гена *TIMP-2* ассоциировано с высоким уровнем экспрессии *MMP-2* в плацентарной ткани женщин с ПНБ.

Ассоциаций между интенсивностью иммуноэкспрессии *MMP-9* с генотипами полиморфизмов 735 С/Т гена *MMP-2*, Gln279Arg гена *MMP-9* и 418 G/C гена *TIMP-2* у женщин с ПНБ не обнаружено.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке внутриуниверситетского научного гранта для аспирантов, докторантов и профессорско-преподавательского состава Гродненского государственного медицинского университета «Анализ ассоциаций аллельных вариантов генов системы матриксных металлопротеиназ девятого типа с ранними эмбриональными потерями у женщин с привычным невынашиванием беременности» (2022).

Acknowledgements. The work was financially supported by the intra-university research grant for postgraduate students, doctoral students and academic staff of Grodno State Medical University “Analysis of associations of allelic variants of genes of the matrix metalloproteinase system type nine with early embryonic loss in women with habitual miscarriage of pregnancy” (2022).

Список использованных источников

1. Differential activity of the gelatinases (matrix metalloproteinases 2 and 9) in the fetal membranes and decidua, associated with labour / S. Goldman, A. Weiss, V. Eyali, E. Shalev // *Molecular Human Reproduction*. – 2003. – Vol. 9, N 6. – P. 367–373. <https://doi.org/10.1093/molehr/gag040>
2. Expression and importance of matrix metalloproteinase 2 and 9 (*MMP-2* and -9) in human trophoblast invasion / E. Staun-Ram, S. Goldman, D. Gabarin, E. Shalev // *Reproductive Biology and Endocrinology*. – 2004. – Vol. 2. – Art. 59. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-2-59>
3. Moore, C. S. An alternate perspective on the roles of TIMPs and MMPs in pathology / C. S. Moore, S. J. Crocker // *American Journal of Pathology*. – 2012. – Vol. 180, N 1. – P. 12–16. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.09.008>
4. Expression and function of matrix metalloproteinases and their inhibitors at the maternal-embryonic boundary during mouse embryo implantation / C. M. Alexander, E. J. Hansell, O. Behrendtsen [et al.] // *Development*. – 1996. – Vol. 122, N 6. – P. 1723–1736. <https://doi.org/10.1242/dev.122.6.1723>
5. Extracellular matrix interactions in early human embryos: implications for normal implantation events / T. Turpeenniemi-Hujanen, R. F. Feinberg, A. Kauppila, U. Puistola // *Fertility and Sterility*. – 1995. – Vol. 64, N 1. – P. 132–138.
6. Developmental expression of *MMP-9* (gelatinase B) mRNA in mouse embryos / R. Canete-Soler, Y. H. Gui, K. K. Linask, R. J. Muschel // *Developmental Dynamics*. – 1995. – Vol. 204, N 1. – P. 30–40. <https://doi.org/10.1002/aja.1002040105>
7. Тихаева, К. Ю. Роль металлопротеиназ в обмене белков внеклеточного матрикса эндометрия в норме и при патологии / К. Ю. Тихаева, Л. Н. Рогова, Л. В. Ткаченко // *Проблемы репродукции*. – 2020. – Т. 26, № 4. – С. 22–29.
8. TIMP-3 binds to sulfated glycosaminoglycans of the extracellular matrix / W. H. Yu, S. Yu, Q. Meng [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 2000. – Vol. 275, N 40. – P. 31226–31232. <https://doi.org/10.1074/jbc.M000907200>
9. Expression of gelatinases A and B and their tissue inhibitors by cells of early and term human placenta and gestational endometrium / M. Polette, B. Nawrocki, A. Pintiaux [et al.] // *Laboratory Investigation*. – 1994. – Vol. 71, N 6. – P. 838–846.
10. Cross, J. C. Implantation and the placenta: Key pieces of the development puzzle / J. C. Cross, Z. Werb, S. J. Fisher // *Science*. – 1994. – Vol. 266, N 5190. – P. 1508–1518. <https://doi.org/10.1126/science.7985020>

11. Tissue inhibitors of metalloproteinases in endometrium of ovariectomized steroid-treated ewes and during the estrous cycle and early pregnancy / A. L. Hampton, A. R. Butt, S. C. Riley, L. A. Salamonsen // *Biology of Reproduction*. – 1995. – Vol. 53, N 2. – P. 302–311. <https://doi.org/10.1095/biolreprod53.2.302>
12. The role of inflammation and matrix metalloproteinases in equine endometriosis / L. Aresu, S. Benali, D. Giannuzzi [et al.] // *Journal of Veterinary Science*. – 2012. – Vol. 13, N 2. – P. 171–177. <https://doi.org/10.4142/jvs.2012.13.2.171>

References

1. Goldman S., Weiss A., Eyal V., Shalev E. Differential activity of the gelatinases (matrix metalloproteinases 2 and 9) in the fetal membranes and decidua, associated with labour. *Molecular Human Reproduction*, 2003, vol. 9, no. 6, pp. 367–373. <https://doi.org/10.1093/molehr/gag040>
2. Staun-Ram E., Goldman S., Gabarin D., Shalev E. Expression and importance of matrix metalloproteinase 2 and 9 (MMP-2 and -9) in human trophoblast invasion. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2004, vol. 2, art. 59. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-2-59>
3. Moore C. S., Crocker S. J. An alternate perspective on the roles of TIMPs and MMPs in pathology. *American Journal of Pathology*, 2012, vol. 180, no. 1, pp. 12–16. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.09.008>
4. Alexander C. M., Hansell E. J., Behrendtsen O., Flannery M. L., Kishnani N. S., Hawkes S. P., Werb Z. Expression and function of matrix metalloproteinases and their inhibitors at the maternal-embryonic boundary during mouse embryo implantation. *Development*, 1996, vol. 122, pp. 1723–1736. <https://doi.org/10.1242/dev.122.6.1723>
5. Turpeenniemi-Hujanen T., Feinberg R. F., Kauppila A., Puistola U. Extracellular matrix interactions in early human embryos: implications for normal implantation events. *Fertility and Sterility*, 1995, vol. 64, no. 1, pp. 132–138.
6. Canete-Soler R., Gui Y. H., Linask K. K., Muschel R. J. Developmental expression of MMP-9 (gelatinase B) mRNA in mouse embryos. *Developmental Dynamics*, 1995, vol. 204, no. 1, pp. 30–40. <https://doi.org/10.1002/aja.1002040105>
7. Tikhaeva K. Yu., Rogova L. N., Tkachenko L. V. The role of metalloproteinases in the exchange of endometrial extracellular matrix proteins in normal and pathological conditions. *Problemy reproduktivnoy [Reproductive problems]*, 2020, vol. 26, no. 4, pp. 22–29 (in Russian).
8. Yu W. H., Yu S., Meng Q., Brew K., Woessner J. F. TIMP-3 binds to sulfated glycosaminoglycans of the extracellular matrix. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, vol. 275, no. 40, pp. 31226–31232. <https://doi.org/10.1074/jbc.M000907200>
9. Polette M., Nawrocki B., Pintiaux A., Massenat Ch., Maquoi E., Volders L., Schaaps J., Birembaut Ph. L., Foidart J. Expression of gelatinases A and B and their tissue inhibitors by cells of early and term human placenta and gestational endometrium. *Laboratory Investigation*, 1994, vol. 71, no. 6, pp. 838–846.
10. Cross J. C., Werb Z., Fisher S. J. Implantation and the placenta: Key pieces of the development puzzle. *Science*, 1994, vol. 266, no. 5190, pp. 1508–1518. <https://doi.org/10.1126/science.7985020>
11. Hampton A. L., Butt A. R., Riley S. C., Salamonsen L. A. Tissue inhibitors of metalloproteinases in endometrium of ovariectomized steroid-treated ewes and during the estrous cycle and early pregnancy. *Biology of Reproduction*, 1995, vol. 53, no. 2, pp. 302–311. <https://doi.org/10.1095/biolreprod53.2.302>
12. Aresu L., Benali S., Giannuzzi D., Mantovani R., Castagnaro M., Falomo M. The role of inflammation and matrix metalloproteinases in equine endometriosis. *Journal of Veterinary Science*, 2012, vol. 13, no. 2, pp. 171–177. <https://doi.org/10.4142/jvs.2012.13.2.171>

Информация об авторах

Гриневич Татьяна Николаевна – канд. мед. наук, доцент. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0009-0005-6161-6946>. E-mail: tgrinevich@yandex.by

Ляликов Сергей Александрович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: lalikov@tut.by

Шульга Андрей Васильевич – канд. мед. наук, доцент. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: grodnoapat@gmail.com

Кот Максим Олегович – студент. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). <https://orcid.org/https://0009-0007-9576-2233>. E-mail: sao-fake@yandex.ru

Information about the authors

Tatyana N. Grinevich – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0009-0005-6161-6946>. E-mail: tgrinevich@yandex.by

Sergey A. Lyalikov – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: lalikov@tut.by

Andrey V. Shulga – Ph. D. (Med.), Associate Professor. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: grodnoapat@gmail.com

Maksim O. Kot – Student. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). <https://orcid.org/https://0009-0007-9576-2233>. E-mail: sao-fake@yandex.ru

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616-036.22:578.835.1(476)

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-73-88>

Поступила в редакцию 05.07.2024

Received 05.07.2024

Н. В. Поклонская, Т. В. Амвросьева, З. Ф. Богущ, Ю. Б. Колтунова, И. В. Бельская*Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии,
Минск, Республика Беларусь***ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ
ВИРУСА КОКСАКИ В5 В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ (2003–2023 гг.)**

Аннотация. Вирус Коксаки В5 – наиболее часто обнаруживаемый в Беларуси в течение последних 20 лет тип энтеровируса (ЭВ). Его доминирование на территории страны сопровождалось значительным генетическим разнообразием: идентифицировано 12 геновариантов вируса, принадлежавших к 2 ранее идентифицированным геногруппам и 5 субгеногруппам (А1, А3, А4, В1, В2). Данные возбудители регистрировались параллельно на протяжении всего периода наблюдения и имели три основных паттерна циркуляции (длительная циркуляция на территории страны в течение 7–15 лет, длительная глобальная циркуляция и периодические заносы в Беларусь, кратковременная циркуляция в течение 1–3 лет), а затем исчезали. Страны происхождения ближайшего общего предка – Китай, Франция и Беларусь (для 8 из 12 исследуемых геновариантов вероятность составила 89–100 %). Временной интервал между расхождением геноварианта от ближайшего общего предка и обнаружением его в популяции составил в среднем $3,1 \pm 1,2$ года. Все аминокислотные замены, обнаруженные у геновариантов Коксаки В5 и ранее уже встречавшиеся у различных штаммов вируса в других странах мира, были описаны как нейтральные.

Продолжение исследований по молекулярному мониторингу ЭВ позволит расширить накопленные данные и получить новую ценную информацию, касающуюся как молекулярной эволюции ЭВ, так и общих эволюционных закономерностей вирусов.

Ключевые слова: энтеровирус, энтеровирусная инфекция, вирус Коксаки В5, молекулярная эпидемиология, генотип

Для цитирования: Генетическое разнообразие и молекулярная эпидемиология вируса Коксаки В5 в Республике Беларусь (2003–2023 гг.) / Н. В. Поклонская, Т. В. Амвросьева, З. Ф. Богущ [и др.] // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Сeryя медыцынскіх навук. – 2025. – Т. 22, № 1. – С. 73–88. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-73-88>

Natalia V. Paklonskaya, Tamara V. Amvrosieva, Zoya F. Bogush, Yulia B. Koltunova, Ina V. Belskaya*Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Republic of Belarus***GENETIC DIVERSITY AND MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF COXSACKIE VIRUS B5
IN THE REPUBLIC OF BELARUS (2003–2023)**

Abstract. Coxsackie virus B5 is the most frequently detected enterovirus in Belarus over the past 20 years. Its dominance was accompanied by a significant genetic diversity: 12 genetic variants of the virus belonging to 2 previously identified genogroups and 5 subgenogroups (A1, A3, A4, B1, B2) were identified. Genetic variants of the virus belonging to different genogroups and subgenogroups circulated simultaneously throughout the entire observation period. Genetic variants had 3 main circulation patterns: long-term circulation within the country for 7–15 years, long-term global circulation with periodic introductions in Belarus, short-term circulation for 1–3 years followed by extinction. The countries of origin of the most recent common ancestor are China, France, and Belarus (for 8 of 12 studied genovariants, the probability was 89–100 %). The time interval between the divergence of genetic variants from the most recent common ancestor and its detection in the population was 3.1 ± 1.2 years. All amino acid substitutions found in different genetic variants were previously revealed in various strains of the virus circulating in other countries of the world and were described as neutral.

Further enterovirus molecular surveillance will expand our knowledge about the virus concerning evolutionary patterns and general epidemic processes.

Keywords: enterovirus, enterovirus infection, Coxsackie virus B5, molecular epidemiology, genotype

For citation: Paklonskaya N. V., Amvrosieva T. V., Bogush Z. F., Koltunova Yu. B., Belskaya I. V. Genetic diversity and molecular epidemiology of Coxsackie virus B5 in the Republic of Belarus (2003–2023). *Vesti Natsyyanal'nai akademii nauk Belarusi. Seryya medytsynskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2025, vol. 22, no. 1, pp. 73–88 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2025-22-1-73-88>

Введение. Регулярный эпидемиологический надзор за энтеровирусной инфекцией (ЭВИ) в нашей стране проводится в течение последних 20 лет, начиная с 2003 г. На сегодняшний день идентифицировано 1 403 энтеровируса (ЭВ), среди которых преобладают представители вида *Enterovirus B*. Доминирующими за весь период времени типами были вирусы Коксаки В5 (22,0 %), ЕСНО 30 (11,8 %), ЕСНО 11 (11,8 %), ЕСНО 13 (9,1 %), Коксаки В3 (7,8 %). Следует отметить, что

часть типов ЭВ (ЕСНО 30, 11 и 9) достоверно чаще выявлялась в годы подъема заболеваемости ЭВИ, тогда как другие (Коксаки В1, 3 и 4) – в периоды снижения заболеваемости. Два доминирующих типа ЭВ – Коксаки В5 и ЕСНО 6 регистрировались с приблизительно равной частотой как в годы подъемов, так и в периоды спадов заболеваемости ЭВИ [1].

Цель настоящей работы – анализ особенностей циркуляции вирусов Коксаки В5, их генетического разнообразия, молекулярной эпидемиологии и спектра вызываемых ими клинических проявлений инфекции на территории Беларуси в последние два десятилетия (2003–2023 гг.).

Материалы и методы исследования. Материалом для исследований послужили нуклеотидные последовательности полного гена *VP1* или его фрагмента у 139 вирусов Коксаки В5, обнаруженных в биологическом материале пациентов с ЭВИ или в пробах сточной воды в период с 2003 по 2023 г.

Из биологических проб и сточной воды вирус выделяли в культурах клеток Нер-2с и ВGM, после чего идентифицировали в реакции нейтрализации (Инструкция по лабораторной диагностике энтеровирусных инфекций: инструкция по применению, рег. № 133-1204 от 12.04.2005), а затем установленный тип вируса подтверждали секвенированием. При невозможности получить цитопатический агент или провести идентификацию вируса в реакции нейтрализации его генотипирование проводили прямым секвенированием полного гена основного капсидного белка *VP1* или его фрагмента.

Для обнаружения ЭВ методом ОТ-ПЦР были использованы коммерческие тест-системы АмплиСенс® Enterovirus-FL (Россия), «Тест-система для выявления энтеровирусов методом ПЦР с гибридизационно-флюоресцентной детекцией продуктов реакции «ЭВ-ПЦР» (Беларусь), а также методики, разработанные в лаборатории и предложенные другими исследователями [2–4]. Вирусную РНК из проб выделяли с помощью набора «НК-экстра» (Беларусь). Нуклеотидную последовательность полного гена *VP1* или его фрагмента определяли с несколькими комплектами праймеров (Молекулярно-эпидемиологический мониторинг ЭВИ: инструкция по применению, рег. № 165-1208 от 11.06.2009). Секвенирование ДНК проводили методом терминации цепи с последующим анализом на ДНК-анализаторе SEQ8000. Компьютерный анализ последовательностей выполняли с помощью программного продукта MEGA (Molecular evolutionary genetics analysis) версии 7.0 [5]. Референсные последовательности были получены из базы данных Genbank, с использованием интернет-ресурса BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>) [6].

Филогенетическая реконструкция со шкалой времени и анализом географического распространения изолятов осуществлена методом Монте-Карло для марковских цепей (MCMC) с использованием некоррелированной модели логнормальных расслабленных часов [7], входящих в компьютерный пакет программ BEAST версии 1.10.4 [8]. Калибровку осуществляли на основании дат идентификации изолятов и штаммов, включенных в реконструкцию, в качестве модели эволюции использовали общую, обратимую во времени, модель (general time reversible (GTR)), учитывая гамма-распределение нуклеотидных замен и инвариантных сайтов. Длина цепей MCMC составила 30 млн, образцы отбирали каждые 30 тыс. шагов. Файл трассировки, созданный с помощью байесовской филогенетической реконструкции, был визуализирован и проанализирован в Tracer версии 1.7 [9]. Сходимость параметров анализировали при значениях эффективного размера выборки (ESS), превышающих 200. Данные дендрограммы с максимальной достоверностью клад (Maximum Clade Credibility, MCC) суммировали с помощью TreeAnnotator 1.8.4 (часть пакета BEAST 1.10.4) при прожиге 10 %, затем визуализировали и редактировали в программе FigTree версии 1.4.3 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

Достоверность обнаруживаемых различий оценивали на основании критерия χ^2 , доверительные интервалы долей рассчитывали по распределению Пуассона (через χ^2) [10].

Результаты исследования. В период с 2003 по 2023 г. в ходе проведения лабораторного мониторинга установлен тип 1 127 ЭВ. В годы эпидемических подъемов заболеваемости (рис. 1) было идентифицировано 674 ЭВ, 164 из них принадлежали типу Коксаки В5 (24,3 % [95 % ДИ: 20,8; 28,4]), тогда как в сезоны эпидемического благополучия определен тип 453 возбудителей ЭВИ, в том числе 125 вирусов Коксаки В5 (27,6 % [95 % ДИ: 23,0; 32,9]). Представленные результаты свидетельствовали о том, что вирус Коксаки В5 с равной интенсивностью циркулировал как при эпидемических подъемах заболеваемости, так и при эпидемическом благополучии.

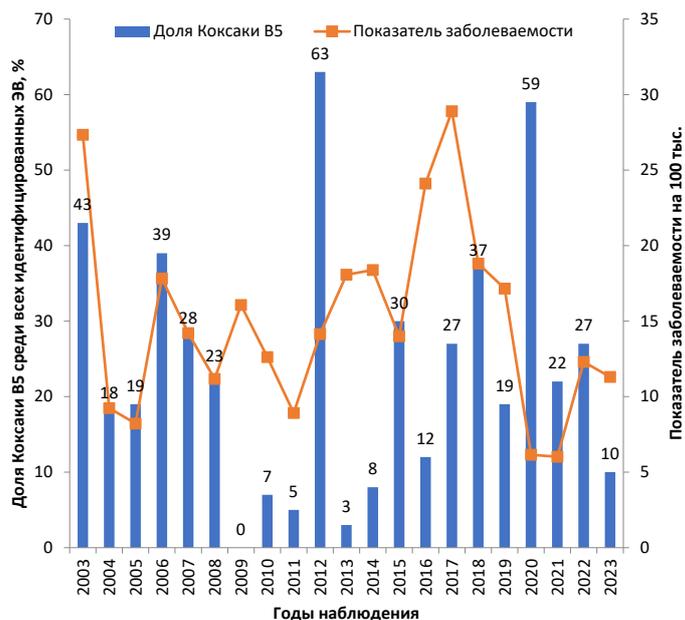


Рис. 1. Доля изолятов Коксаки В5 в общем спектре идентифицированных ЭВ по годам на фоне подъемов и спадов заболеваемости ЭВИ

Fig. 1. Proportion of Coxsackie virus B5 isolates in the total spectrum of identified EVs by year on the background of variations in the enterovirus morbidity

Сравнительный анализ спектра клинических проявлений у пациентов с подтвержденной с помощью ПЦР ЭВИ ($n = 425$) и у тех из них, у кого инфекция была вызвана вирусом Коксаки В5 ($n = 104$), показал, что данный возбудитель вызывал весь спектр клинических проявлений инфекции, частота которых не имела существенных отличий от таковой у пациентов с ЭВИ в целом (рис. 2).

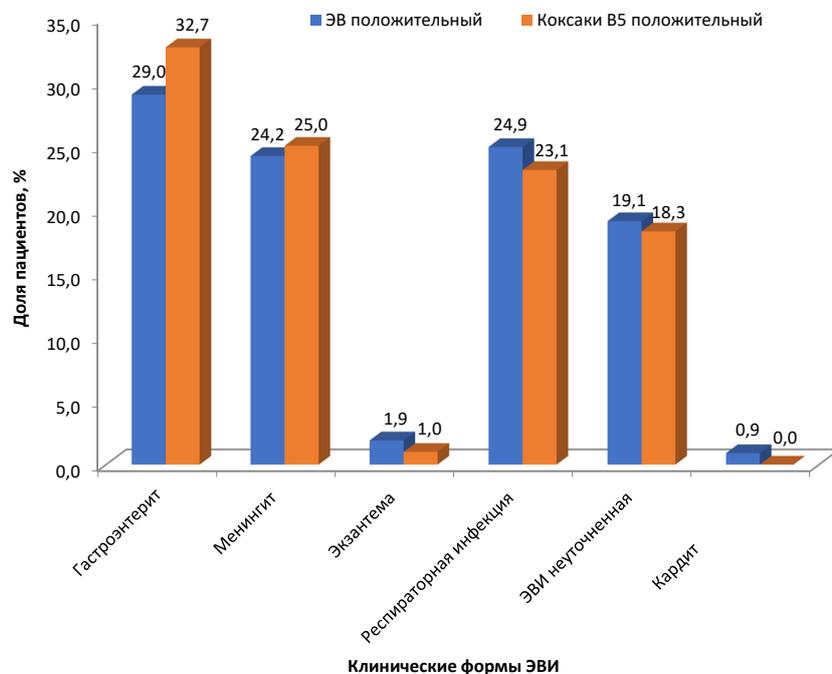


Рис. 2. Частота разных клинических проявлений у пациентов с лабораторно подтвержденной ЭВИ и у тех из них, у кого обнаружен вирус Коксаки В5

Fig. 2. Frequency of different clinical manifestations in patients with laboratory-confirmed enterovirus infection and in those with detected Coxsackie virus B5

Генетическое разнообразие вирусов Коксаки В5 ($n = 124$), циркулировавших в 2003–2023 гг. в Беларуси, оценивали на основании анализа их нуклеотидных последовательностей. Максимальная доля различий между ними составила $23,5 \pm 1,7$ %. По степени сходства нуклеотидных последовательностей гена *VPI* все анализируемые вирусы формировали 12 групп (табл. 1). В среднем нуклеотидные различия составили: в группе – $1,7 \pm 1,3$ %, между группами – $17,0 \pm 5,6$ %.

Т а б л и ц а 1. Характеристика генетического разнообразия вирусов Коксаки В5, циркулировавших в Беларуси в 2003–2023 гг.

T a b l e 1. Characteristics of the genetic diversity of Coxsackie virus B5 circulating in Belarus in 2003–2023

Группа Коксаки В5	Годы циркуляции	Среднее генетическое расстояние в группе, %	Среднее аминокислотное расстояние в группе, %
CVB5_BY1	2012, 2018	$1,7 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,3$
CVB5_BY2	2017–2023	$2,8 \pm 0,3$	$1,0 \pm 0,2$
CVB5_BY3	2017–2018, 2023	$4,5 \pm 0,6$	$0,7 \pm 0,3$
CVB5_BY4	2017	$0,4 \pm 0,2$	$0,4 \pm 0,3$
CVB5_BY5	2006–2007, 2016, 2017, 2021–2022	$1,1 \pm 0,2$	$0,4 \pm 0,2$
CVB5_BY6	2017	–	–
CVB5_BY7	2012, 2017	$1,9 \pm 0,3$	$1,0 \pm 0,4$
CVB5_BY8	2016	$0,3 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,2$
CVB5_BY9	2005, 2015–2016	$1,0 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,3$
CVB5_BY10	2012, 2014	$2,7 \pm 0,4$	$2,5 \pm 0,5$
CVB5_BY11	2006	$1,7 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,4$
CVB5_BY12	2003–2004	$0,3 \pm 0,2$	0

Различные геноварианты Коксаки В5 отличались по длительности циркуляции и спектру клинических проявлений. Так, геноварианты CVB5_BY1, CVB5_BY2, CVB5_BY5, CVB5_BY10, CVB5_BY11 и CVB5_BY12 обнаруживались у пациентов с серозным менингитом, а единственный случай энтеровирусного энцефалита был вызван геновариантом CVB5_BY5. Остальные геноварианты ассоциировались с более легкими клиническими проявлениями ЭВИ (рис. 3). На основании количества изолятов Коксаки В5 разных геновариантов, обнаруженных в сточной воде, можно сделать вывод, что наиболее активно циркулировали среди населения геноварианты CVB5_BY2, CVB5_BY5 и CVB5_BY7.

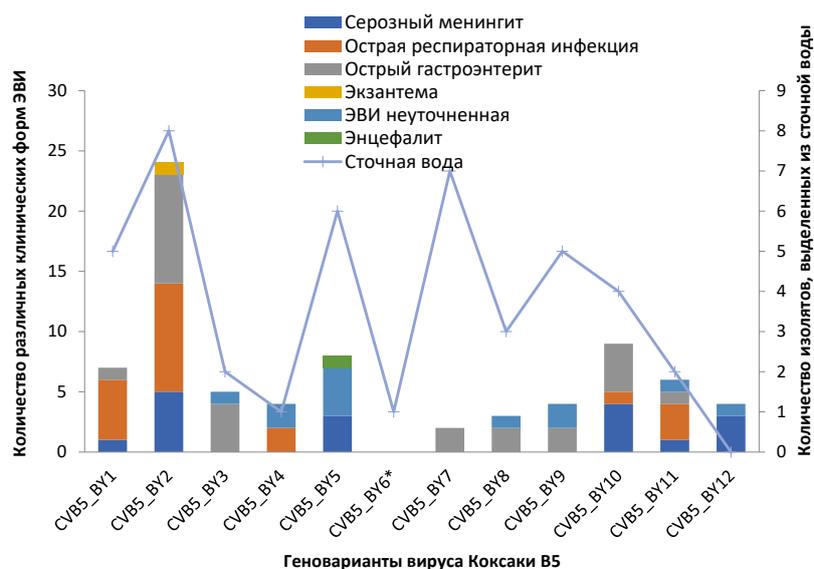


Рис. 3. Спектр клинических проявлений и интенсивность циркуляции различных геновариантов Коксаки В5 среди населения

Fig. 3. Spectrum of clinical manifestations and intensity of circulation of different genovariants of Coxsackie virus B5 among the population

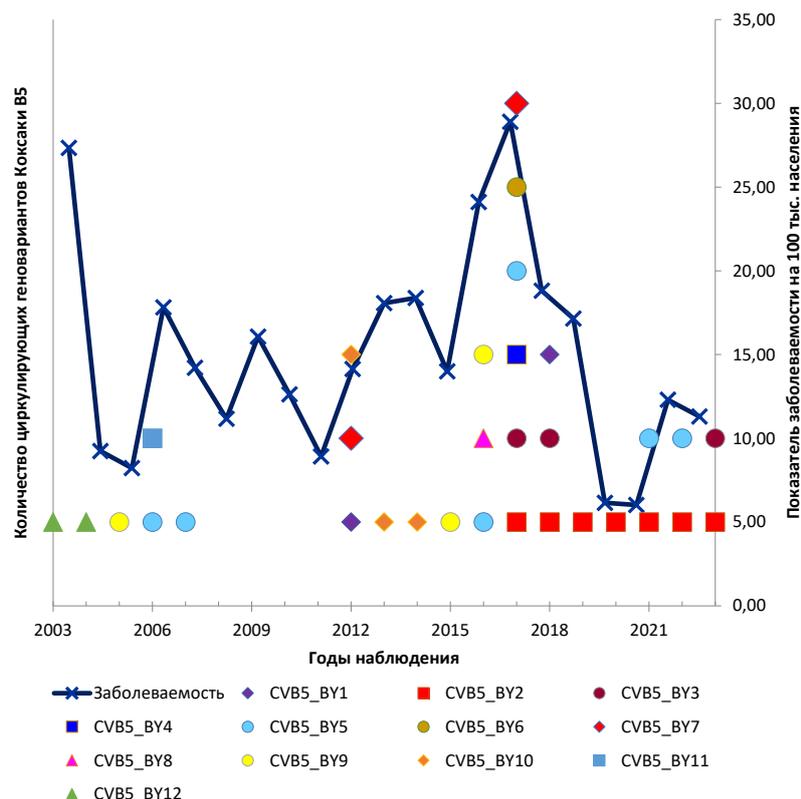


Рис. 4. Циркуляция различных геновариантов Коксаки В5 по годам и заболеваемость ЭВИ в 2003–2023 гг.
 Fig. 4. Circulation of different Coxsackie virus B5 genetic variants by year and enterovirus infection morbidity in 2003–2023

Анализ длительности циркуляции различных геновариантов Коксаки В5 представлен на рис. 4. Как видно из рис. 4, наиболее длительная циркуляция отмечена для геноварианта CVB5_BY5. Впервые он был зарегистрирован в 2006 г., затем обнаруживался в 2016–2017 гг. и циркулировал вплоть до 2022 г. Геновариант CVB5_BY9 был выявлен в 2005 г., а затем в 2015–2016 гг. Геноварианты CVB5_BY1, CVB5_BY2, CVB5_BY3, CVB5_BY7 регистрировали в течение 7 лет, однако только у CVB5_BY2 наблюдалась непрерывная циркуляция, тогда как все остальные обнаруживались в течение 1–2 лет спустя значительные промежутки времени (5–10 лет).

Для генотипирования и субгенотипирования идентифицированных на территории Республики Беларусь геновариантов вируса Коксаки В5, а также для изучения их географической и временной динамики циркуляции проведена филогенетическая реконструкция. Помимо нуклеотидных последовательностей исследуемых вирусов в нее были включены референсные последовательности двух прототипных штаммов Коксаки В5, штаммов и изолятов, которые ранее были отнесены к различным геногруппам, генотипам (субгеногруппам) и субгенотипам вируса, а также вирусы Коксаки В5, обладающие максимальным сходством с исследуемыми и выделенные на территории соседних стран. Филогенетическая реконструкция осуществлена на основании анализа нуклеотидных последовательностей 305 изолятов и штаммов Коксаки В5 на основе алгоритма Байеса с использованием метода МСМС и некоррелированной модели логнормальных расслабленных часов (рис. 5).

Все белорусские геноварианты Коксаки В5 входили в состав ранее идентифицированных субгеногрупп (генотипов) вируса (рис. 5, табл. 2).

Геновариант CVB5_BY1 входил в состав субгеногруппы А4 и был представлен циркулировавшими в Беларуси в 2012 и 2018 гг. изолятами (рис. 6), которые входили в общий кластер с вирусами, циркулировавшими на территории других стран – Китая (2010–2012), США и Гаити (2016). Расхождение изолятов от общего предка, датируемое 2009-м годом, с вероятностью 100 % имело место на территории Китая. При этом внутри общего кластера белорусские изоляты 2018 г. достоверно группировались вместе с изолятами, циркулировавшими в 2016 г. в США и на Гаити.

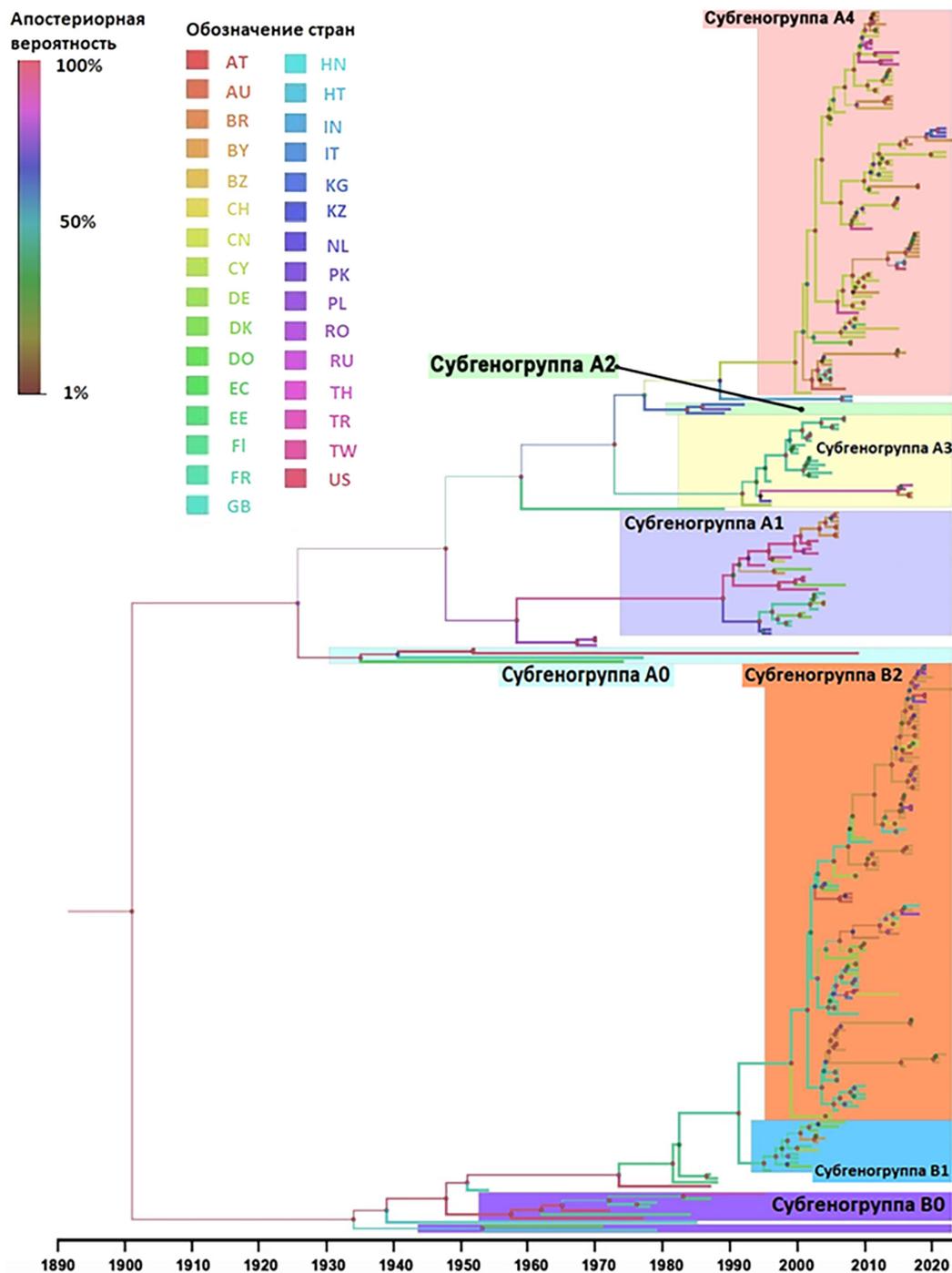


Рис. 5. Дендрограмма с максимальной достоверностью клад, построенная с помощью байесовского анализа 305 нуклеотидных последовательностей Коксаки В5. Длина ветвей соответствует шкале времени (внизу), апостериорная вероятность группирования представлена в узлах древа кругами разного цвета. Цвет ветвей отражает наиболее вероятную страну происхождения. Легенда в левом верхнем углу содержит цветовую шкалу апостериорной вероятности и цветовое обозначение стран, названия которых даны в соответствии с двухбуквенными кодами международной организации по стандартизации (ISO). Блоками разных цветов обозначены субгруппы Коксаки В5

Fig. 5. Maximum clade credibility tree for the Bayesian coalescent analysis of 305 Coxsackie virus B5 sequences. Branches are in time scale (years). The posterior probability of grouping is represented at the nodes of the tree by different-color circles. The color of the branches represents the most probable country of origin. The legend in the upper left corner contains a color scale of the posterior probability and a color designation of countries, the names of which are given in accordance with the two-letter codes of the International Organization for Standardization (ISO). The blocks of different colors indicate Coxsackie virus B5 subgenogroups

Таблица 2. Характеристика геновариантов Коксаки B5, циркулировавших в Беларуси в разные годы

Table 2. Characteristics of Coxsackie virus B5 genovariants circulating in Belarus in different years

Геновариант CVB5	Годы циркуляции	Дата расхождения от ближайшего общего предка [95 % ДИ]	Страна происхождения геноварианта, вероятность	Субгеногруппа
CVB5_BY1	2012, 2018	2008 [2007; 2009]	Китай, 100 %	CVB5-A4c
CVB5_BY2	2017–2023	2014 [2013; 2015]	Беларусь, 99 %	CVB5-B2f
CVB5_BY3	2017–2018, 2023	2010 [2009; 2011]	Китай, 100 %	CVB5-A4e
CVB5_BY4	2017	2015 [2014; 2016]	Турция, 84 %	CVB5-A3a
CVB5_BY5	2006–2007, 2016, 2017, 2021–2022	2004 [2003; 2005]	Франция, 99,1 %	CVB5-B2a
CVB5_BY6	2017	2016 [2015; 2017]	Беларусь, 83,5 %	CVB5-B2e
CVB5_BY7	2012, 2017	2008 [2006; 2009]	Франция, 80 %	CVB5-B2f
CVB5_BY8	2016	2012 [2012; 2014]	Беларусь, 98,6 %	CVB5-B2f
CVB5_BY9	2005, 2015–2016	2003 [2002; 2004]	Беларусь, 89 %	CVB5-A4a
CVB5_BY10	2012, 2014	2007 [2006; 2008]	Китай, 100 %	CVB5-A4d
CVB5_BY11	2006	2001 [2000; 2002]	Тайвань, 100 %	CVB5-A1
CVB5_BY12	2003–2004	2000 [1999; 2002]	Франция, 59 %	CVB5-B1a

Геновариант CVB5_BY2 входил в состав субгеногруппы B2, кластер f (рис. 7), и объединял вирусы, циркулировавшие в стране в 2017–2018, 2023 гг. По результатам филогенетической реконструкции наиболее вероятный общий предок этого кластера, датируемый 2014-м годом, циркулировал на территории Беларуси (вероятность 99 %). В состав кластера входили также изоляты, обнаруженные на территории Польши (2018–2019), США (2019), Китая (2017–2018 гг.) и Австралии (2017 г.).

Геновариант CVB5_BY3 кластеризовался в пределах субгеногруппы A4 (см. рис. 6) и включал изоляты, циркулировавшие в 2017–2018 и 2023 гг. Так же, как и в случае геноварианта CVB5_BY1, белорусские изоляты разных лет группировались в составе кластера не друг с другом, а с вирусами, циркулировавшими в Китае (2012–2022 гг.) и Казахстане (2022 г.). Наиболее вероятный ближайший общий предок всего кластера датировался 2010-м годом на территории Китая (вероятность 100 %). Однако по результатам филогенетической реконструкции общий предок изолятов, выделенных в 2018 г., датировался 2011-м годом на территории Китая (вероятность 100 %), тогда как общий предок изолятов, выделенных в Беларуси в 2017, 2023 гг. и в Казахстане в 2022 г., датировался 2015-м годом и также имел китайское происхождение (вероятность 100 %). При этом изолят 2023 г. достоверно группировался с казахскими изолятами 2022 г., их расхождение имело место в 2019 г.

Геновариант CVB5_BY4, который включал изоляты, циркулировавшие в Беларуси в 2017 г., входил в состав субгеногруппы A3 (рис. 6). Ближайший общий предок этих изолятов с вероятностью 84 % датировался 2015-м годом на территории Турции.

Геновариант CVB5_BY5 входил в состав субгеногруппы B2a (рис. 7) и включал изоляты, циркулировавшие в Беларуси в 2006–2007, 2016–2017 и 2021–2022 гг. Кластер объединял только вирусы, обнаруженные в нашей стране. Ближайший наиболее вероятный общий предок белорусских изолятов датировался 2005-м годом, а сформировалась эта генетическая линия в 2004 г. на территории Франции (вероятность 99 %). Начиная с 2006 г. этот геновариант циркулировал в Беларуси вплоть до 2022 г.

Геновариант CVB5_BY6 представлен одним изолятом и группировался в составе кластера, соответствующего субгеногруппе B2e (рис. 7). Данный изолят достоверно входил в одну группу вместе с вирусами, циркулировавшими в Польше и Великобритании в 2018 г. Наиболее вероятный их ближайший общий предок датировался 2016-м годом на территории Беларуси (вероятность 80 %).

Геновариант CVB5_BY7 включал изоляты, циркулировавшие в 2012 и 2017 гг. Он принадлежал к субгеногруппе B2f (рис. 7). Расхождение изолятов, формирующих данный кластер, от наиболее вероятного ближайшего общего предка с вероятностью 84 % имело место в 2008 г. на территории Франции. Кластер геноварианта CVB5_BY7 содержал только изоляты, идентифицированные на территории Беларуси.

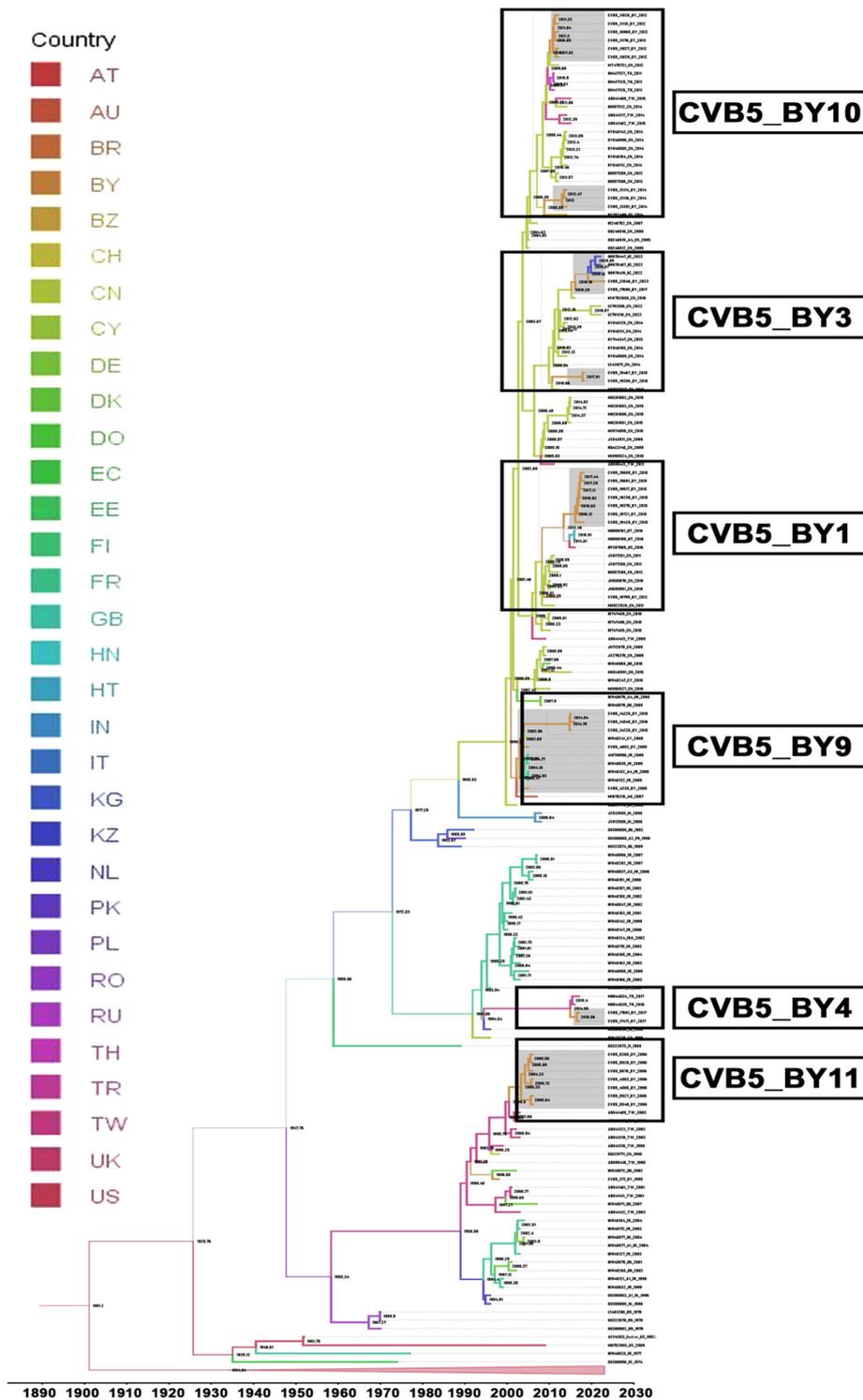


Рис. 6. Фрагмент древа с максимальной достоверностью клад (представлено на рис. 5), соответствующий геногруппе А вируса Коксаки В5. Серой заливкой выделены белорусские изоляты вируса, рамками обозначены кластеры различных геновариантов, циркулировавших в Беларуси. Цвет ветвей отражает наиболее вероятную страну происхождения. Легенда в левом верхнем углу содержит цветное обозначение стран, названия которых даны в соответствии с двухбуквенными кодами международной организации по стандартизации (ISO)

Fig. 6. Fragment of a maximum clade credibility tree from Fig. 5, corresponding to genogroup A of Coxsackie virus B5. Belarusian isolates of the virus are highlighted in gray shading; clusters of different genetic variants that circulated in Belarus are indicated by frames. The color of the branches represents the most probable country of origin. The legend in the upper left corner contains a color designation of countries, the names of which are given in accordance with the two-letter codes of the International Organization for Standardization (ISO)

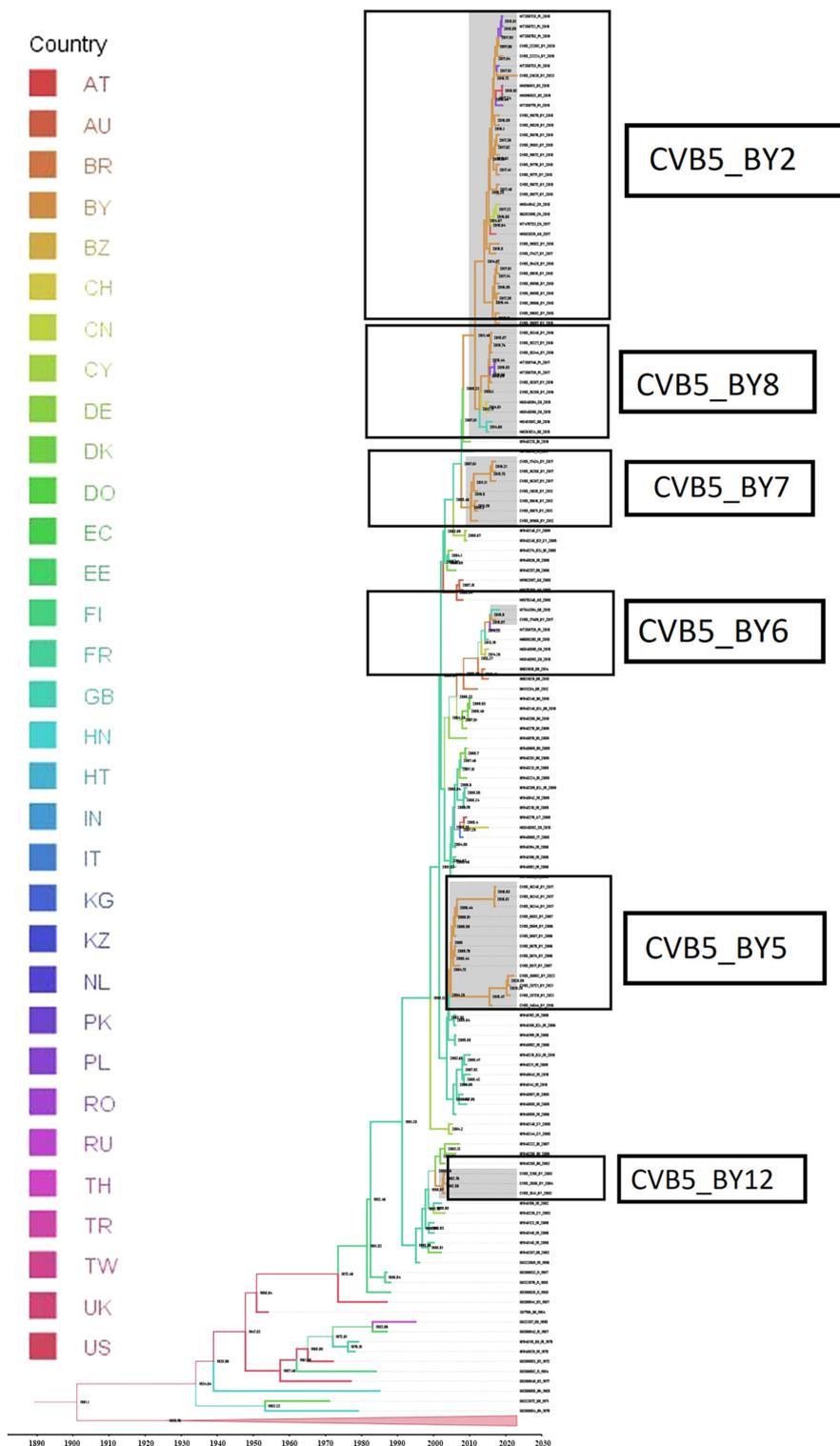


Рис. 7. Фрагмент дерева с максимальной достоверностью клад (представлено на рис. 5), соответствующий геногруппе В вируса Коксаки В5. Серой заливкой выделены белорусские изоляты вируса, рамками обозначены кластеры различных геновариантов, циркулировавших в Беларуси. Цвет ветвей отражает наиболее вероятную страну происхождения. Легенда в левом верхнем углу содержит цветовое обозначение стран, названия которых даны в соответствии с двухбуквенными кодами международной организации по стандартизации (ISO)

Fig. 7. Fragment of a maximum clade credibility tree from Fig. 5, corresponding to genogroup B of Coxsackie virus B5. Belarusian isolates of the virus are highlighted in gray shading; clusters of different genetic variants that circulated in Belarus are indicated by frames. The legend in the upper left corner contains a color designation of countries, the names of which are given in accordance with the two-letter codes of the International Organization for Standardization (ISO)

Геновариант CVB5_BY8, как и геноварианты CVB5_BY7 и CVB5_BY2, входил в состав субгеногруппы B2f (рис. 7). В кластере вместе с белорусскими изолятами, идентифицированными в 2016 г., группировались также вирусы, обнаруженные в Польше в 2017 г. Их наиболее вероятный ближайший общий предок датировался 2015-м годом на территории нашей страны (вероятность 100 %).

Геновариант CVB5_BY9 включал изоляты, циркулировавшие в Беларуси в 2005, 2015–2016 гг., и входил в состав субгеногруппы A4 (см. рис. 6). Ближайший общий предок этого геноварианта датировался 2003-м годом на территории Беларуси (вероятность 89 %). В состав кластера помимо изолятов, выделенных на территории Беларуси, достоверно входили вирусы Коксаки B5, циркулировавшие в 2005 г. во Франции и на Кипре.

Геновариант CVB5_BY10 объединял изоляты, циркулировавшие в Беларуси в 2012 и 2014 гг., и принадлежал субгеногруппе A4 (рис. 6). В состав общего кластера с белорусскими изолятами входили также вирусы, циркулировавшие на Тайване, в Китае, Таиланде и Бразилии. Наиболее вероятный ближайший общий предок кластера, соответствующего данному геноварианту, датировался 2007-м годом на территории Китая (вероятность 99 %). Изоляты, циркулировавшие в нашей стране в 2012 и 2014 гг., формировали два отдельных кластера, в состав которых входили также вирусы из других стран. Расхождение от ближайшего наиболее вероятного общего предка изолятов, циркулировавших в 2012 г., имело место в Китае и датировалось 2010-м годом (вероятность 96 %), а изоляты 2014 г. имели ближайшего общего предка с вирусами из Бразилии, датированного 2009-м годом, и с вероятностью 64 % эта ветвь также сформировалась на территории Китая.

Геновариант CVB5_BY11 циркулировал в Беларуси в 2006 г. и относится к субгеногруппе A1 (рис. 6). На дендрограмме все изоляты формировали единый монофилетический кластер. Наиболее вероятный общий предок датируется 2001-м годом на территории Тайваня с вероятностью 100 %.

Геновариант CVB5_BY12 объединял изоляты, идентифицированные во время крупной вспышки ЭВИ в Минске, Бресте, Минской и Брестской областях в 2003 г. (рис. 7), и группировался в составе субгеногруппы B1a. Данный геновариант имел наиболее вероятного общего предка, датируемого 2000-м годом, с вирусами, циркулировавшими в Дании в 2003–2006 гг. и в Германии в 2007 г. Предполагается, что страна его происхождения – Франция, однако вероятность этого довольно низкая – 59 %.

Результаты анализа аминокислотных последовательностей всех идентифицированных геновариантов Коксаки B5 представлены в табл. 3. В качестве референсных последовательностей использовали аминокислотные последовательности прототипных штаммов: Faulkner – для геновариантов геногруппы A, UK1954 – для геновариантов геногруппы B.

Т а б л и ц а 3. Локализация аминокислотных замен в основном капсидном белке различных геновариантов Коксаки B5

Table 3. Localization of amino acid substitutions in the major capsid protein of various genovariants of Coxsackie virus B5

Геновариант	Аминокислотные замены (по сравнению с прототипным штаммом Faulkner/UK1954)	Локализация обнаруженных аминокислотных замен
CVB5_BY1	7V, 90G, 91Y, 95S, 125T, 132Q, 200K, 268T, 273S	N-концевая часть – позиции 2, 4, 7, 13, 15, 16, 19, 52; βВ-цепь – позиция 75; В-С-петля, антигенный сайт – позиции 80, 82, 87; βС-цепь – позиции 90, 91; С-D-петля, антигенный сайт – позиции 95, 99; αА-βD-соединение – позиция 112; D-E-петля – позиции 125, 132; E-F-петля – позиция 156; βG1-цепь – позиция 180; βH-αF – позиция 200; С-концевая часть – позиции 268, 272, 273
CVB5_BY2	200R	
CVB5_BY3	3T, 7V, 19E (2018), 52Y (2018), 75F, 80R, 90G, 91Y, 95S, 125T, 132Q, 200K, 268T, 273S	
CVB5_BY4	7V, 75F, 80R, 91Y, 95S, 99A, 125T, 268T, 272Q, 273S	
CVB5_BY5	7I, 13P (2006), 200R	
CVB5_BY6	7I, 82Y, 200R	
CVB5_BY7	87N/D, 90T/A, 200R	
CVB5_BY8	7I, 82Y, 200R	
CVB5_BY9	7V, 12V (2015–2016), 75F, 90G, 91Y, 95S, 125T, 132Q, 268T, 273S	
CVB5_BY10	2L (2014), 7V, 75F, 90G, 91Y, 95S, 112V (2014), 125T, 132Q, 156V, 180M, 200K (2012), 268T, 273S	
CVB5_BY11	15E, 45S, 89I, 91Y, 125T, 132Q, 268T	
CVB5_BY12	13P, 15V, 16N, 200R	

Обсуждение. Вирус Коксаки B5 в разные годы являлся одним из доминирующих типов ЭВ в Нидерландах [11], Италии [12, 13], Бразилии [14], Китае [15], Иране [16]. По данным Национальной системы надзора за ЭВ в США, Коксаки B5 регулярно входит в 5–10 самых распространенных типов ЭВ [17]. На территории нашего государства вирус Коксаки B5 также являлся наиболее часто идентифицируемым типом ЭВ за весь период наблюдения [1]. Он регулярно вызывал крупные вспышки ЭВИ в разных странах мира [18], в том числе и в Республике Беларусь [19].

Впервые параллельная циркуляция двух генетических линий Коксаки B5 была обнаружена в Бельгии в 2000 г. и в Беларуси в 2003 и 2005 гг. [2, 20–22], что впоследствии было подтверждено анализом молекулярной эпидемиологии Коксаки B5 в глобальном масштабе [23, 24]. На сегодняшний день в пределах типа Коксаки B выделяют две геногруппы – Coxsackie virus B5-A (прототипный штамм Coxsackie virus B5 Faulkner, США, 1952 г.) и Coxsackie virus B5-B (прототипный штамм Coxsackie virus B5 UK 1954, Великобритания, 1954). В пределах геногруппы Coxsackie virus B5-A идентифицировано 5 субгеногрупп (Coxsackie virus B5-A0–Coxsackievirus B5-A4), внутри геногруппы Coxsackie virus B5-B выделяют три субгеногруппы (Coxsackie virus B5-B0–Coxsackie virus B5-B2). По классификации других исследователей выделяют четыре генотипа – субгеногруппы Coxsackie virus B5-A0 и Coxsackie virus B5-A1 классифицируют как два отдельных генотипа, прекративших циркуляцию, а геногруппы Coxsackie virus B5-A (за исключением Coxsackie virus B5-A0, A1) и Coxsackie virus B5-B – как генотипы, продолжающие циркуляцию [25].

На территории Беларуси в течение всего периода наблюдения имела место параллельная циркуляция вирусов двух геногрупп – Coxsackie virus B5-A, к которой относились геноварианты CVB5_BY1, CVB5_BY3, CVB5_BY4, CVB5_BY9, CVB5_BY10 и CVB5_BY11, и Coxsackie virus B5-B, к которой принадлежали геноварианты CVB5_BY2, CVB5_BY5, CVB5_BY6, CVB5_BY7, CVB5_BY8 и CVB5_BY12. Анализ филогенетической кластеризации белорусских изолятов показал, что часть геновариантов была сформирована гомогенными кластерами, включавшими только вирусы, циркулировавшие в Беларуси, тогда как другие были представлены смешанными кластерами, в которые входили вирусы, идентифицированные как в нашей стране, так и за рубежом. Все геноварианты, входившие в субгеногруппу A4 (CVB5_BY1, CVB5_BY3, CVB5_BY9 и CVB5_BY10), были гетерогенными и объединяли изоляты из Беларуси и других стран. Генетическая линия, к которой принадлежали все эти геноварианты, имела китайское происхождение, что подтверждает результаты, ранее полученные другими авторами [24, 25], а их ближайший общий предок с вероятностью 95 % датировался 2000-м годом на территории Китая. Первым из этой генетической линии на территории нашей страны появился геновариант CVB5_BY9, представленный изолятами, идентифицированными в Беларуси, во Франции и на Кипре в 2005 г. В других странах этот геновариант впоследствии исчез, а на территории Беларуси его циркуляция возобновилась в 2015–2016 гг. Можно предположить, что к этому привело увеличение количества неиммунного к данному геноварианту контингента. Следующими по времени появления были геноварианты CVB5_BY1 и CVB5_BY10. Геновариант CVB5_BY1, наиболее вероятно, был занесен на территорию Беларуси из Китая в 2008 г. и представлен белорусскими изолятами 2012 и 2018 гг., а также вирусами, идентифицированными в Китае (2010–2012 гг.), США и на Гаити (2016 г.). Белорусские изоляты этого геноварианта достоверно формировали общие кластеры с иностранными изолятами (изоляты 2012 г. – с китайскими, а изоляты 2018 г. – с американскими), что позволяет предположить не последовательную эволюцию данного геноварианта на территории страны, а несколько независимых заносов из других стран. Аналогичная ситуация имеет место в отношении геноварианта CVB5_BY10, который объединяет белорусские изоляты 2012 и 2014 гг., а также вирусы, идентифицированные на Тайване, в Китае, Таиланде и Бразилии. Изоляты 2012 г. достоверно имели общего предка с китайскими штаммами, датированного 2011 г., и, вероятно, занесенного с территории Китая в 2010 г., тогда как изоляты 2014 г. достоверно группировались с вирусом из Бразилии (их общий предок датировался 2009-м годом и, предположительно, также мог быть занесен из Китая, но вероятность этого довольно низкая – 64 %). Последний из геновариантов субгеногруппы A4 – CVB5_BY 3, который объединял изоляты, идентифицированные Беларусью в 2017, 2018 и 2023 гг., а также включал множество вирусов, циркулировавших в 2014–2022 г. в Китае и в 2022 г. в Казахстане. На основании результатов филогенетической

реконструкции (рис. 6), можно предположить, что данный геновариант циркулировал в основном в Китае, а на территорию нашей страны попадал вследствие нескольких независимых заносов оттуда.

Гетерогенные геноварианты Коксаки В5 были обнаружены и в составе геногруппы В, субгеногруппы Вf – CVB5_BY2 и CVB5_BY8. Генетическая линия, объединяющая эти геноварианты, сформировалась на территории нашей страны в 2011 г. (вероятность 99 %). Ближайший общий предок геноварианта CVB5_BY2, объединяющего вирусы, обнаруженные в Беларуси, Польше, США, Австралии и Китае в 2017–2023 гг., датируется на территории нашей страны 2014-м годом. Ближайший общий предок геноварианта CVB5_BY8, в который входят изоляты, идентифицированные в Беларуси и Польше в 2016–2017 гг., вероятно, сформировался в 2015 г. также на территории Беларуси.

Часть идентифицированных в нашей стране геновариантов Коксаки В5 была представлена гомогенными кластерами, содержащими только вирусы, обнаруженные в Беларуси. Среди геногруппы А к таким геновариантам можно отнести CVB5_BY4, предположительно занесенный в страну из Турции (вероятность 84 %) в 2015 г., и CVB5_BY11, ближайший общий предок которого, вероятно, был сформирован на территории Тайваня и датировался 2001-м годом. В составе геногруппы В геновариант CVB5_BY5 имел наиболее вероятного ближайшего общего предка с французскими изолятами, датированного 2004-м годом и с вероятностью 96 % попавшего в Беларусь с территории Франции. Данный геновариант циркулировал в Беларуси в 2006–2007 гг., после чего исчез из циркуляции на 10 лет и вновь появился в 2016–2017 гг., а затем в 2020–2021 гг. Ближайший общий предок геноварианта CVB5_BY7 датировался 2008-м годом во Франции (с довольно низкой вероятностью – 64 %), а в Беларуси он обнаруживался в 2012 г., а затем в 2017 г. Геновариант CVB5_BY12 циркулировал в 2003–2004 гг. и был этиологическим агентом вспышки серозного менингита в стране в 2003 г. наряду с вирусом ЕСНО 30. К сожалению, установить страну, на территории которой был сформирован его наиболее вероятный ближайший общий предок, с высокой вероятностью не удалось. Предположительно он датировался 2000-м годом во Франции, но вероятность этого всего 60 %.

Наиболее интересна хронология распространения геновариантов CVB5_BY5 и CVB5_BY9, которые вновь появлялись на территории страны спустя 10 лет после исчезновения, однако не были занесены извне. Кроме того, изоляты, время циркуляции которых было разделено 10 годами и более, имели крайне малое количество различий в нуклеотидных последовательностях гена *VPI* – от 1,3 до 2,1 % для CVB5_BY5 и от 1,1 до 1,3 % для CVB5_BY9. Аминокислотные различия были также незначительны: для геноварианта CVB5_BY5 изоляты 2006–2007 гг. содержали 13Р, а изоляты 2016–2022 гг. – 13R, для геноварианта CVB5_BY9 изоляты 2005 г. несли 12А в последовательности VP1, а изоляты 2015–2016 гг. – 12V. Принимая во внимание тот факт, что в среднем для ЭВ характерно накопление около 1 % мутаций в год, можно предположить, что эти геноварианты подвергались сильной пурифицирующей селекции. Повторное их появление, по-видимому, было связано с постепенным увеличением доли неиммунного к ним населения. Аналогичный характер циркуляции был обнаружен для геноварианта CVB5_BY7, однако первое и повторное его появление было разделено всего пятью годами (2012 и 2017 гг.).

Исходя из изложенного выше, очевидно, что часть геновариантов Коксаки В5, обнаруженных в Беларуси, имела глобальное распространение и одновременно обнаруживалась на территории разных стран, зачастую весьма удаленных географически. Кроме того, как видно из представленных данных, выявление одного и того же геноварианта на протяжении длительного времени могло быть обусловлено как продолжающейся циркуляцией его внутри страны (CVB5_BY5, CVB5_BY9, CVB5_BY7), так и множественными заносами извне (CVB5_BY1, CVB5_BY10).

К сожалению, не все страны и географические регионы представлены в равной степени нуклеотидными последовательностями ЭВ в GenBank, что, безусловно, не позволяет утверждать, что полученные нами результаты являются окончательными и не будут подвергаться пересмотру в будущем. Так, учитывая географическую близость, а также наиболее тесные социальные и экономические связи нашей страны с Россией, представляется странным отсутствие российских изолятов Коксаки В5, обладающих значительным генетическим сходством с исследуемыми. Этот факт можно объяснить крайне небольшим количеством нуклеотидных последовательностей

Коксаки В5, представленных российскими исследователями в GenBank. Продолжение исследований по молекулярному мониторингу ЭВ позволит расширить имеющиеся данные и получить новую ценную информацию, касающуюся как молекулярной эволюции ЭВ, так и общих эволюционных закономерностей вирусов.

Анализ аминокислотных замен, идентифицированных в последовательностях основного капсидного белка VP1, показал, что часть мутаций была характерна для всех геновариантов, принадлежащих одной геногруппе. Так, все геноварианты геногруппы Coxsackie virus B5-B имели замену 200R по сравнению с прототипным штаммом UK1954. Все геноварианты геногруппы Coxsackie virus B5-A имели замены 7V, 91Y, 125T, 268T по сравнению с прототипным штаммом Faulkner. Обнаруженная мутация 90G была общей для всех геновариантов, принадлежавших субгеногруппе Coxsackie virus B5-A4. Остальные мутации встречались либо у одного, либо у нескольких геновариантов, а в некоторых случаях мутации отмечались лишь у части изолятов, входивших в геновариант. Все мутации, обнаруженные у геновариантов Коксаки В5, ранее уже встречались у различных штаммов вируса, циркулировавших в других странах мира, и были описаны как нейтральные. При этом практически каждый геновариант, циркулировавший в Беларуси, имел уникальный, характерный только для него набор мутаций. Исключением являлись только геноварианты CVB5_BY6 и CVB5_BY8, которые имели идентичный набор мутаций в основном капсидном белке.

Заключение. В ходе проведенных исследований изучено генетическое разнообразие доминирующего на территории Беларуси в последние 20 лет вируса Коксаки В5. За 20 лет наблюдения идентифицировано 12 геновариантов вируса, принадлежавших к 2 ранее идентифицированным геногруппам и 5 субгеногруппам (A1, A3, A4, B1, B2), средняя доля нуклеотидных различий внутри геноварианта – $1,7 \pm 1,3$ %, между геновариантами – $17,0 \pm 5,6$ %. Циркуляция геновариантов, принадлежащих к различным геногруппам и субгеногруппам, регистрировалась параллельно на протяжении всего периода наблюдения. Различные геноварианты имели три основных паттерна циркуляции (длительная циркуляция на территории страны в течение 7–15 лет; длительная глобальная циркуляция и периодические заносы в Беларусь; кратковременная циркуляция в течение 1–3 лет). Страна происхождения ближайшего общего предка была установлена для 8 из 12 исследуемых геновариантов и включала Китай, Францию и Беларусь (вероятность 89–100 %). Время, отделяющее ближайшего общего предка от появления геноварианта в популяции составило от 1 до 7 лет, в среднем – $3,1 \pm 1,2$ года. Отдельные аминокислотные замены, идентифицированные в составе основного капсидного белка вирусов Коксаки В5, были общими для изолятов, принадлежащих к одной геногруппе, субгеногруппе, одному или нескольким геновариантам. Однако в совокупности набор мутаций у изолятов каждого геноварианта, за исключением геновариантов CVB5_BY6 и CVB5_BY8, был уникальным. При этом все мутации, обнаруженные у геновариантов Коксаки В5, ранее уже встречались у различных штаммов вируса, циркулировавших в других странах мира, и были описаны как нейтральные. Периодическое появление одних и тех же геновариантов вируса Коксаки В5 на территории нашей страны указывает на то, что основную роль в процессе их циркуляции играет не появление новых антигенных вариантов вследствие аминокислотных замен, а накопление достаточной неиммунной прослойки населения, восприимчивой к конкретному геноварианту.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Фено- и генетическое разнообразие энтеровирусов в Республике Беларусь, 2003–2022 / Н. В. Поклонская, Т. В. Амвросьева, З. Ф. Богуш [и др.] // Eurasian Journal of Applied Biotechnology. – 2023. – Vol. 4. – P. 64–76. <http://doi.org/10.11134/btp.4.2023.7>
2. Molecular typing and epidemiology of enteroviruses identified from an outbreak of aseptic meningitis in Belgium during the summer of 2000 / I. Thoelen, P. Lemey, I. van der Donck [et al.] // Journal of Medical Virology. – 2003. – Vol. 70, N 3. – P. 420–429. <https://doi.org/10.1002/jmv.10412>
3. Использование различных модификаций метода ПЦР при диагностике энтеровирусных инфекций / Н. В. Поклонская, Т. В. Амвросьева, О. В. Дьяконова, О. Б. Щербакова // Медицинские новости. – 2004. – № 1. – С. 91–93.

4. Модифицированный метод гнездовой полимеразной цепной реакции в одной пробирке для детекции энтеровирусов / Н. В. Поклонская, Т. В. Амвросьева, О. В. Дьяконова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 4. – С. 46–47.
5. Kumar, S. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets / S. Kumar, G. Stecher, K. Tamura // *Molecular Biology and Evolution*. – 2016. – Vol. 33, N 7. – P. 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
6. NCBI BLAST: a better web interface / M. Johnson, I. Zaretskaya, Y. Raytselis [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2008. – Vol. 36, iss. 2. – P. W5–W9. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn201>
7. Relaxed phylogenetics and dating with confidence / A. J. Drummond, S. Y. Ho, M. J. Phillips, A. Rambaut // *PLoS Biology*. – 2006. – Vol. 4, N 5. – P. e88. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040088>
8. Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10 / M. A. Suchard, P. Lemey, G. Baele [et al.] // *Virus Evolution*. – 2018. – Vol. 4, N 1. – P. vey016. <https://doi.org/10.1093/ve/vey016>
9. Posterior summarization in Bayesian Phylogenetics using Tracer 1.7 / A. Rambaut, A. J. Drummond, D. Xie [et al.] // *Systematic Biology*. – 2018. – Vol. 67, N 5. – P. 901–904. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032>
10. Glanz, S. A. Primer of Biostatistics / S. A. Glanz. – 4th ed. – New York: McGraw-Hill Inc., 1997. – 473 p.
11. Changes in enterovirus epidemiology after easing of lockdown measures / E. L. Forero, M. Knoester, L. Gard [et al.] // *Journal of Clinical Virology*. – 2023. – Vol. 169. – Art. 105617. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2023.105617>
12. Echovirus 11 lineage I and other enterovirus in hospitalized children with acute respiratory infection in Southern Italy (2022–2023) / D. Loconsole, F. Centrone, A. Sallustio [et al.] // *International Journal of Infectious Diseases*. – 2024. – Vol. 146. – Art. 107091. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2024.107091>
13. Poliovirus and other enteroviruses from environmental surveillance in Italy, 2009–2015 / R. Delogu, A. Battistone, G. Buttinelli [et al.] // *Food and Environmental Virology*. – 2018. – Vol. 10, N 4. – P. 333–342. <https://doi.org/10.1007/s12560-018-9350-8>
14. Analysis of coxsackievirus B5 infections in the central nervous system in Brazil: insights into molecular epidemiology and genetic diversity / R. S. Machado, F. Gomes-Neto, M. L. Aguiar-Oliveira [et al.] // *Viruses*. – 2022. – Vol. 14, N 5. – Art. 899. <https://doi.org/10.3390/v14050899>
15. Prevalence of non-polio enteroviruses in the Sewage of Guangzhou City, China, from 2013 to 2021 / S. Huang, Y. Zhang, W. Zhang [et al.] // *Microbiology Spectrum*. – 2023. – Vol. 11, N 3. – P. e0363222. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03632-22>
16. Farshadpour, F. Molecular epidemiology of enteroviruses and predominance of echovirus 30 in an Iranian population with aseptic meningitis / F. Farshadpour, R. Taherkhani // *Journal of Neurovirology*. – 2021. – Vol. 27, N 3. – P. 444–451. <https://doi.org/10.1007/s13365-021-00973-1>
17. NESS Surveillance Data (May 9, 2024) // National Enterovirus Surveillance System. – URL: https://www.cdc.gov/ness/data-vis/index.html#cdc_data_surveillance_section_2-2021-data-summary (date of access: 29.06.2024).
18. An outbreak of aseptic meningitis caused by a distinct lineage of coxsackievirus B5 in China / N. Liu, L. Jia, J. Yin [et al.] // *International Journal of Infectious Diseases*. – 2014. – Vol. 23. – P. 101–104. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2014.02.005>
19. Enteroviral infection outbreak in the Republic of Belarus: principal characteristics and phylogenetic analysis of etiological agents / T. V. Amvrosieva, N. V. Paklonskaya, A. A. Biazruchka [et al.] // *Central European Journal of Public Health*. – 2006. – Vol. 14, N 2. – P. 67–73. <https://doi.org/10.21101/cejph.a3369>
20. Генетические характеристики и филогенетический анализ энтеровирусов, вызвавших вспышечную и sporadическую заболеваемость в г. Минске в 2003–2005 гг. / Н. В. Поклонская, Е. П. Кишкурно, Т. В. Амвросьева, А. А. Безручко // *Военная медицина*. – 2007. – № 2. – С. 90–94.
21. Филогенетический анализ вирусов ЕСНО 6 и Коксаки B5, вызвавших вспышки и сезонные подъемы заболеваемости энтеровирусной инфекцией / Н. В. Поклонская, А. А. Безручко, Т. В. Амвросьева [и др.] // *Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. / НИИ эпидемиол. и микробиол. М-ва здравоохранения Респ. Беларусь*. – Минск, 2008. – Вып. 1. – С. 52–57.
22. Безручко, А. А. Генетические характеристики и филогенетические взаимоотношения эпидемически значимых возбудителей энтеровирусной инфекции в Республике Беларусь: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.06 / Безручко Алексей Анатольевич; НИИ эпидемиол. и микробиол. М-ва здравоохранения Респ. Беларусь. – Минск, 2009. – 22 с.
23. Characterization of a putative ancestor of coxsackievirus B5 / M. Gullberg, C. Tolf, N. Jonsson [et al.] // *Journal of Virology*. – 2010. – Vol. 84, N 19. – P. 9695–9708. <https://doi.org/10.1128/jvi.00071-10>
24. Phylogenetic patterns of human coxsackievirus B5 arise from population dynamics between two genogroups and reveal evolutionary factors of molecular adaptation and transmission / C. Henquell, A. Mirand, J. Richter [et al.] // *Journal of Virology*. – 2013. – Vol. 87, N 22. – P. 12249–12259. <https://doi.org/10.1128/JVI.02075-13>
25. Molecular epidemiology reveals the co-circulation of two genotypes of Coxsackievirus B5 in China / Y. He, H. Wei, L. Wei [et al.] // *Viruses*. – 2022. – Vol. 14, N 12. – Art. 2693. <https://doi.org/10.3390/v14122693>

References

1. Poklonskaya N. V., Amvros'eva T. V., Bogush Z. F., Shilova Yu. A., Koltunova Yu. B., Dashkevich A. M., Zapol'skaya V. V., Kishkurno E. P. Phenotypic and genetic diversity of enteroviruses in the Republic of Belarus, 2003–2022. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*, 2023, vol. 4, pp. 64–76. <https://doi.org/10.11134/btp.4.2023.7>
2. Thoelen I., Lemey P., Van Der Donck I., Beuselincx K., Lindberg A. M., Van Ranst M. Molecular typing and epidemiology of enteroviruses identified from an outbreak of aseptic meningitis in Belgium during the summer of 2000. *Journal of Medical Virology*, 2003, vol. 70, no. 3, pp. 420–429. <https://doi.org/10.1002/jmv.10412>

3. Poklonskaya N. V., Amvros'eva T. V., D'yakonova O. V., Shcherbakova O. B. The use of various modifications of the PCR method in the diagnosis of enteroviral infections. *Meditinskije novosti* [Medical news], 2004, no. 1, pp. 91–93 (in Russian).
4. Poklonskaya N. V., Amvros'eva T. V., D'yakonova O. V., Shcherbakova O. B., Voilokova R. Ya. Modified one-tube nested polymerase chain reaction method for detection of enteroviruses. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* [Russian Clinical Laboratory Diagnostics], 2004, no. 4, pp. 46–47 (in Russian).
5. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, vol. 33, no. 7, pp. 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
6. Johnson M., Zaretskaya I., Raytselis Y., Merezhuk Y., McGinnis S., Madden T. L. NCBI BLAST: a better web interface. *Nucleic Acids Research*, 2008, vol. 36, iss. 2, pp. W5–W9. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn201>
7. Drummond A. J., Ho S. Y., Phillips M. J., Rambaut A. Relaxed phylogenetics and dating with confidence. *PLoS Biology*, 2006, vol. 4, no. 5, pp. e88. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040088>
8. Suchard M. A., Lemey P., Baele G., Ayres D. L., Drummond A. J., Rambaut A. Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus Evolution*, 2018, vol. 4, no. 1, p. vey016. <https://doi.org/10.1093/ve/vey016>
9. Rambaut A., Drummond A. J., Xie D., Baele G., Suchard M. A. Posterior summarization in Bayesian Phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, 2018, vol. 67, no. 5, pp. 901–904. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032>
10. Glanz S. A. *Primer of Biostatistics. 4th ed.* New York, McGraw-Hill Inc., 1997. 473 p.
11. Forero E. L., Knoester M., Gard L., Ott A., Brandenburg A. H., McCall M. B. B., Niesters H. G. M., Van Leer-Buter C. Changes in enterovirus epidemiology after easing of lockdown measures. *Journal of Clinical Virology*, 2023, vol. 169, art. 105617. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2023.105617>
12. Loconsole D., Centrone F., Sallustio A., Casulli D., Zagaria R., Sacco D. [et al.]. Echovirus 11 lineage I and other enterovirus in hospitalized children with acute respiratory infection in Southern Italy (2022–2023). *International Journal of Infectious Diseases*, 2024, vol. 146, art. 107091. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2024.107091>
13. Delogu R., Battistone A., Buttinelli G., Fiore S., Fontana S., Amato C. [et al.]. Poliovirus and other enteroviruses from environmental surveillance in Italy, 2009–2015. *Food and Environmental Virology*, 2018, vol. 10, no. 4, pp. 333–342. <https://doi.org/10.1007/s12560-018-9350-8>
14. Machado R. S., Gomes-Neto F., Aguiar-Oliveira M. L., Burlandy F. M., Tavares F. N., da Silva E. E., Sousa I. P. Jr. Analysis of coxsackievirus B5 infections in the central nervous system in Brazil: insights into molecular epidemiology and genetic diversity. *Viruses*, 2022, vol. 14, no. 5, art. 899. <https://doi.org/10.3390/v14050899>
15. Huang S., Zhang Y., Zhang W., Chen M., Li C., Guo X. [et al.]. Prevalence of non-polio enteroviruses in the sewage of Guangzhou City, China, from 2013 to 2021. *Microbiology Spectrum*, 2023, vol. 11, no. 3, p. e0363222. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03632-22>
16. Farshadpour F., Taherkhani R. Molecular epidemiology of enteroviruses and predominance of echovirus 30 in an Iranian population with aseptic meningitis. *Journal of Neurovirology*, 2021, vol. 27, no. 3, pp. 444–451. <https://doi.org/10.1007/s13365-021-00973-1>
17. NESS Surveillance Data (May 9, 2024). *National Enterovirus Surveillance System*. Available at: https://www.cdc.gov/ness/data-vis/index.html#cdc_data_surveillance_section_2-2021-data-summary (accessed 29.06.2024).
18. Liu N., Jia L., Yin J., Wu Z., Wang Z., Li P., Hao R., Wang L., Wang Y., Qiu S., Song H. An outbreak of aseptic meningitis caused by a distinct lineage of coxsackievirus B5 in China. *International Journal of Infectious Diseases*, 2014, vol. 23, pp. 101–104. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2014.02.005>
19. Amvrosieva T. V., Paklonskaya N. V., Biazruchka A. A., Kazinetz O. N., Bohush Z. F., Fisenko E. G. Enteroviral infection outbreak in the Republic of Belarus: principal characteristics and phylogenetic analysis of etiological agents. *Central European Journal of Public Health*, 2006, vol. 14, no. 2, pp. 67–73. <https://doi.org/10.21101/cejph.a3369>
20. Poklonskaya N. V., Kishkurno E. P., Amvros'eva T. V., Bezruchko A. A. Genetic characteristics and phylogenetic analysis of enteroviruses that caused outbreak and sporadic morbidity in Minsk in 2003–2005. *Voennaya meditsina* [Military medicine], 2007, no. 2, pp. 90–94 (in Russian).
21. Poklonskaya N. V., Bezruchko A. A., Amvros'eva T. V., Bogush Z. F., Kazinets O. N., Dedyulya K. L. Phylogenetic analysis of ECHO 6 and Coxsackie B5 viruses caused outbreaks and seasonal rises of morbidity in Belarus. *Sovremennye problemy infektsionnoi patologii cheloveka: sbornik nauchnykh trudov* [Modern problems of human infectious pathology: collection of scientific papers]. Minsk, 2008, iss. 1, pp. 52–57 (in Russian).
22. Bezruchko A. A. *Genetic characteristics and phylogenetic relationships of epidemically significant pathogens of enterovirus infection in the Republic of Belarus*. Abstract of Ph. D. diss. Minsk, 2009. 22 p. (in Russian).
23. Gullberg M., Tolf C., Jonsson N., Mulders M. N., Savolainen-Kopra C., Hovi T., Van Ranst M., Lemey P., Hafenstein S., Lindberg A. M. Characterization of a putative ancestor of coxsackievirus B5. *Journal of Virology*, 2010, vol. 84, no. 9, pp. 9695–9708. <https://doi.org/10.1128/jvi.00071-10>
24. Henquell C., Mirand A., Richter J., Schuffenecker I., Böttiger B., Diedrich S., Terletskaia-Ladwig E., Christodoulou C., Peigue-Lafeuille H., Bailly J. L. Phylogenetic patterns of human coxsackievirus B5 arise from population dynamics between two genogroups and reveal evolutionary factors of molecular adaptation and transmission. *Journal of Virology*, 2013, vol. 87, no. 22, pp. 12249–12259. <https://doi.org/10.1128/JVI.02075-13>
25. He Y., Wei H., Wei L., Fan H., Yan D., Zhao H. [et al.]. Molecular epidemiology reveals the co-circulation of two genotypes of Coxsackievirus B5 in China. *Viruses*, 2022, vol. 14, no. 12, art. 2693. <https://doi.org/10.3390/v14122693>

Информация об авторах

Поклонская Наталья Владимировна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0001-6431-5050>. E-mail: labsanvir@gmail.com

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). <https://orcid.org/0000-0001-7309-152X>. E-mail: amvrosieva@gmail.com

Богущ Зоя Федоровна – 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). <https://orcid.org/0000-0002-6488-9422>. E-mail: labsanvir@gmail.com

Бельская Инна Валерьевна – науч. сотрудник. Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (ул. Филимонова, 23, 220114, г. Минск, Республика Беларусь). <https://orcid.org/0000-0003-4044-6827>. E-mail: labsanvir@gmail.com

Information about the authors

Natalia V. Paklonskaya – Ph. D. (Biol.), Leading Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0001-6431-5050>. E-mail: labsanvir@gmail.com

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). <https://orcid.org/0000-0001-7309-152X>. E-mail: amvrosieva@gmail.com

Zoya F. Bogush – 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). <https://orcid.org/0000-0002-6488-9422>. E-mail: labsanvir@gmail.com

Ina V. Belskaya – Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (23, Filimonov Str., 220114, Minsk, Republic of Belarus). <https://orcid.org/0000-0003-4044-6827>. E-mail: labsanvir@gmail.com