

МЕДИЦИНА ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ СИТУАЦИЙ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ ФМБА РОССИИ

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР Вероника Скворцова, д. м. н., профессор, член-корр. РАН

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА Игорь Берзин, д. м. н., профессор; Дарья Крючко, д. м. н., доцент

НАУЧНЫЕ РЕДАКТОРЫ Всеволод Белоусов, д. м. н., профессор, член-корр. РАН; Антон Кескинов, к. м. н.

ПЕРЕВОДЧИКИ Надежда Тихомирова, Вячеслав Витюк

ДИЗАЙН И ВЕРСТКА Марины Дорониной

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

В. К. Агапов, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

А. В. Богомолов, д. т. н., профессор (Москва, Россия)

А. Н. Бойко, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

И. В. Борисевич, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

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

Р. Валента, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

Н. А. Дайхес, д. м. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

С. В. Дударенко, д. м. н., доцент (Санкт-Петербург, Россия)

Л. А. Ильин, д. м. н., профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Ю. В. Лобзин, д. м. н., профессор, академик РАН (Санкт-Петербург, Россия)

В. В. Никифоров, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

В. Н. Олесова, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

Р. В. Петров, д. м. н., профессор, академик РАН (Москва, Россия)

А. С. Радилев, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

В. Р. Рембовский, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

А. С. Самойлов, д. м. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

В. И. Сергиенко, д. м. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

С. В. Сидоркевич, д. м. н. (Москва, Россия)

А. В. Троицкий, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

И. Б. Ушаков, д. м. н., профессор, академик РАН (Москва, Россия)

М. Р. Хаитов, д. м. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

С. М. Юдин, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

А. В. Аклев, д. м. н., профессор (Челябинск, Россия)

С. А. Аракелов, к. б. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

В. П. Баклашев, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

М. О. Дегтева, к. т. н. (Челябинск, Россия)

Н. В. Ефименко, д. м. н., профессор (Пятигорск, Россия)

Е. В. Казакевич, д. м. н., профессор (Архангельск, Россия)

В. П. Катунцев, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

В. А. Климанов, д. ф.-м. н., профессор (Москва, Россия)

Д. В. Клинов, к. ф.-м. н. (Москва, Россия)

Н. А. Кошурникова, д. м. н., профессор (Озерск, Россия)

И. П. Миннуллин, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

И. Г. Мосягин, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

О. М. Панасенко, д. б. н., профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

В. А. Рогожников, д. м. н. (Москва, Россия)

С. А. Романов, к. б. н. (Озерск, Россия)

С. А. Сотниченко, д. м. н. (Владивосток, Россия)

Т. Г. Суранова, к. м. н., доцент (Москва, Россия)

Р. М. Тахауов, д. м. н., профессор (Северск, Россия)

Н. К. Шандала, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

С. М. Шинкарев, д. т. н. (Москва, Россия)

Г. А. Шипулин, к. м. н. (Москва, Россия)

Т. В. Яковлева, д. м. н. (Москва, Россия)

ПОДАЧА РУКОПИСЕЙ editor@fmba.press

ПЕРЕПИСКА С РЕДАКЦИЕЙ editor@fmba.press

СОТРУДНИЧЕСТВО manager@fmba.press

АДРЕС РЕДАКЦИИ Волоколамское шоссе, д. 30, стр. 1, г. Москва, 123182, Россия

Журнал включен в Scopus в 2022 г.

Журнал включен в РИНЦ IF 2018: 0,570

Журнал включен в Перечень 31.01.2020 (№ 1292)

Здесь находится открытый архив журнала

Scopus®

НАУЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ
БИБЛИОТЕКА
LIBRARY.RU



ВЫСШАЯ
АТТЕСТАЦИОННАЯ
КОМИССИЯ (ВАК)

CYBERLENINKA

DOI выпуска: 10.47183/mes.2022-02

Свидетельство о регистрации средства массовой информации № ФС77-25124 от 27 июля 2006 года

Учредитель и издатель: Федеральное медико-биологическое агентство fmba.gov.ru

Журнал распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International www.creativecommons.org



Подписано в печать 30.06.2022

Тираж 500 экз. Отпечатано в типографии Print.Formula
www.print-formula.ru

EXTREME MEDICINE

SCIENTIFIC AND PRACTICAL REVIEWED JOURNAL OF FMBA OF RUSSIA

EDITOR-IN-CHIEF Veronika Skvortsova, DSc, professor, RAS corresponding member

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF Igor Berzin, DSc, professor; Daria Kryuchko, DSc

EDITORS Vsevolod Belousov, DSc, professor, RAS corresponding member; Anton Keskinov, PhD

TRANSLATORS Nadezda Tikhomirova, Vyacheslav Vityuk

DESIGN AND LAYOUT Marina Doronina

EDITORIAL BOARD

Agapov VK, DSc, professor (Moscow, Russia)
Bogomolov AV, DSc, professor (Moscow, Russia)
Boyko AN, DSc, professor (Moscow, Russia)
Borisevich IV, DSc, professor (Moscow, Russia)
Bushmanov AY, DSc, professor (Moscow, Russia)
Valenta R, PhD, professor (Moscow, Russia)
Daikhes NA, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Dudarenko SV, DSc (Saint-Petersburg, Russia)
Ilyin LA, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Lobzin YV, member of RAS, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)
Nikiforov VV, DSc, professor (Moscow, Russia)

Olesova VN, DSc, professor (Moscow, Russia)
Petrov RV, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Sadilov AS, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)
Rembovsky VR, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)
Samoilov AS, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Sergienko VI, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Sidorcevich SV, DSc (Moscow, Russia)
Troitsky AV, DSc, professor (Moscow, Russia)
Ushakov IB, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Khaitov MR, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Yudin SM, DSc, professor (Moscow, Russia)

ADVISORY BOARD

Akleev AV, DSc, professor (Chelyabinsk, Russia)
Arakelov SA, PhD, professor (Saint-Petersburg, Russia)
Baklaushev VP, DSc, professor (Moscow, Russia)
Degteva MO, PhD (Chelyabinsk, Russia)
Efimenko NV, DSc, professor (Pyatigorsk, Russia)
Kazakevich EV, DSc, professor (Arkhangelsk, Russia)
Katuntsev VP, DSc, professor (Moscow, Russia)
Klimanov VA, DSc, professor (Moscow, Russia)
Klinov DV, PhD (Moscow, Russia)
Koshurnikova NA, DSc, professor (Ozersk, Russia)
Minnullin IP, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)

Mosyagin IG, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)
Panasenko OM, DSc, member of RAS, professor (Moscow, Russia)
Rogozhnikov VA, DSc, (Moscow, Russia)
Romanov SA, PhD (Ozersk, Russia)
Sotnichenko SA, DSc (Vladivostok, Russia)
Suranova TG, PhD, docent (Moscow, Russia)
Takhauov RM, DSc, professor (Seversk, Russia)
Shandala NK, DSc, professor (Moscow, Russia)
Shinkarev SM, DSc (Moscow, Russia)
Shipulin GA, PhD (Moscow, Russia)
Yakovleva TV, DSc (Moscow, Russia)

SUBMISSION editor@fmba.press

CORRESPONDENCE editor@fmba.press

COLLABORATION manager@fmba.press

ADDRESS Volokolamskoe shosse, 30, str. 1, Moscow, 123182, Russia

Indexed in Scopus in 2022

Scopus®

Indexed in RSCI. IF 2018: 0,570

НАУЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ
БИБЛИОТЕКА
LIBRARY.RU

Listed in HAC 31.01.2020 (№ 1292)



ВЫСШАЯ
АТТЕСТАЦИОННАЯ
КОМИССИЯ (ВАК)

Open access to archive

CYBERLENINKA

Issue DOI: 10.47183/mes.2022-02

The mass media registration certificate № 25124 issued on July 27, 2006

Founder and publisher: Federal medical-biological agency fmba.gov.ru

The journal is distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License www.creativecommons.org



Approved for print 30.06.2022

Circulation: 500 copies. Printed by Print.Formula
www.print-formula.ru

ОБЗОР	5
Роль белков LINC-комплекса в формировании сперматозоидов С. Ю. Курчашова, Т. В. Гасанова, Е. Е. Брагина Role of LINC complex proteins in sperm formation Kurchashova SYu, Gasanova TV, Bragina EE	
ОБЗОР	14
Методы профилактики и терапии судорожного синдрома при отравлении конвульсантами холинергического ряда В. Н. Зорина, Е. А. Евдокимова, В. Л. Рейнюк Methods for prevention and treatment of convulsive disorders associated with cholinergic convulsant intoxication Zorina VN, Evdokimova EA, Rejniuk VL	
ОБЗОР	22
Первичная медицинская сортировка пациентов с COVID-19 на догоспитальном этапе М. А. Черкашин, Н. С. Березин, Н. А. Березина, А. А. Николаев, Д. И. Куплевацкая, В. И. Куплевацкий, Т. М. Ракова, И. С. Щепарев Primary pre-hospital triage of patients with COVID-19 Cherkashin MA, Berezin NS, Berezina NA, Nikolaev AA, Kuplevatskaya DI, Kuplevatsky VI, Rakova TM, Shcheparev IS	
ОБЗОР	33
Омиксные технологии в диагностике <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Ю. А. Беспятых, Д. В. Басманов Omics technologies in the diagnostics of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Bespyatykh JA, Basmanov DV	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	42
Нейрофизиологическое исследование речевой функции у лиц, перенесших легкую форму COVID-19 С. А. Гуляев, Ю. А. Воронкова, Т. А. Абрамова, Е. А. Ковражкина Neurophysiological assessment of speech function in individuals having a history of mild COVID-19 Gulyaev SA, Voronkova YuA, Abramova TA, Kovrazhkina EA	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	50
Церебральный энергообмен у работников ядерно опасных предприятий и производств с низким уровнем психофизиологической адаптации З. Ф. Зверева, Ф. С. Торубаров, Н. П. Ванчакова, Е. А. Денисова Cerebral energy exchange in employees of hazardous nuclear facilities and productions with the low degree of psychophysiological adaptation Zvereva ZF, Torubarov FS, Vanchakova NP, Denisova EA	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	56
Динамика гуморального иммунного ответа к SARS-CoV-2 в профессионально однородной группе людей за двухлетний эпидемический период COVID-19 В. Г. Помелова, Т. А. Быченкова, Н. И. Бекман, Н. С. Осин, Ю. Н. Ишков, К. К. Стяжкин Dynamics of humoral immunity to SARS-CoV-2 in the professionally homogeneous group of people over a two-year period of COVID-19 outbreak Pomelova VG, Bychenkova TA, Bekman NI, Osin NS, Ishkov YuN, Styazhkin KK	
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	65
Субпопуляционный состав Т-хелперов в периферической крови хронически облученных лиц в отдаленном периоде А. И. Котикова, Е. А. Блинова, А. В. Аклейев Subpopulation composition of T-helpers in the peripheral blood of persons chronically exposed to radiation in the long term Kotikova AI, Blinova EA, Akleyev AV	

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

74

Оценка влияния пандемии COVID-19 на общий коэффициент смертности населения Озерского городского округа

М. В. Осипов, В. А. Соколова, А. С. Кушнир

Evaluation of the impact of COVID-19 pandemic on overall mortality in Ozyorsk urban district

Osipov MV, Sokolova VA, Kushnir AS

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

81

Скрининг активности инкорпорированных радионуклидов у персонала научно-исследовательской организации

Ю. С. Турлаков, Ю. В. Грабский, Д. В. Арефьева, А. А. Шаяхметова, В. Б. Фирсанов, А. В. Петушок

Screening the activity of incorporated radionuclides in the research organization employees

Turlakov YuS, Grabsky YuV, Arefeva DV, Shayakhmetova AA, Firsanov VB, Petushok AV

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

87

Психологическое благополучие заведующих отделениями медицинских организаций

А. В. Кочубей, С. Ю. Яроцкий, В. В. Кочубей

Psychological well-being of the department heads at healthcare organizations

Kochubey AV, Yarotsky SYu, Kochubey VV

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

94

Медицинская реабилитация в спорте высших достижений после реконструкции передней крестообразной связки коленного сустава

Р. А. Бойченко, С. В. Горнов

Medical rehabilitation of high performance athletes after reconstruction of anterior cruciate ligament of the knee

Boichenko RA, Gornov SV

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

101

Ранняя комплексная реабилитация пациента с постоперационной дисфагией

О. С. Орлова, М. Ш. Магомед-Эминов, Д. В. Уклонская, Ю. М. Зборовская

Early comprehensive rehabilitation of patient with postoperative dysphagia

Orlova OS, Magomed-Eminov MSh, Uklonskaya DV, Zborovskaya YuM

РОЛЬ БЕЛКОВ LINC-КОМПЛЕКСА В ФОРМИРОВАНИИ СПЕРМАТОЗОИДОВ

С. Ю. Курчашова¹✉, Т. В. Гасанова³, Е. Е. Брагина^{1,2}¹ Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия² Медико-генетический научный центр имени Н. П. Бочкова, Москва, Россия³ Биологический факультет Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Процесс сперматогенеза характеризуется значительными изменениями в трехмерной организации ядер в сперматоцитах, сперматиде и сперматозоиде. Элонгация ядра, биогенез акросомы, формирование жгутика требуют функциональной кооперации между белками ядерной оболочки и акроплаксомы/манжеты. Помимо этого, ядерная оболочка обеспечивает неслучайное распределение хромосом в ядре. Белки комплекса, связывающего нуклеоскелет и цитоскелет (linker of nucleoskeleton and cytoskeleton, LINC), участвуют во взаимодействии цито- и нуклеоскелета, а также управляют механотрансдукцией. В состав LINC-комплекса входят белки внешней и внутренней мембраны KASH и SUN соответственно. Белки LINC-комплекса вовлечены в формирование головки и жгутика сперматозоида, таким образом, они необходимы для мужской фертильности. В обзоре представлены вопросы локализации белков LINC-комплекса в клетках на последовательных стадиях сперматогенеза, роль в регуляции созревания сперматозоидов и мутации белков LINC-комплекса, приводящие к мужскому бесплодию.

Ключевые слова: LINC-комплекс, ядерная ламина, ядерные поры, глобулозооспермия, бесплодие**Финансирование:** работа была выполнена при поддержке Научно-образовательной школы МГУ им. М. В. Ломоносова «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология».✉ **Для корреспонденции:** Светлана Юрьевна Курчашова
Ленинские горы, д. 1, стр. 40, г. Москва, 119992; svetlanak@belozersky.msu.ru svetak99@mail.ru**Статья получена:** 27.05.2022 **Статья принята к печати:** 11.06.2022 **Опубликована онлайн:** 30.06.2022**DOI:** 10.47183/mes.2022.023

ROLE OF LINC COMPLEX PROTEINS IN SPERM FORMATION

Kurchashova SYu¹✉, Gasanova TV³, Bragina EE^{1,2}¹ Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia² Bochkov Medical Genetic Research Center, Moscow, Russia³ Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Spermatogenesis is characterized by the significant changes of three-dimensional organization of the nucleus in spermatocytes, spermatides and spermatozoa. The functional cooperation between the nuclear envelope proteins and the acroplaxome/manchette is essential for nuclear elongation, acrosome biogenesis, formation of the flagellum. Furthermore, the nuclear envelope ensures the non-random chromosome arrangement within the nucleus. The LINC (linker of nucleoskeleton and cytoskeleton) complex proteins are involved in interaction between the cytoskeleton and the nucleoskeleton, as well as in the control of mechanotransduction. The LINC complex contains proteins of the outer and inner nuclear membranes: KASH and SUN, respectively. The LINC complex proteins are involved in formation of the sperm head and flagellum, and are, therefore, essential for male fertility. This review will consider the issues of the LINC complex protein localization in cells during the successive stages of spermatogenesis, the role in regulation of sperm maturation, and mutations of the LINC complex proteins resulting in male infertility.

Keywords: LINC complex, nuclear lamina, nuclear pores, globozoospermia, male infertility**Funding:** this research was supported by the Interdisciplinary Scientific and Educational School of Lomonosov Moscow State University "Molecular Technologies of the Living Systems and Synthetic Biology".✉ **Correspondence should be addressed:** Svetlana Yu. Kurchashova
Leninskie gory, 1–40, Moscow, 119992, Russia; svetak99@mail.ru**Received:** 27.05.2022 **Accepted:** 11.06.2022 **Published online:** 30.06.2022**DOI:** 10.47183/mes.2022.023

Процесс сперматогенеза, ответственный за дифференцировку сперматозоидов, координирован в пространстве и времени. В ходе него мужские зародышевые клетки проходят три фундаментальные фазы изменений: самообновление сперматогонимальных стволовых клеток; пролиферация сперматогониев; мейоз сперматоцитов до гаплоидных круглых сперматид и морфогенез сперматид до сперматозоидов. Сперматозоид приобретает гидродинамическую форму, структуры ядра изменяются, что обеспечивает спаривание в мейозе гомологичных хромосом, формирование гаплоидных клеток, экстремальную конденсацию хроматина для защиты родительского генома от химического и физического стресса и уменьшения размера головки. Во время сперматогенеза в круглых сперматиде происходят формирование акросомы и жгутика, элиминация цитоплазмы, а также конденсация ядра, что требует замещения гистонов

хроматина на протамины. Изменения, затрагивающие ядерную оболочку, захватывают как внутреннюю, так и внешнюю мембраны. Внешняя мембрана вовлечена в позиционирование и перемещение ядра, внутренняя ассоциирована с ламинной — белковой трехмерной сетью из ламин и ламиноассоциированных белков, а также хроматином. Она регулирует широкий спектр функций ядра, таких как организация хроматина, транскрипция и репликация ДНК. В ядре клетки хромосомы занимают определенные области, называемые хромосомными территориями. Для хромосом в сперматозоидах характерно радиальное расположение в ядре, что влияет на процесс экспрессии генов. Ядерная оболочка и интегральные белки внутренней ядерной мембраны играют центральную роль в позиционировании хромосом и формировании головки сперматозоида [1]. Перестройка структур ядра характерна как для сперматоцитов, так и для сперматид. В профазе

мейоза белки ядерной оболочки вместе с элементами цитоскелета управляют позиционированием хромосом. Ядерная оболочка представляет собой платформу для сборки мультибелковых комплексов, управляющих генной экспрессией, что приводит к морфологическим изменениям клетки, таким как удлинение ядра, формирование акросомы и жгутика [2]. Нуклеоскелет физически взаимодействует с цитоскелетом, что необходимо для позиционирования ядра в клетке и его перемещений. Связывающий их белковый комплекс LINC (linker of nucleoskeleton and cytoskeleton) сформирован двумя системами трансмембранных белков: семейством nuclear envelope spectrin repeat protein (NESPRIN), расположенным во внешней мембране, и Sad1p-UNC84 (SUN), находящимся во внутренней мембране [3–5]. NESPRIN-белки обладают центральными доменами разной длины, C-концевым Klarsicht / ANC-1 / Syne homology (KASH) трансмембранным доменом, который облегчает локализацию в ядерной оболочке и N-концевым доменом, связанным с цитоскелетом [6–8]. SUN-белок, напротив, характеризуется нуклеоплазматическим N-терминальным доменом, связанным с нуклеоскелетом, и C-терминальным доменом, направленным в перинуклеарное пространство [2]. Семейство NESPRIN-белков включает четыре белка, идентифицированных как KASH-белки, кодируемые четырьмя генами, известными как SYNE1, SYNE2, SYNE3 и SYNE4. SUN-семейство состоит из пяти белков (SUN1–5) [6, 9, 10]. Наиболее распространенные изоформы NESPRIN-белков, KASH1 и KASH2, способны взаимодействовать с F-актином. KASH3 ассоциирован с промежуточными филаментами при помощи плектинсвязывающей последовательности [11]. KASH4 взаимодействует с kif5b, субъединицей кинезина-1, молекулярного мотора микротрубочек, и, следовательно, с микротрубочками [2]. N-конец еще одного KASH-белка, KASH5, взаимодействует с динеином–динактином. KASH5 опосредуют связывание микротрубочек с хромосомами, и способствуют быстрому перемещению хромосом в ядре, что облегчает их спаривание. Кроме того, этот белок играет важную роль в обеспечении фертильности у человека [12]. Среди белков семейства SUN, SUN1 и SUN2 экспрессируются среди соматических клеток. А экспрессия SUN3, SUN4 (альтернативное название — SPAG4) и SUN5 (альтернативное название — SPAG4L) ограничена семенниками [2, 9, 13]. Пути передачи сигналов между цитоплазмой и ядром проходят не только через LINC-комплекс, но и через комплекс белков ядерных пор [14]. Во-первых, расположение SUN-белков во внутренней ядерной мембране требует транспорта белков в ядро, т. е. наличия функциональных ядерных пор. Во-вторых, SUN1 локализован рядом с нуклеопорином Nup153 и влияет на расположение поровых комплексов [15]. SUN1 в комбинации с SUN2 взаимодействует с частицами мРНК и непосредственно участвует в экспорте мРНК через поры в клетках млекопитающих [16]. Регуляторное действие LINC-комплекса в течении сперматогенеза было исследовано в ряде работ. Показано, что белки LINC комплекса участвуют в мейотической рекомбинации хромосом, в частности, в обеспечении правильного спаривания хромосом, движения и соприкосновения теломер. Отсутствие SUN1 у мышей препятствует ассоциации теломер с ядерной оболочкой, эффективно спариванию гомологичных хромосом и формированию синапсов в профазе мейоза. KASH5, являясь специфическим партнером SUN1, тоже принимает участие в этих событиях. SUN2 взаимодействует с KASH5, формируя комплекс SUN1-SUN2-KASH5, участвующий

в позиционировании мейотических теломер на ядерной оболочке [2, 17]. SUN5 вовлечен также в мейотическую рекомбинацию. Предполагается, что комплекс SUN5-KASH2-LINC вовлечен в мейотическое деление сперматоцитов мыши [18]. Эта функция связана с наличием в клетках функциональной ламины — фиброзного слоя, подстилающего внутреннюю ядерную мембрану. В клетках млекопитающих KASH5 локализован вместе с ламинем B1 и участвует в перемещениях ядра во время мейоза [19]. LINC-комплекс участвует также в формировании головки сперматозоида и в соединении головки со жгутиком. Таким образом, белки LINC-комплекса играют важную роль в обеспечении мужской фертильности [13, 20, 21]. Дальнейшее изучение характеристик белков данного комплекса позволит создать релевантную экспресс-систему, позволяющую оценивать вклад каждого из белков в развитие сперматозоидов, нарушение сперматогенеза и коррекции лечения бесплодия.

В обзоре будут затронуты вопросы, касающиеся роли белков в формировании зрелых сперматозоидов, а также роль мутаций в белках LINC-комплекса в мужском бесплодии.

Роль LINC-комплекса в механотрансдукции

Механобиология оценивает влияние механических воздействий на общую морфологию и физиологию клетки. Такие воздействия участвуют в регуляции развития и дифференцировки клеток. Большинство механических воздействий приводит к перемещениям ядра, изменению его формы, а также структуры хроматина и экспрессии генов. В этих событиях LINC-комплекс играет критически важную роль. При помощи механотрансдукции клетка трансформирует механические стимулы в биохимическое, таким образом осуществляется взаимодействие цитоскелета с нуклеоскелетом. Механическая сила, приложенная к клетке, трансформируется в биохимический сигнал, который передается через цитоскелет в ядро, где модулирует состав ядерной оболочки, форму ядра и экспрессию генов. Узлом передачи сигнала от цитоскелета к клеточному ядру является LINC-комплекс. Эта идея возникла после изучения изолированных ядер, подвергнутых механическим воздействиям. Оно показало, что разрушение LINC-комплекса или нарушение взаимодействия между LINC-комплексом и ламинной вызывает дезорганизацию цитоскелета и влияет на передачу сигнала через цитоскелет в ядро, а также на экспрессию генов [22]. Ведущая роль в механотрансдукции принадлежит актину. Актин играет роль в обеспечении клеточной подвижности, передаче сигнала, реагировании на механические стрессы. Недавно были обнаружены дополнительные функции актина: сеть, образуемая актиновыми филаментами около ядерной оболочки, может участвовать в регуляции перемещения ядра клетки и влиять на экспрессию генов [23]. LINC-комплекс механически связывает ядро с актином цитоскелета, который влияет на движение и положение ядра в клетке. Взаимодействие актина с LINC-комплексом опосредовано KASH-белками, которые, с одной стороны, взаимодействуют с SUN-белками в ядерной оболочке, а с другой стороны, с цитоскелетом через актинсвязывающий домен [24]. Актин формирует нитевидные структуры, покрывающие поверхность ядра. В этих структурах актин взаимодействует с KASH2 или KASH3 и участвует в определении ориентации и формы ядра, а также его защите от механической деформации.

Мутации KASH2 / KASH3 ассоциированы с ингибированием сборки перинуклеарного актинового кэпа и отрицательно сказываются на механотрансдукции [26]. Одним из главных путей передачи сигнала от механорецепторов является Hippo-киназный сигнальный путь (Hippo kinase signaling cascade). Это эволюционно консервативный путь, вовлеченный в регуляцию клеточной пролиферации и дифференцировки тканей, а также в определение размеров органов. Каскад реакций индуцирует активацию актлина. Сигнальный путь включает YAP-белок (Yes-associated protein) и гомологичный ему белок TAZ с PDZ-связывающим мотивом (transcription co-activator with PDZ binding motif). PDZ-мотив представляет собой последовательность из 80–90 аминокислот, организованных в шесть β -слоев (β A– β F) и две α -спирали (α A, α B). YAP и TAZ, перемещаясь между ядром и цитоплазмой, передают сигнал от механорецепторов в ядро [27]. В процессе митоза актин и белки LINC-комплекса регулируют позиционирование центросомы и хромосом, а во время мейоза актин также участвует в процессах перемещения ядра [26]. Актин и белки LINC-комплекса контролируют экспрессию генов. Так, актин участвует в определении объема ядра и регуляции конформации хроматина, его доступности для факторов транскрипции, определяющих генную экспрессию. Изменения в экспрессии генов можно наблюдать в результате аномалий LINC-комплекса и зависимых от белков LINC-комплекса механизмов. Снижение уровня синтеза KASH-белков приводит к изменению генной экспрессии в эпителиальных клетках [28]. Другими словами, регуляция транскрипции осуществляется не только через механосигналинг, но и зависит непосредственно от целостности белков LINC-комплекса. В настоящий момент до конца не выяснено, участвуют белки LINC-комплекса непосредственно в обеспечении контактов с хроматином или взаимодействие осуществляется через ядерную ламину. Кроме этого, в постмейотических зародышевых клетках происходит замена гистонов на протамины. В соматических клетках интегральный белок внутренней ядерной мембраны — рецептор ламина B1 (lamin B receptor, LBR) взаимодействует с ламинем B1 и связывает ядерную ламину с хроматином. В обеспечении взаимодействия участвуют белок гетерохроматина HP1 и белок BAF (barrier to autointegration factor) [29, 30]. В зародышевых клетках LBR способен временно связываться с протамином 1. В процессе сперматогенеза млекопитающих протамины фосфорилируются для связывания с хроматином сперматид и полностью дефосфорилируются во время созревания сперматозоидов [31]. В удлинённых сперматидеях фосфорилирование необходимо для временной ассоциации протаминов P1 и LBR [32]. Была изучена локализация ряда белков ядерной оболочки в процессе сперматогенеза человека [30]. При помощи полимеразной цепной реакции и иммунофлуоресцентного анализа было показано, что белок LEMD1, короткая изоформа белка LEMD2, ANKLE2 и LAP2 β присутствуют в сперматидеях, тогда как эмерин, LBR, полноразмерная форма белка LEMD2 и LEMD3 не обнаруживаются в образцах. В зрелых сперматозоидах белки LEMD1, ANKLE2, LAP2 β , эмерин, LBR, полноразмерная форма белка LEMD2 и LEMD3, а также ламины A, C и B2 не обнаруживаются. Таким образом, белки ядерной оболочки, участвующие в обеспечении взаимодействия с хроматином в соматических клетках, изменяют свое положение в ядрах сперматид и сперматозоидов, в соответствии с позиционированием хромосом и их стабилизацией в специфических

областях ядра. У человека такое изменение состава ядерной оболочки в сперматидеях может определять отхождение хроматина от ядерной оболочки и ламины для увеличения способности гистонново-протаминового обмена [30]. В сперматозоидах были выявлены белки BAF и BAF-L (BAF-like) [33]. Гомодимеры BAF вовлечены в индукцию конденсации хроматина, BAF/BAF-like-гетеродимеры могут усиливать массивный обмен между гистонами и протаминами вследствие более «открытой» конформации хроматина [30]. Являясь традиционным компонентом цитоскелета, осуществляющим контакты с LINC-комплексом, актин циркулирует между ядром и цитоплазмой. В ядре он регулирует активность транскрипционных факторов, участвует в формировании ряда хроматинремоделирующих комплексов, а также ассоциирован с тремя РНК-полимеразами [34]. Один из механизмов механотрансдукции выглядит так: механические стимулы способны индуцировать физические изменения в комплексах пор независимо от LINC-комплекса [35]. Механические изменения могут также модулировать статус фосфорилирования белков ядерной оболочки. Ламин A и C являются примерами белков, фосфорилирование которых определяет жесткость ядра в ответ на механические стимулы [36]. Организация хроматина способна изменяться под действием внешних воздействий на клетку и реорганизации цитоскелета; такое изменение статуса хроматина влияет на экспрессию генов. Перинуклеарный актин через белки LINC-комплекса управляет гиперацетилизацией ламин A и C, деконденсацией хроматина и активацией генной экспрессии. Альтернативным механизмом регуляции генной экспрессии, индуцированной механотрансдукцией, является ядерный импорт гистон/лизин N-метилтрансферазы EZH2 и диацетилазы гистонов (HDAC), вызывающих сайленцию генов вследствие метилирования гистонов или подавление экспрессии вследствие гипoaцетилирования [37, 38].

Белки LINC-комплекса и головка сперматозоида

В головке сперматозоида выделяют акросомальный и постакросомальный отделы. Ядро с высококомпактным хроматином почти полностью занимает головку сперматозоида и частично покрыто акросомой — чашеобразной органеллой, происходящей из аппарата Гольджи, которая содержит белки и рецепторы, необходимые для связывания ооцитов. Акроплакса — структура, расположенная между акросомальной мембраной и ядерной мембраной, окружает развивающуюся акросому и прикрепляет ее к ядерной оболочке. В состав акроплаксы входят кератин 5, F-актин и профилин IV. Манжета представляет собой транзитное образование, в состав которого входят микротрубочки центросомы [39]. В женских половых путях сперматозоиды подлежат процессу капацитации, включающему биохимические модификации, необходимые для оплодотворения ооцита. В этой цепочке реакций большой интерес представляет специфичная для яичка форма белка SUN (SUN1 η [20]). SUN1 η располагается на переднем полюсе ядра и направлен на мембрану акросомы вместо внутренней ядерной мембраны. Этот белок участвует в формировании неядерного комплекса LINC с KASH3, который через плектин взаимодействует с акроплаксомой. Такой же комплекс образуется на заднем полюсе ядра, исключая область имплантационной ямки [40]. Недавние исследования показали, что SUN3 и SUN4 незаменимы

при формировании головки сперматозоида. Уровень экспрессии SUN3 во время сперматогенеза увеличивается при формировании круглых и затем удлинённых сперматид. SUN3 локализован в боковых и задней областях ядра сперматиды, но не выявляется в имплантационной ямке и в самой задней части ядра. Партнером SUN3 в головке сперматозоида служит KASH1, который колокализован с SUN3 и формирует LINC-комплекс, способный связывать актин посредством актинсвязывающего домена или микротрубочки через динеин-динактиновый комплекс и усилить взаимодействие между манжетой и внешней ядерной мембраной [20]. SUN4 экспрессируется только во время сперматогенеза и локализуется на заднем полюсе ядра круглых и, затем, удлинённых сперматид. Белковый комплекс SUN3-SUN4-KASH1 связывает манжету с ядерной оболочкой. У мышей с нокаутом *Sun4* можно наблюдать аномальное количество круглых сперматид, нарушение стадии элонгации сперматозоида, нарушение целостности ядерной оболочки с последующей продукцией деформированных сперматозоидов. Уменьшение количества SUN4 индуцирует перемещение в цитоплазму белка SUN3, дезорганизацию манжеты, что указывает на необходимость SUN4 в нормальном расположении в клетке SUN3 и KASH1 [13]. У человека SUN4 образует комплекс с локализованным в яичках белком цитоскелета септином (Septin, SEPT12) и с ламинем B1, участвующим в формировании головки сперматозоида в постмейотических зародышевых клетках, а также организации жгутика [41]. Помимо актиновых филаментов, микротрубочек и промежуточных филаментов, цитоскелет включает также септины, вовлеченные в разные физиологические функции. В частности, SEPT12 вовлечен в сперматогенез млекопитающих и экспрессируется вокруг манжеты, в «шейке» удлинённой сперматиды и кольцевой области зрелого сперматозоида [42]. При изучении роли LINC-комплекса в биогенезе акросомы был охарактеризован новый, специфичный для яичка, белок SPAG4L-2, который относится к семейству SPAG4L. Белок экспрессируется на высоком уровне во время сперматогенеза и локализован в апикальной области ядра круглых сперматид, направленной на акросому [43]. Во время элонгации ядра SUN5 прогрессивно мигрирует к заднему полюсу ядра удлинённой сперматиды, чтобы, в конце концов, достичь имплантационной ямки. Такое перераспределение белка исключает белок из процесса формирования головки сперматозоида. У мышей, нокаутных по гену *Sun5*, отсутствовали дефекты в образовании акросомы, но были обнаружены пороки развития жгутика сперматозоида [44, 45]. В биогенез акросомы включаются и компоненты ламин. Ламин A и C были охарактеризованы как компоненты акроплаксомы, требуемой для биогенеза акросомы и формирования головки сперматиды, причем важным механизмом, отвечающим за локализацию ламин A/C в цитоплазме, нуклеоплазме или ламине, является процесс фосфорилирования [46]. Ламин B1 взаимодействует с белком DRY19L2, специфичным для яичек, который синтезируется, в основном, в сперматиде. Разрушение белка приводит к изменению локализации ламин B1 в процессе сперматогенеза и дестабилизации взаимодействия между ядерной оболочкой и акроплаксомой во время биогенеза акросомы. Ядро сперматозоида при этом выглядит плохо компактизованным, не происходит замены гистонов на протамины, как следствие, возникает глобулозооспермия — патология сперматозоидов, при которой их головка приобретает округлую форму

[47]. Присутствие KASH2 и KASH4 не было обнаружено ни на одной из постмейотических стадий развития сперматозоидов. Локализация белка KASH5, специфичного для зародышевых клеток, ограничена цитоплазмой, в комплексе с SUN1 и SUN2 опосредует прикрепление теломера к цитоскелету и перемещение хромосом в сперматоцитах [2, 20, 48].

LINC-комплекс и жгутик сперматозоида

Жгутик сперматозоида разделен на соединительный, средний, основной и дистальный отделы (см. рисунок). Центральной структурой жгутика является аксонема, в состав которой входят две центральные и девять пар периферических микротрубочек. Вокруг аксонемы расположены периаксонемные структуры: девять продольно ориентированных наружных плотных фибрилл в среднем и основном отделах жгутика, фиброзная оболочка в основном отделе жгутика, и митохондрии, которые формируют митохондриальную спираль вокруг наружных плотных фибрилл в среднем отделе жгутика. Жгутик определяет подвижность сперматозоида, что является необходимым условием для оплодотворения. Подвижность жгутика обусловлена нормальным функционированием цитоскелета, продукцией АТФ митохондриями, а также корректной организацией компонентов аксонемы. Синтез АТФ обеспечен как гликолизом, так и окислительным фосфорилированием. Имплантационная ямка, т. е. место соединения головки и жгутика, играет важную роль в функционировании сперматозоида. Сопрягающий аппарат представляет собой асимметричную структуру, которая формируется во время сперматогенеза и содержит центриоли (проксимальную и дистальную), плотную волокнистую структуру (капитулум) и сегментированные колонки [2]. Белки LINC-комплекса вовлечены во взаимодействие сопрягающего аппарата и головки сперматозоида, в частности, SUN4 и SUN5 участвуют в связывании головки и жгутика [21]. Белок SUN4 участвует в позиционировании наружных плотных фибрилл жгутика, действуя как связующее звено между микротрубочками аксонемы и плотными фибриллами. Исследователи изучают механизмы обеспечения такого взаимодействия [9]. Описаны нокаутные по SUN4 мыши [13] со сперматозоидами, в которых жгутик закручен вокруг головки, что позволяет предположить некорректное соединение этих структур. Не удалось обнаружить нарушения в сопрягающей структуре в отсутствие SUN4, однако отмечена меньшая эффективность связывания жгутика сперматозоида с головкой [48]. Сопрягающий аппарат в меньшей степени прикреплен к латеральным областям ядра, что предполагает роль SUN4 в обеспечении взаимодействия. Партнерами SUN4 являются белки ODF1, SEPT12 и ламин B1. SEPT12 вовлечен в формирование жгутика и вместе с SUN4 и ламинем B1 ассоциирован с «шейкой» сперматозоида [49]. По имеющимся данным, SUN5 необходим для взаимодействия головки и жгутика. В течение сперматогенеза SUN5 локализуется в составе ядерной оболочки, однако в зрелых сперматозоидах находится строго в сопрягающем комплексе (HTCA) в имплантационной ямке, необходимом для взаимодействия головки и жгутика. В удлинённых сперматиде мышей, нокаутных по гену *Sun5*, выявлены нарушения в связывании сопрягающего аппарата и головки сперматозоида с последующим освобождением жгутиков в просвет семиноферовых трубочек и задержкой головок

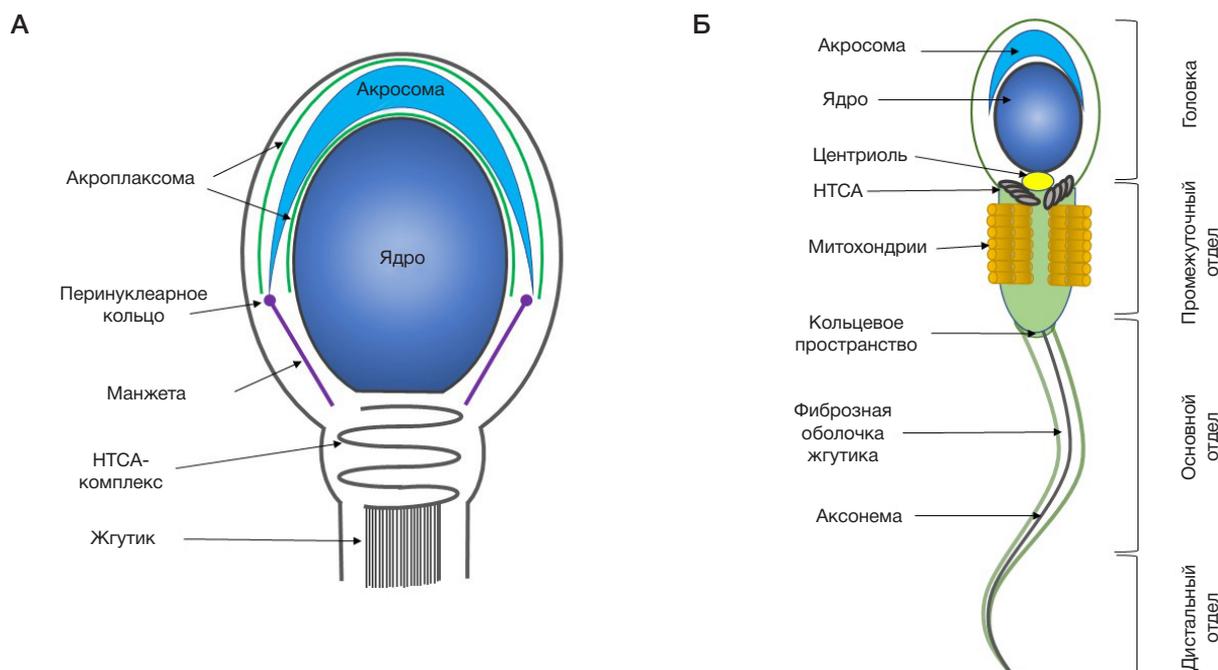


Рис. А. Схема строения сперматиды. Б. Схема строения сперматозоида

сперматозоидов в эпителии трубочек [45]. Схожая картина патологии обнаружена у мужчин с гомозиготными делеционными вариантами SUN5, при которой сперматозоиды не имеют головки [50]. Для обеспечения взаимодействия SUN5 может кооперироваться с белком DNAJB13, членом семейства белков теплового шока, структурным компонентом аксонемы в сперматиде и сперматозоиде. Предполагают, что SUN5 не дает головке сперматозоида отделиться от жгутика при миграции сперматозоидов в просвет семиноферовых трубочек [45].

LINC-комплекс и бесплодие

Белки LINC-комплекса играют ключевую роль в процессе дифференцировки сперматозоидов. Нарушения взаимодействия белков SUN-KASH существенно ухудшают свойства сперматозоидов.

1) Нокаут *Sun1* у мышей приводит к бесплодию вследствие нарушения взаимодействия SUN1 и теломер во время рекомбинации в первичных сперматоцитах. Так как комплекс SUN1-KASH5 регулирует перемещение теломер, мутации KASH5 приводят к изменениям в связывании теломер с ядерной оболочкой, а также в связывании гомологичных хромосом [17]. Было показано, что нокаутные по *Sun1* мыши бесплодны, кроме того, в их клетках нет кодирующих и некодирующих РНК, необходимых для сперматогенеза. Данный факт показывает новую роль белка SUN1 в регуляции генной экспрессии [2].

2) У мышей, нокаутных по *Sun3*, развивается бесплодие, при этом разрушается и жгутик, и головка. Основные дефекты появляются при развитии удлинённых сперматид, так как ядра сперматид не способны удлиняться из-за нарушений передачи сигналов между цитоскелетом и ядерной оболочкой. Немногочисленные сперматозоиды развиваются с дефектной акросомой, низкой подвижностью и фенотипом глобулозооспермии. Было показано, что SUN3 участвует в связывании манжеты с ядерной оболочкой при помощи SUN3-SUN4-KASH1 [13]. Мыши, нокаутные по *Sun3*, демонстрируют более низкую экспрессию белка SUN4, а также нарушение

формирования манжеты. Сперматогенез у мышей, дефектных по *Sun4*, нормально прогрессирует до мейоза, однако нарушения постмейотической дифференцировки приводят к бесплодию. Ядра сперматид имеют круглую или изменённую форму, нарушено ремоделирование хроматина. Дезорганизованная манжета не способна связаться с ядерной оболочкой, что было бы необходимо для формирования головки сперматозоида. Происходят изменения акросомы и формирование сперматозоидов с симптомами глобулозооспермии. У мышей, имеющих нокаут по гену *Sun4*, в сперматиде уменьшается количество SUN3, нарушается элонгация головки сперматозоида. Вместо типичного распределения SUN3 на заднем полюсе ядерной оболочки этот белок перемещается в цитоплазму. Изменения в количестве SUN4 коррелируют с неэффективным связыванием головки и жгутика сперматозоида. В частности, сперматиды мышей, нокаутных по гену *Sun4*, демонстрируют отхождение сопрягающего комплекса от ядерной мембраны, что негативно сказывается на взаимодействии головки и жгутика [48]. С учетом способности SUN4 связываться с SEPT12 становится понятной необходимость проанализировать роль SEPT12 в развитии бесплодия. Действительно, мыши, нокаутные по *Sept12*, образуют сперматозоиды с многочисленными дефектами головки и жгутика, разрушением ядра и преждевременной конденсацией хромосом. Сперматозоиды, полученные от таких мышей, вызывают остановку развития предимплантационных эмбрионов [2].

3) Мыши, нокаутные по гену *Sun5*, образуют ацефалические сперматозоиды. Белок SUN5 необходим для соединения головки и жгутика в сперматозоидах, нокаут приводит к их разделению в удлинённых сперматиде, что вызывает бесплодие [51].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мужское бесплодие остается актуальной проблемой репродукции человека. С инфертильностью в мире сталкиваются 15% пар репродуктивного

Таблица. Белки ядерной оболочки, вовлеченные в сперматогенез человека

Название белка	Клетки	Локализация	Функции	Ссылка
Ламин В1	Сперматоциты	Ядерная оболочка (ЯО)	Снижающийся уровень ламина В1 нужен для уменьшения механического воздействия ЯО, что необходимо для обеспечения перемещения хромосом в профазе мейоза. Обеспечение специфичного для созревающих клеток неслучайного расположения хромосом в ядрах. Прогрессивное уменьшение количества ламина В1 необходимо для обеспечения формирования головок сперматозоидов	[51]
	Круглые сперматиды	Ядерная оболочка, задний полюс ядра, Нуклеоплазма		
	Удлиняющиеся сперматиды	Задний полюс ядра		
	Удлиненные сперматиды	Задний полюс ядра		
	Зрелые сперматозоиды	Задний полюс ядра		
LAP1	Сперматогонии	Ядерная оболочка	Обеспечение специфичного для созревающих клеток неслучайного расположения хромосом в ядрах. Обеспечение формирования манжеты	[52]
	Сперматоциты	Ядерная оболочка, цитоплазма		
	Круглые сперматиды	Задний полюс ядра		
	Удлиняющиеся сперматиды	Задний полюс ядра		
	Удлиненные сперматиды	Задний полюс ядра		
LAP2	Круглые сперматиды	Ядерная оболочка, нуклеоплазма (для LAP2beta)	Обеспечение специфичного для созревающих клеток неслучайного расположения хромосом в ядрах. Обеспечение компактизации хроматина (совместно с BAF, BAF-L)	[30]
LEMD1	Круглые сперматиды	Нуклеоплазма, задний полюс ядра	Обеспечение компактизации хроматина (совместно с BAF, BAF-L)	[30]
	Удлиняющиеся сперматиды	Задний полюс ядра		
	Удлиненные сперматиды	Задний полюс ядра		
SUN4	Круглые сперматиды	Ядерная оболочка	Связывание микротрубочек манжеты с ядром, вместе с SUN3 и несприном-1. Латеральное связывание сопрягающего комплекса в имплантационной ямке, необходимое для прочного взаимодействия головки и жгутика сперматозоида. Организация жгутика сперматозоида в течение спермиогенеза, совместно с белком ODF1	[13]
	Удлиняющиеся сперматиды	Шейка		
	Удлиненные сперматиды	Шейка		
	Зрелые сперматозоиды	Аксонема		

возраста. Для оценки фертилизационного потенциала сперматозоидов рассматривают их количественные, кинематические и морфологические характеристики. Согласно последнему изданию Рекомендаций ВОЗ по проведению спермиологического исследования (WHO, 2021), в эякуляте 95% фертильных мужчин содержится не менее 4% сперматозоидов, морфология которых типична для потенциально оплодотворяющей субпопуляции, прошедшей *in vivo* цервикальную слизь после коитуса. Остальная субпопуляция сперматозоидов имеет гетерогенную морфологию с различными нарушениями структуры головки, акросомы, шейки и жгутика. В частности, диагноз глобулозооспермия ставят на основании данных морфологического исследования сперматозоидов, при котором выявляют дефект головки в виде ее округлой формы (в 100% сперматозоидов для глобулозооспермии первого типа и 40–80% для второго типа), а также отсутствие или выраженный дефект акросомы [53].

Изучение патологических состояний, связанных с мужским бесплодием, является актуальной задачей. Целостность яичек и качество спермы зависит как от генетических, так и от эпигенетических факторов. Влияние вредных химических соединений, стрессов, диет может оказаться критическим для развития сперматозоидов и образования эмбриона. Разнообразные белковые комплексы и гормоны управляют процессом дифференцировки сперматозоидов. В частности, белки LINC-комплекса участвуют в обеспечении функций сперматозоидов и их предшественников в течение всего процесса дифференцировки (см. таблицу). Для более точного определения функций каждого из белков комплекса требуется применять нокаутные модели животных. Необходим также анализ состава ядерной оболочки при дифференцировке сперматозоидов. Это позволит определить новые цели для терапевтических вмешательств у животных, и, впоследствии, у человека, чтобы преодолеть проблему бесплодия.

Литература

- Hazzouri M, Rousseaux S, Monegelard F, Usson Y, Pelletier R, Faure AK, et al. Genome organization in the human sperm nucleus studied by FISH and confocal microscopy. *Mol Reprod Dev.* 2000; 55: 307-315.
- Manfrevola F, Guillou F, Fasano S, Pierantoni R, Chianese R. LINCKing the Nuclear Envelope to Sperm Architecture. *Genes.* 2021; 12: 658.
- Crisp M, Liu Q, Roux K, Rattner JB, Shanahan C, Burke B, et al. Coupling of the nucleus and cytoplasm: Role of the LINC complex. *J Cell Biol.* 2006; 172: 41–53.
- Stewart-Hutchinson PJ, Hale CM, Wirtz D, Hodzic D. Structural requirements for the assembly of LINC complexes and their function in cellular mechanical stiffness. *Exp Cell Res.* 2008; 314: 1892–905.
- Sosa BA, Rothballer A, Kutay U, Schwartz TU. LINC complexes form by binding of three KASH peptides to domain interfaces of

- trimeric SUN proteins. *Cell*. 2012; 149: 1035–47.
6. Hodzic DM, Yeater DB, Bengtsson L, Otto H, Stahl PD. Sun2 is a novel mammalian inner nuclear membrane protein. *J Biol Chem*. 2004; 279: 25805–12.
 7. Padmakumar VC, Libotte T, Lu W, Zaim H, Abraham S, Noegel AA, et al. The inner nuclear membrane protein Sun1 mediates the anchorage of Nesprin-2 to the nuclear envelope. *J Cell Sci*. 2005; 118: 3419–30.
 8. Starr DA. A nuclear–envelope bridge positions nuclei and moves chromosomes. *J Cell Sci*. 2009; 122: 577–86.
 9. Shao X, Tarnasky HA, Lee J.P, Oko R, van der Hoorn FA. Spag4, a Novel Sperm Protein, Binds Outer Dense-Fiber Protein Odf1 and Localizes to Microtubules of Manchette and Axoneme. *Dev Biol*. 1999; 211: 109–23.
 10. Kim DI, Kc B, Roux KJ. Making the LINC: SUN and KASH protein interactions. *Biol Chem*. 2015; 396: 295–310.
 11. Wilhelmsen K, Litjens SH, Kuikman I, Tshimbalanga N, Janssen H, van den Bout I, Raymond K et al, Nesprin-3, a novel outer nuclear membrane protein, associates with the cytoskeletal linker protein plectin. *J Cell Biol*. 2005; 171: 799–810.
 12. Gurusaran M, Davies OR. A molecular mechanism for LINC complex branching by structurally diverse SUN-KASH 6:6 assemblies. *eLife*. 2021; 10: e60175.
 13. Pasch E, Link J, Beck C, Scheuerle S, Alsheimer M. The LINC complex component Sun4 plays a crucial role in sperm head formation and fertility. *Biol Open*. 2015; 4: 1792–802.
 14. Jahed Z, Soheilypour M, Peyro M, Mofrad MR. The LINC and NPC relationship—it's complicated! *J Cell Sci*. 2016; 129: 3219–29.
 15. Liu Q, Pante N, Misteli T, Elsagga M, Crisp M, Hodzic D, et al. Functional association of Sun1 with nuclear pore complexes. *J Cell Biol*. 2007; 178: 785–98.
 16. Li P, Noegel AA. Inner nuclear envelope protein SUN1 plays a prominent role in mammalian mRNA export. *Nucleic Acids Res*. 2015; 43: 9874–88.
 17. Horn HF, Kim DI, Wright GD, Wong ESM, Stewart CL, Burke B, et al. A mammalian KASH domain protein coupling meiotic chromosomes to the cytoskeleton. *J Cell Biol*. 2013; 202: 1023–39.
 18. Li X, Wu Y, Huang L, Yang L, Xing X. SPAG4L/SPAG4Lβ interacts with Nesprin2 to participate in the meiosis of spermatogenesis. *Acta Biochim Biophys. Sin*. 2019; 51: 669–76.
 19. Jiang XZ, Yang MG, Huang LH, Li CQ, Xing XW. SPAG4L, a novel nuclear envelope protein involved in the meiotic stage of spermatogenesis. *DNA Cell Biol*. 2011; 30: 875–82.
 20. Göb E, Schmitt J, Benavente R, Alsheimer M. Mammalian Sperm Head Formation Involves Different Polarization of Two Novel LINC Complexes. *PLoS ONE*. 2010; 5: e12072.
 21. Kmonickova V, Frolíkova M, Steger K, Komrskova K. The Role of the LINC Complex in Sperm Development and Function. *Int J Mol Sci*. 2020; 21: 9058.
 22. Ramdas NM, Shivashankar GV. Cytoskeletal control of nuclear morphology and chromatin organization. *J Mol Biol*. 2015; 427: 695–706.
 23. Davidson PP, Bruno Cadot B. Actin on and around the Nucleus. *Trends Cell Biol*. 2021; 31: 211–23.
 24. Palazzo AF, Joseph HL, Chen YJ, Dujardin DL, Alberts AS, Pfister KK, et al. Cdc42, dynein, and dynactin regulate MTOC reorientation independent of Rho-regulated microtubule stabilization. *Curr Biol*. 2001; 11: 1536–41.
 25. Chambliss AB, Khatau SB, Erdenberger N, Robinson DK, Hodzic D, Longmore GD, et al. The LINC-anchored actin cap connects the extracellular milieu to the nucleus for ultrafast mechanotransduction. *Sci Rep*. 2013; 3: 1087.
 26. Ramos A, Camargo FD. The Hippo signaling pathway and stem cell biology. *Trends Cell Biol*. 2012; 22: 339–46.
 27. Booth AJ, Yue Z, Eykelboom JK, Stiff T, Luxton GG, Hochegger H, et al. Contractile acto-myosin network on nuclear envelope remnants positions human chromosomes for mitosis. *eLife*. 2019; 8: e46902.
 28. Déjardin T, Carollo PS, Sipieter F, Davidson PM, Seiler C, Couveller D et al. Nesprins are mechanotransducers that discriminate epithelial–mesenchymal transition programs. *J Cell Biol*. 2020; 219: e201908036.
 29. Segura-Totten M, Wilson KL. BAF: Roles in chromatin, nuclear structure and retrovirus integration. *Trends Cell Biol*. 2004; 14: 261–6.
 30. Elkhatib RA, Paci M, Boissier R, Longepied G, Auguste Y, Achard V et al. LEM-domain proteins are lost during human spermiogenesis but BAF and BAF-L persist. *Reproduction*. 2017; 154: 387–401.
 31. Wu JY, Ribar TJ, Cummings DE, Brton KA, McKnight GS, Means AR. Spermiogenesis and exchange of basic nuclear proteins are impaired in male germ cells lacking Camk4. *Nat Genet*. 2000; 25: 448–52.
 32. Mylonis I, Drosou V, Brancorsini S, Nikolakaki E, Sassone-Corsi P, Giannakouros T. Temporal association of protamine 1 with the inner nuclear membrane protein lamin B receptor during spermiogenesis. *J Biol Chem*. 2004; 279: 11626–31.
 33. Skoko D, Li M, Huang Y, Mizuuchi M, Cai M, Bradley CM, et al. Barrier-to-autointegration factor (BAF) condenses DNA by looping. *Proc Natl Acad Sci. USA*. 2009; 106: 16610–15.
 34. Dopie J, Skarp KP, Rajakylä EK, Tanhuanpää K, Vartiainen MK. Active maintenance of nuclear actin by importin 9 supports transcription. *Proc Natl Acad Sci. USA*. 2012; 109: E544–E552.
 35. García-González A, Jacchetti E, Marotta R, Tunesi M, Rodríguez Matas JF, Raimondi MT. The Effect of Cell Morphology on the Permeability of the Nuclear Envelope to Diffusive Factors. *Front Physiol*. 2018; 9: 925.
 36. Swift J, Ivanovska IL, Buxboim A, Harada T, Dingal PCDP, Pinter J, et al. Nuclear lamin-A scales with tissue stiffness and enhances matrix-directed differentiation. *Science*. 2013; 341: 1240104.
 37. Li Y, Chu JS, Kurpinski K, Li X, Bautista DM, Yang L et al. Biophysical regulation of histone acetylation in mesenchymal stem cells. *Biophys J*. 2011; 100: 1902–9.
 38. Le HQ, Ghatak S, Yeung CYC, Tellkamp F, Günschmann C, Dieterich C, et al. Mechanical regulation of transcription controls Polycomb-mediated gene silencing during lineage commitment. *Nat Cell Biol*. 2016; 18: 864–75.
 39. Russell LD, Russell JA, MacGregor GR, Meistrich ML. Linkage of manchette microtubules to the nuclear envelope and observations of the role of the manchette in nuclear shaping during spermiogenesis in rodents. *Am J Anat*. 1991; 192: 97–120.
 40. Pereira CD, Serrano JB, Martins F, da Cruz E Silva OAB, Rebelo S. Nuclear envelope dynamics during mammalian spermatogenesis: New insights on male fertility. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2019; 94: 1195–219.
 41. Lin YH, Lin YM, Wang YY, Yu IS, Lin YW, Wang YH, et al. The expression level of septin12 is critical for spermiogenesis. *Am J Pathol*. 2009; 174: 1857–68.
 42. Mostowy S, Cossart P. Septins: The fourth component of the cytoskeleton. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2012; 13: 183–94.
 43. Frohnert C, Schweizer S, Hoyer-Fender S. SPAG4L/SPAG4L-2 are testis-specific SUN domain proteins restricted to the apical nuclear envelope of round spermatids facing the acrosome. *Mol Hum Reprod*. 2011; 17: 207–18.
 44. Yassine S, Escoffier J, Abi Nahed R, Pierre V, Karaouzene T, Ray PF, et al. Dynamics of Sun5 localization during spermatogenesis in wild type and Dpy19l2 knock-out mice indicates that Sun5 is not involved in acrosome attachment to the nuclear envelope. *PLoS ONE*. 2015; 10: e0125452.
 45. Shang Y, Yan J, Tang W, Liu C, Xiao S, Guo Y, Yuan L, Chen L, Jiang H, Guo X, et al. Mechanistic insights into acephalic spermatozoa syndrome-associated mutations in the human SUN5 gene. *J Biol Chem*. 2018; 293: 2395–407.
 46. Shen J, Chen W, Shao B, Qi Y, Xia Z, Wang F, et al. Lamin A/C proteins in the spermatid acroplaxome are essential in mouse spermiogenesis. *Reproduction*. 2014; 148: 479–87.
 47. Pierre V, Martinez G, Coutton C, Delaroché J, Yassine S, Novella C et al. Absence of Dpy19l2, a new inner nuclear membrane protein, causes globozoospermia in mice by preventing the anchoring of the acrosome to the nucleus. *Development*. 2012; 139: 2955–65.
 48. Yang K, Adham IM, Meinhardt A, Hoyer-Fender S. Ultra-structure of the sperm head-to-tail linkage complex in the absence of the spermatid-specific LINC component SPAG4. *Histochem Cell Biol*. 2018; 150: 49–59.
 49. Yeh CH, Kuo PL, Wang YY, Wu YY, Chen MF, Lin DY, et al. SEPT12/SPAG4/LAMINB1 complexes are required for maintaining the integrity of the nuclear envelope in postmeiotic male germ cells.

- PLoS ONE. 2015; 10: e0120722.
50. Elkhatib RA, Paci M, Longepied G, Saias-Magnan J, Courbière B, Guichaoua MR et al. Homozygous deletion of SUN5 in three men with decapitated spermatozoa. *Hum Mol Genet.* 2017; 26: 3167–71.
 51. Elkhatib R, Longepied G, Paci M, Achard V, Grillo JM, Levy N et al. Nuclear envelope remodelling during human spermiogenesis involves somatic B-type lamins and a spermatid-specific B3 lamin isoform. *Mol Hum Reprod.* 2015; 21 (3): 225–36.
 52. Serrano JB, Martins F, Sousa JC, Pereira CD, van Pelt AMM, Rebelo S, et al. Descriptive Analysis of LAP1 Distribution and That of Associated Proteins throughout Spermatogenesis. *Membranes (Basel).* 2017; 7 (2): 22.
 53. Литвинов В. В., Сулима А. Н., Харитоновна М. А., Клепуков А. А., Ермилова И. Ю., Маклыгина Ю. Ю. Клинический случай преодоления бесплодия, обусловленного мужским фактором (глобозооспермией 1-го типа), методом интрацитоплазматической инъекции морфологически нормального сперматозоида с активацией ооцитов Са⁺-ионофором. *Андрология и генитальная хирургия.* 2019; 20 (3): 78–85.

References

1. Hazzouri M, Rousseaux S, Monegelard F, Usson Y, Pelletier R, Faure AK, et al. Genome organization in the human sperm nucleus studied by FISH and confocal microscopy. *Mol Reprod Dev.* 2000; 55: 307–315.
2. Manfrevola F, Guillou F, Fasano S, Pierantoni R, Chianese R. LINCKing the Nuclear Envelope to Sperm Architecture. *Genes.* 2021; 12: 658.
3. Crisp M, Liu Q, Roux K, Rattner JB, Shanahan C, Burke B, et al. Coupling of the nucleus and cytoplasm: Role of the LINC complex. *J Cell Biol.* 2006; 172: 41–53.
4. Stewart-Hutchinson PJ, Hale CM, Wirtz D, Hodzic D. Structural requirements for the assembly of LINC complexes and their function in cellular mechanical stiffness. *Exp Cell Res.* 2008; 314: 1892–905.
5. Sosa BA, Rothballer A, Kutay U, Schwartz TU. LINC complexes form by binding of three KASH peptides to domain interfaces of trimeric SUN proteins. *Cell.* 2012; 149: 1035–47.
6. Hodzic DM, Yeater DB, Bengtsson L, Otto H, Stahl PD. Sun2 is a novel mammalian inner nuclear membrane protein. *J Biol Chem.* 2004; 279: 25805–12.
7. Padmakumar VC, Libotte T, Lu W, Zaim H, Abraham S, Noegel AA, et al. The inner nuclear membrane protein Sun1 mediates the anchorage of Nesprin-2 to the nuclear envelope. *J Cell Sci.* 2005; 118: 3419–30.
8. Starr DA. A nuclear-envelope bridge positions nuclei and moves chromosomes. *J Cell Sci.* 2009; 122: 577–86.
9. Shao X, Tarnasky HA, Lee J.P, Oko R, van der Hoorn FA. Spag4, a Novel Sperm Protein, Binds Outer Dense-Fiber Protein Odf1 and Localizes to Microtubules of Manchette and Axoneme. *Dev Biol.* 1999; 211: 109–23.
10. Kim DI, Kc B, Roux KJ. Making the LINC: SUN and KASH protein interactions. *Biol Chem.* 2015; 396: 295–310.
11. Wilhelmsen K, Litjens SH, Kuikman I, Tshimbalanga N, Janssen H, van den Bout I, Raymond K et al, Nesprin-3, a novel outer nuclear membrane protein, associates with the cytoskeletal linker protein plectin. *J Cell Biol.* 2005; 171: 799–810.
12. Gurusaran M, Davies OR. A molecular mechanism for LINC complex branching by structurally diverse SUN-KASH 6:6 assemblies. *eLife.* 2021; 10: e60175.
13. Pasch E, Link J, Beck C, Scheuerle S, Alsheimer M. The LINC complex component Sun4 plays a crucial role in sperm head formation and fertility. *Biol Open.* 2015; 4: 1792–802.
14. Jahed Z, Soheilypour M, Peyro M, Mofrad MR. The LINC and NPC relationship—it's complicated! *J Cell Sci.* 2016; 129: 3219–29.
15. Liu Q, Pante N, Misteli T, Elsagga M, Crisp M, Hodzic D, et al. Functional association of Sun1 with nuclear pore complexes. *J Cell Biol.* 2007; 178: 785–98.
16. Li P, Noegel AA. Inner nuclear envelope protein SUN1 plays a prominent role in mammalian mRNA export. *Nucleic Acids Res.* 2015; 43: 9874–88.
17. Horn HF, Kim DI, Wright GD, Wong ESM, Stewart CL, Burke B, et al. A mammalian KASH domain protein coupling meiotic chromosomes to the cytoskeleton. *J Cell Biol.* 2013; 202: 1023–39.
18. Li X, Wu Y, Huang L, Yang L, Xing X. SPAG4L/SPAG4Lβ interacts with Nesprin2 to participate in the meiosis of spermatogenesis. *Acta Biochim Biophys Sin.* 2019; 51: 669–76.
19. Jiang XZ, Yang MG, Huang LH, Li CQ, Xing XW. SPAG4L, a novel nuclear envelope protein involved in the meiotic stage of spermatogenesis. *DNA Cell Biol.* 2011; 30: 875–82.
20. Göb E, Schmitt J, Benavente R, Alsheimer M. Mammalian Sperm Head Formation Involves Different Polarization of Two Novel LINC Complexes. *PLoS ONE.* 2010; 5: e12072.
21. Kmonickova V, Frolkova M, Steger K, Komrskova K. The Role of the LINC Complex in Sperm Development and Function. *Int J Mol Sci.* 2020; 21: 9058.
22. Ramdas NM, Shivashankar GV. Cytoskeletal control of nuclear morphology and chromatin organization. *J Mol Biol.* 2015; 427: 695–706.
23. Davidson PP, Bruno Cadot B. Actin on and around the Nucleus. *Trends Cell Biol.* 2021; 31: 211–23.
24. Palazzo AF, Joseph HL, Chen YJ, Dujardin DL, Alberts AS, Pfister KK, et al. Cdc42, dynein, and dyactin regulate MTOC reorientation independent of Rho-regulated microtubule stabilization. *Curr Biol.* 2001; 11: 1536–41.
25. Chambliss AB, Khatau SB, Erdenberger N, Robinson DK, Hodzic D, Longmore GD, et al. The LINC-anchored actin cap connects the extracellular milieu to the nucleus for ultrafast mechanotransduction. *Sci Rep.* 2013; 3: 1087.
26. Ramos A, Camargo FD. The Hippo signaling pathway and stem cell biology. *Trends Cell Biol.* 2012; 22: 339–46.
27. Booth AJ, Yue Z, Eykelenboom JK, Stiff T, Luxton GG, Hochegger H, et al. Contractile acto-myosin network on nuclear envelope remnants positions human chromosomes for mitosis. *eLife.* 2019; 8: e46902.
28. Déjardin T, Carollo PS, Sipieter F, Davidson PM, Seiler C, Cuvelier D et al. Nesprins are mechanotransducers that discriminate epithelial-mesenchymal transition programs. *J Cell Biol.* 2020; 219: e201908036.
29. Segura-Totten M, Wilson KL. BAF: Roles in chromatin, nuclear structure and retrovirus integration. *Trends Cell Biol.* 2004; 14: 261–26.
30. Elkhatib RA, Paci M, Boissier R, Longepied G, Auguste Y, Achard V et al. LEM-domain proteins are lost during human spermiogenesis but BAF and BAF-L persist. *Reproduction.* 2017; 154: 387–401.
31. Wu JY, Ribar TJ, Cummings DE, Brton KA, McKnight GS, Means AR. Spermiogenesis and exchange of basic nuclear proteins are impaired in male germ cells lacking Camk4. *Nat Genet.* 2000; 25: 448–52.
32. Mylonis I, Drosou V, Brancorsini S, Nikolakaki E, Sassone-Corsi P, Giannakouros T. Temporal association of protamine 1 with the inner nuclear membrane protein lamin B receptor during spermiogenesis. *J Biol Chem.* 2004; 279: 11626–31.
33. Skoko D, Li M, Huang Y, Mizuuchi M, Cai M, Bradley CM, et al. Barrier-to-autointegration factor (BAF) condenses DNA by looping. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 2009; 106: 16610–15.
34. Dopie J, Skarp KP, Rajakylä EK, Tanhuanpää K, Vartiainen MK. Active maintenance of nuclear actin by importin 9 supports transcription. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 2012; 109: E544–E552.
35. García-González A, Jacchetti E, Marotta R, Tunesi M, Rodríguez Matas JF, Raimondi MT. The Effect of Cell Morphology on the Permeability of the Nuclear Envelope to Diffusive Factors. *Front Physiol.* 2018; 9: 925.
36. Swift J, Ivanovska IL, Buxboim A, Harada T, Dingal PCDP, Pinter J, et al. Nuclear lamin-A scales with tissue stiffness and enhances matrix-directed differentiation. *Science.* 2013; 341: 1240104.
37. Li Y, Chu JS, Kurpinski K, Li X, Bautista DM, Yang L et al. Biophysical regulation of histone acetylation in mesenchymal stem cells. *Biophys J.* 2011; 100: 1902–9.

38. Le HQ, Ghatak S, Yeung CYC, Tellkamp F, Günschmann C, Dieterich C, et al. Mechanical regulation of transcription controls Polycomb-mediated gene silencing during lineage commitment. *Nat Cell Biol.* 2016; 18: 864–75.
39. Russell LD, Russell JA, MacGregor GR, Meistrich ML. Linkage of manchette microtubules to the nuclear envelope and observations of the role of the manchette in nuclear shaping during spermiogenesis in rodents. *Am J Anat.* 1991; 192: 97–120.
40. Pereira CD, Serrano JB, Martins F, da Cruz E Silva OAB, Rebelo S. Nuclear envelope dynamics during mammalian spermatogenesis: New insights on male fertility. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 2019; 94: 1195–219.
41. Lin YH, Lin YM, Wang YY, Yu IS, Lin YW, Wang YH, et al. The expression level of septin12 is critical for spermiogenesis. *Am J Pathol.* 2009; 174: 1857–68.
42. Mostowy S, Cossart P. Septins: The fourth component of the cytoskeleton. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012; 13: 183–94.
43. Frohnert C, Schweizer S, Hoyer-Fender S. SPAG4L/SPAG4L-2 are testis-specific SUN domain proteins restricted to the apical nuclear envelope of round spermatids facing the acrosome. *Mol Hum Reprod.* 2011; 17: 207–18.
44. Yassine S, Escoffier J, Abi Nahed R, Pierre V, Karaouzene T, Ray PF, et al. Dynamics of Sun5 localization during spermatogenesis in wild type and Dpy19l2 knock-out mice indicates that Sun5 is not involved in acrosome attachment to the nuclear envelope. *PLoS ONE.* 2015; 10: e0125452.
45. Shang Y, Yan J, Tang W, Liu C, Xiao S, Guo Y, Yuan L, Chen L, Jiang H, Guo X, et al. Mechanistic insights into acephalic spermatozoa syndrome-associated mutations in the human SUN5 gene. *J Biol Chem.* 2018; 293: 2395–407.
46. Shen J, Chen W, Shao B, Qi Y, Xia Z, Wang F, et al. Lamin A/C proteins in the spermatid acroplaxome are essential in mouse spermiogenesis. *Reproduction.* 2014; 148: 479–87.
47. Pierre V, Martinez G, Coutton C, Delaroché J, Yassine S, Novella C et al. Absence of Dpy19l2, a new inner nuclear membrane protein, causes globozoospermia in mice by preventing the anchoring of the acrosome to the nucleus. *Development.* 2012; 139: 2955–65.
48. Yang K, Adham IM, Meinhardt A, Hoyer-Fender S. Ultra-structure of the sperm head-to-tail linkage complex in the absence of the spermatid-specific LINC component SPAG4. *Histochem Cell Biol.* 2018; 150: 49–59.
49. Yeh CH, Kuo PL, Wang YY, Wu YY, Chen MF, Lin DY, et al. SEPT12/SPAG4/LAMINB1 complexes are required for maintaining the integrity of the nuclear envelope in postmeiotic male germ cells. *PLoS ONE.* 2015; 10: e0120722.
50. Elkhatib RA, Paci M, Longepied G, Saias-Magnan J, Courbière B, Guichaoua MR et al. Homozygous deletion of SUN5 in three men with decapitated spermatozoa. *Hum Mol Genet.* 2017; 26: 3167–71.
51. Elkhatib R, Longepied G, Paci M, Achard V, Grillo JM, Levy N et al. Nuclear envelope remodelling during human spermiogenesis involves somatic B-type lamins and a spermatid-specific B3 lamin isoform. *Mol Hum Reprod.* 2015; 21 (3): 225–36.
52. Serrano JB, Martins F, Sousa JC, Pereira CD, van Pelt AMM, Rebelo S, et al. Descriptive Analysis of LAP1 Distribution and That of Associated Proteins throughout Spermatogenesis. *Membranes (Basel).* 2017; 7 (2): 22.
53. Litvinov VV, Sulima AN, Xaritonova MA, Klepukov AA, Ermilova IYu, Maklygina YuYu. Klinicheskij sluchaj preodoleniya besplodiya, obuslovlennogo muzhskim faktorom (globozoospermiej 1-go tipa), metodom intracitoplazmaticheskoj in'ekcii morfologicheskij normal'nogo spermatozoida s aktivaciej oocitov Ca⁺ - ionoforom. *Andrologiya i genital'naya xirurgiya* 2019; 20 (3): 78–85. Russian.

МЕТОДЫ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ СУДОРОЖНОГО СИНДРОМА ПРИ ОТРАВЛЕНИИ КОНВУЛЬСАНТАМИ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОГО РЯДА

В. Н. Зорина [✉], Е. А. Евдокимова, В. Л. Рейнюк

Научно-клинический центр токсикологии имени академика С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Фосфорорганические соединения (ФОС) и карбаматы — распространенная причина отравлений, ассоциированных с развитием судорожного синдрома. Эти холинергические вещества образуют связь с ацетилхолинэстеразой (АХЭ), что способствует накоплению ацетилхолина в нервных синапсах и приводит к характерным токсическим проявлениям, в том числе к развитию судорог. Стандартная антидотная терапия обеспечивает достаточный контроль симптомов, ослабляет судороги и снижает смертность только при назначении на самой ранней стадии отравления либо при профилактическом введении. Традиционно применяют атропин, который блокирует мускариновые холинергические рецепторы в парасимпатической нервной системе и уменьшает активность сокращения гладких мышц, а также оксимы, реактивирующие обратимо ингибированную АХЭ в никотиновых холинергических синапсах скелетных мышц. Если их недостаточно, для купирования судорог и профилактики развития органических повреждений головного мозга, посттравматической эпилепсии применяют средства бензодиазепинового ряда, взаимодействующие с рецепторами γ -аминомасляной кислоты. Единых официальных руководств на случай, когда антидоты не действуют или действуют недостаточно эффективно, не существует. Нежелательные побочные эффекты и прогрессирующее снижение эффективности существующих средств через 30 мин после воздействия ФОС обуславливают необходимость поиска новых средств. Среди разрабатываемых подходов — комбинированные схемы лечения, новые лекарственные формы, создание оригинальных или модификация существующих молекул, рассмотрению которых посвящен настоящий обзор.

Ключевые слова: судорожный синдром, нейротоксиканты, фосфорорганические соединения, холинергические вещества, антиконвульсант, антидоты, терапия, профилактика

Вклад авторов: В. Н. Зорина — анализ литературных данных, написание статьи; Е. А. Евдокимова — нормоконтроль, составление списка литературы; В. Л. Рейнюк — внесение дополнений и уточнений в текст рукописи.

✉ **Для корреспонденции:** Вероника Николаевна Зорина
ул. Бехтерева, д. 1, г. Санкт-Петербург, 192019, Россия; uchsovet@toxicology.ru

Статья получена: 21.04.2022 **Статья принята к печати:** 15.05.2022 **Опубликована онлайн:** 05.06.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.019

METHODS FOR PREVENTION AND TREATMENT OF CONVULSIVE DISORDERS ASSOCIATED WITH CHOLINERGIC CONVULSANT INTOXICATION

Zorina VN [✉], Evdokimova EA, Rejniuk VL

Golikov Scientific and Clinical Center of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency, Saint-Petersburg, Russia

Organophosphates (OPs) and carbamates are a common cause of intoxication associated with convulsive disorders. These cholinergic substances form a bond with acetylcholinesterase (AChE), thus contributing to accumulation of acetylcholine in synapses and causing typical manifestations of toxicity, including seizures. Standard antidote therapy provides sufficient symptom control, reduces seizures and decreases mortality only in case of prescription at the early stage of poisoning or preventive administration. Traditionally, atropine is used, that blocks the activity of the muscarinic cholinergic receptors in the parasympathetic nervous system and reduce the smooth muscle contraction activity, along with oximes that reactivate the reversibly inhibited AChE in the nicotinic acetylcholine receptors found in skeletal muscle. If these are not sufficient, benzodiazepines that interact with γ -aminobutyric acid receptors are used to jugulate seizures, prevent organic brain disease and post-traumatic epilepsy. There are no unified guidelines for the cases of antidotes having no effect or insufficient efficacy of antidotes. Unwanted side effects of the existing drugs and progressive decrease of efficiency within 30 min after exposure to OPs necessitate the search for new agents. Combination therapy, new dosage forms, developing original molecules or modifying the existing ones are among the developed approaches discussed in our review.

Keywords: convulsive syndrome, neurotoxicants, organophosphates, cholinergic, anticonvulsant, antidotes, therapy, prevention

Author contribution: Zorina VN — literature analysis, manuscript writing; Evdokimova EA — compliance check, compilation of reference list; Rejniuk VL — additions and amendments to the manuscript.

✉ **Correspondence should be addressed:** Veronika N. Zorina
Bekhtereva, 1, Saint-Petersburg, 192019, Russia; uchsovet@toxicology.ru

Received: 21.04.2022 **Accepted:** 15.05.2022 **Published online:** 05.06.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.019

Распространенность и патогенетические механизмы отравления конвульсантами холинергического ряда

Интоксикации конвульсантами химической природы сопровождаются генерализованным судорожным синдромом в виде однократных либо повторных судорог или симптоматического эпилептического статуса [1]. Механизмы развития судорожной активности включают стимуляцию возбуждения или ингибирование тормозных путей в

центральной нервной системе (ЦНС) [2]. Нейротоксиканты могут влиять на нейромедиаторы (синтез, хранение, высвобождение, обратный захват), рецепторы (структуру, активность экспрессии, сродство к нейромедиаторам), а также механизмы сопряжения с эффекторной системой клетки при взаимодействии рецептор-лиганд [3].

Наибольший вклад в отравления, связанные с развитием судорожного синдрома, вносят фосфорорганические соединения (ФОС), выпускаемые в форме сложнэфирных,

амидных или тиоловых производных фосфорной, фосфоновой или фосфиновой кислот. Запрет на применение и утилизация химического оружия снизили риск поражения населения ФОС, но не свели его к нулю, поскольку ФОС широко используют в агрохимическом производстве (пестициды), они являются компонентами лекарственных препаратов [4, 5], входят в состав пластификаторов и многих полимерных материалов, их по-прежнему используют в террористических актах [6]. Пестициды, гербициды и инсектициды вносят основной вклад в структуру острых отравлений в развивающихся странах [4, 6, 7], занимают более 40% в структуре профессиональной патологии сельской местности. Страдает преимущественно население трудоспособного возраста, высок процент случаев продолжительной утраты трудоспособности или инвалидности. Ежегодно в мире от отравления ФОС страдает до миллиона человек, из них около 300 000 умирают. В 2020 г. сообщали уже о 3 млн и даже 5 млн случаев [4, 5]. Только от отравления инсектицидами ежегодно умирают около 100 000 человек. Самоотравление высокими дозами инсектицидов нередко приводит к смерти от сердечно-сосудистого шока, всего 22% отравленных с внебольничной остановкой сердца доживают до госпитализации и 10% — до выписки [8].

По механизму действия ФОС относят к холинергическим веществам. При передаче нервного импульса депонированный в пресинаптических везикулах нейронов ацетилхолин выделяется в синаптическую щель и взаимодействует с двумя видами холинорецепторов — никотиновыми (напрямую взаимосвязанными с ионными каналами) и мускариновыми (опосредованно влияющими на проницаемость ионных каналов). Ацетилхолин разрушается ферментом ацетилхолинэстеразой (АХЭ), что быстро прекращает передачу сигнала и высвобождает молекулу АХЭ для новой реакции [2]. ФОС структурно подобны ацетилхолину, но способны образовывать прочную связь с АХЭ, блокируя ее функции. Отравление ФОС происходит в две фазы: обратимое ингибирование АХЭ, когда связь еще может гидролизироваться (спонтанно либо под воздействием антидотов), что приводит к восстановлению функции фермента, а затем «созревание» или «старение» связи, когда фермент ингибируется уже необратимо [4, 7]. Чем «тяжелее» радикалы (R⁻) в структуре ФОС, тем выше скорость старения [6]. Формирующийся при отравлении ФОС дефицит АХЭ способствует чрезмерному накоплению ацетилхолина в нервных или мионейрональных синапсах периферической и центральной нервных систем, что в конечном счете приводит к характерным токсическим проявлениям (холинергический токсический синдром), развитию судорог, брадикардии, бронхоспазма, вплоть до смертельного исхода [4, 7, 9]. После раннего приступа судорог наступает смешанная холинергическая и нехолинергическая фаза, которая переходит в нехолинергическую, ассоциированную с глутаматергической эксайтотоксичностью и повреждением нейронов [2, 9].

Под действием ФОС высвобождаются медиаторы воспаления, увеличивающие тяжесть последующих судорожных припадков и усиливающие эпилептогенез. Показано значительное повышение уровней провоспалительных цитокинов (IL1b, TNF α , IL6) и простагландина E₂ через 2–24 ч после воздействия ФОС [10]. Активное высвобождение глутамата из пресинаптических окончаний повышает внутриклеточное содержание кальция за счет ингибирования калиевых каналов типа KCNQ2/3, стимулирует другие физиологические и

метаболические эффекты. После острого отравления ФОС могут развиваться хронические невропатологические осложнения вследствие инициации нейродегенеративных процессов, вызванных эксайтотоксическими и нейровоспалительными реакциями [9, 11–13]. Помимо холинергических и глутаматергических эффектов, инсектициды ингибируют активность моноацилглицерин-липазы, что приводит к повышению концентрации каннабиноидного агониста 2-арахидоноилглицерина в головном мозге. Инсектициды также ингибируют разлагающую эндоканнабиноиды амидгидролазу жирных кислот (FAAH) [8]. Возможно прямое сенсibiliзирующее воздействие ФОС на холинорецепторы.

Сходной с ФОС биологической активностью обладают карбаматы (производные карбаминовой кислоты), входящие в состав пестицидов, гербицидов, фунгицидов, инсектицидов, а также присутствующие в составе лекарственных препаратов, в том числе средств для лечения болезни Альцгеймера, миастении, глаукомы [7]. Отравление карбаматами, схожее по механизмам с отравлением ФОС, имеет некоторые особенности [7, 8]. Карбаматы не требуют метаболических преобразований для активации [7], появление клинических признаков отравления отмечают практически сразу после всасывания [14]. Связь карбамат-АХЭ слабее, чем связь с ФОС: фермент быстрее спонтанно гидролизует, и связь не «старееет» [7]. Однако по токсичности карбаматы сопоставимы с ФОС — описаны случаи развития дыхательной недостаточности через 12 ч после отравления [14]. Помимо антихолинэстеразного, карбаматы обладают прямым холиномиметическим действием на холинорецепторы синапсов [3].

Анализ социального статуса отравившихся ФОС и карбаматами дал неожиданные результаты: 23% пострадавших были фермерами, 27% — временными работниками, 21% — домохозяйками, 11% — постоянными сотрудниками и 8% — студентами [5]. Таким образом, помимо риска отравления на производстве с вредными условиями труда или при террористическом акте, достаточно широко распространены случайные или намеренные самоотравления, токсические эффекты при передозировке лекарственных средств, что обуславливает актуальность разработки средств купирования судорожного синдрома.

Целью обзора было проанализировать опубликованные данные о существующих и разрабатываемых методах профилактики и терапии судорожного синдрома при отравлении конвульсантами холинергического ряда и определить наиболее перспективные направления дальнейшей разработки лекарственных средств и комплексных подходов к лечению. Для этого использовали базы данных РИНЦ, PubMedNet. Поиск выполняли по ключевым словам («антидот», «фосфорорганические соединения», «антиконвульсант», «противосудорожное средство» и др.) среди работ, опубликованных за последние 10 лет.

Стандартные методы лечения

При отравлении ФОС особенно важно своевременно оказать помощь пострадавшему. Стандартная антидотная терапия обеспечивает достаточный контроль симптомов, ослабляет судороги и снижает смертность только при назначении на самой ранней стадии отравления либо при профилактическом введении [4].

Обычно применяют комплексное лечение — оксигенацию, деконтаминацию кожных покровов и

слизистых оболочек, по возможности гемодиализ. Атропинизацию начинают до введения кислорода, поскольку отсутствие контроля секреции затрудняет оксигенацию [7]. При этом атропин блокирует мускариновые холинэргические рецепторы в парасимпатической нервной системе, уменьшая активность сокращения гладких мышц [2, 4], но не оказывает выраженного терапевтического эффекта при токсическом поражении ЦНС [11] ввиду сложности преодоления гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Не выражено и его воздействие на холинэргические синапсы скелетных мышц. На никотиновые эффекты ФОС (спазмы и фасцикуляции) атропин не действует [9]. При введении атропина на фоне выраженной гипоксии возможен смертельный исход вследствие блокады окончаний блуждающего нерва и фибрилляции желудочков сердца [3].

Для реактивации АХЭ рекомендовано использование оксимов (обидоксим, метоксим, азоксим и др.), чаще всего 2-пралидоксима хлорида (2-PAM) [4, 6, 13, 15]. На ранней стадии отравления оксими эффективно реактивируют обратимо ингибированную АХЭ в никотиновых холинэргических синапсах скелетных мышц. Однако после «созревания» связи и необратимой инактивации АХЭ оксими практически бесполезны, к тому же у них есть сложности с преодолением ГЭБ [9, 11]. Оксими первого поколения токсичны, при их взаимодействии с ФОС возможно накопление токсичного комплекса ФОС–оксим в организме [3, 6]. У оксимов второго поколения (Н-оксими, включая HI-6, HLo-7, HGG-42) выше фармакологическая активность и биодоступность, ниже токсичность, однако многие из них нестабильны в водных растворах [6]. Среди второго поколения оксимов хорошую клиническую историю имеет леветирацетам [16]. Карбоксим, разработанный еще в СССР, более стабилен в водных растворах, лучше преодолевает ГЭБ. Он значительно эффективнее оксимов первого поколения. Разрабатывают новые реактиваторы АХЭ на основе амидинов и гидразонов. При этом ни один реактиватор АХЭ не является антидотом широкого спектра действия, эффективным при отравлении любыми разновидностями ФОС. Проводят эксперименты по комбинированию оксимов, например 2-PAM и карбоксима, карбоксима и атропина для повышения индекса защиты [6]. Применяют и обратимые ингибиторы АХЭ (пиридостигмин, аминостигмин, физостигмин, галантамин) [3, 4, 9, 12]. Они малотоксичны, но эффективны только при профилактическом введении.

Когда эффективности антидотов первой линии недостаточно, дополнительно применяют противосудорожные средства, в том числе для профилактики развития органических повреждений головного мозга и посттравматической эпилепсии [4, 15]. Используют препараты бензодиазепинового ряда, чаще всего диазепам или лоразепам в высоких дозах. Фармакологическая эффективность бензодиазепинов основана на их взаимодействии с рецепторами γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) и модуляции процессов нейротрансмиссии [17]. В последнее время рекомендуют применение мидазолама, препарата имидазобензодиазепинового ряда, продемонстрировавшего преимущества при сравнительном изучении фармакокинетики [4, 13, 15], разрабатывают новые препараты [4, 18]. При поражении ФОС препараты бензодиазепинового ряда необходимо применять как можно раньше: введение бензодиазепинов в течение первых 30 мин купирует судороги в большинстве случаев [4, 19], через 40 мин

их эффективность уже значительно снижена [4, 15], а через 60 мин после воздействия ФОС бензодиазепины малоэффективны — вне зависимости от общей дозы и количества, преодолевшего ГЭБ [9]. Несмотря на высокую противосудорожную активность и терапевтическую широту бензодиазепинов, устранение судорожного синдрома не защищает жизнь пострадавшего — смерть может наступить и при полном купировании судорог [3]. Описаны случаи невосприимчивости к диазепаму и мидазоламу, которую связывают с опосредованными ФОС нарушениями взаимодействия с рецепторами-мишенями или утратой рецепторов (через 10–20 мин рецепторы к бензодиазепинам исчезают более чем у 50% нейронов), с гибелью нейронов и сопутствующим воспалением [9, 15, 20]. При нарушении функции ГЭБ лейкоциты и альбумин проникают в ЦНС, астроциты активируются альбумином, увеличивается продукция провоцирующего судороги цитокина IL1 β , образуется избыток TGF β , отрицательно влияющий на передачу сигналов в ЦНС. Развивающееся воспаление действует на нейромодуляторы, регуляторно-транспортные белки и способствует возникновению припадков, не поддающихся контролю при применении бензодиазепинов [21].

Для профилактики или экстренной терапии интоксикации ФОС применяют единовременное введение атропина, оксимов (обидоксим, 2-PAM, HI-6) и препаратов, влияющих на ГАМК (диазепам, авизафон). В профилактических антидотах иногда дополнительно используют пиридостигмин [22]. Выпускают автоинжекторы с антидотами — например, двухсекционные MARK-1, DuoDote содержат атропин (2,1 мг/0,7 мл) и 2-PAM (600 мг/2 мл), автоинжектор IM содержит 2 мг атропина и 200 мг хлорида обидоксима, известны трехсекционные автоинжекторы (атропин, оксим и диазепам) [4, 13, 23]. Допускается использование смеси сульфата атропина и обидоксима [23], анонсирован выпуск автоинжекторов с мидазоламом вместо диазепама [13]. Однако даже сочетанные и профилактические схемы введения антидотов, снижающие немедленную летальность, не всегда подавляют судорожную активность, если атропин не введен очень быстро и в высокой дозе [22]. Автоинжекторы имеют ограничения — например, детям можно вводить «взрослую» дозу атропина, но «взрослая» доза пралидоксима для ребенка слишком велика [23].

В настоящее время не существует единого официального руководства на случай, если антидоты не действуют или действуют недостаточно эффективно. При неэффективности догоспитального применения бензодиазепинов лечение чаще всего проводят по клиническим протоколам для эпилептического статуса неспецифической этиологии [19]. В клинической практике применяют противосудорожные препараты, в том числе леветирацетам, фенобарбитал, фенитоин, фосфенитоин и вальпроаты. Известно, что фенитоин (фосфенитоин) стабилизирует неактивную форму нейрональных потенциалзависимых натриевых каналов, но имеет побочные эффекты в виде аритмогенности. Фенобарбитал (барбитурат длительного действия) влияет на ГАМК, ионотропные глутаматные рецепторы AMPA, ингибирует высвобождение нейромедиаторов, но может избыточно угнетать функции ЦНС, в том числе дыхательную. Леветирацетам подавляет высвобождение нейротрансмиттеров за счет связывания с белком синаптических везикул 2A (SV2A), предполагается возможность модуляции рецепторов глутамата (в основном AMPA). Лакозамид усиливает медленную

инактивацию потенциалзависимых натриевых каналов, но может вызывать нарушение сердечной проводимости [21]. Прегабалин и тиагабин блокируют кальциевые каналы [24]. Четких данных по сравнению эффективности этих лекарственных средств нет. По данным ряда клинических исследований она примерно одинакова и составляет около 50% [4, 19].

В эксперименте на крысах под воздействием ФОС внутривенное введение мидазолама и лоразепама в высоких дозах (четырёхкратное превышение терапевтической дозы) подавляло судороги только в 10 и 6% случаев. В другом эксперименте при продолжении или рецидивировании судорожного синдрома сначала большую эффективность по сравнению с вальпроевой кислотой показал фенобарбитал (56% против 35%), однако он обеспечивал длительное облегчение только в 19% случаев [19]. При тестировании прегабалина, леветирацетам и вальпроевой кислоты в качестве препаратов второй линии (в случаях рефрактерного эпилептического статуса), поведенческий ответ у крыс был отсрочен на 30–60 мин (по сравнению с диазепамом и кетамин). Судороги прекращались только при снижении уровня ацетилхолина более чем на 50%. Прегабалин и вальпроевая кислота купировали судороги, но животные не приходили в сознание. Леветирацетам прекращал судороги, крысы приходили в сознание, но страдали от тремора. При этом леветирацетам действовал медленнее, чем прегабалин и вальпроевая кислота. Механизм действия этих препаратов до конца не ясен — предполагают, что они могут снижать активность высвобождения ацетилхолина и глутамата [16].

Если противозамысловительные средства не способствуют прекращению судорожной активности, применяют введение общих анестетиков, таких как кетамин, пентобарбитал или пропופол, в течение 24–48 ч [4, 19]. Подтверждена эффективность дополнительного применения кетамина (ингибитор каналов NMDA-глутаматных рецепторов, взаимодействует с опиоидными, моноаминергическими, мускариновыми и никотиновыми рецепторами, воздействует на L-кальциевые и натриевые ионные каналы и модулирует действие цитокинов, включая IL1, IL6, IL8, IL10, TNF α) после применения антидотов первой линии и бензодиазепинов. В эксперименте установлено, что применение кетамина или пропопола позволяет купировать судороги у крыс, резистентных к воздействию бензодиазепинов [19, 21].

Отдельного внимания заслуживают вальпроевая (2-пропилвалериановая) кислота [16] и ее производные (вальпроаты). Механизм их действия состоит в пре- и постсинаптической модуляции ГАМКергической передачи (вальпроаты повышают синтез и высвобождение, а следовательно, и ингибирующую активность ГАМК, потенцируют ГАМКергическую передачу, непосредственно воздействуют на рецепторы ГАМК за счет снижения активности высвобождения β -гидрооксигенной кислоты, оказывающей возбуждающее действие) [25–27]. Вальпроевая кислота оказывает прямое действие на мембраны клеток, уменьшая параксизмальные разряды нейронов, модулирует натриевые, кальциевые и калиевые каналы. Кроме того, вальпроевая кислота модулирует активность глутамата. Вальпроаты могут повышать внеклеточный уровень серотонина и дофамина в гиппокампе. Высказаны предположения об эпигенетическом воздействии вальпроевой кислоты и ее способности модулировать нейрогенез. Описаны нейропротективные свойства вальпроатов.

Продемонстрирована эффективность вальпроевой кислоты при генерализованных припадках у эпилептиков [25, 26], однако эффективная доза вальпроевой кислоты значительно превышает такую у бензодиазепинов. В экспериментах по изучению эффективности вальпроевой кислоты при внутрибрюшинном введении крысам только высокие дозы (≥ 150 мг/кг) подавляли генерализованные судороги [28]. При внутривенном введении крысам в эксперименте в случаях индуцированного ФОС резистентного к бензодиазепинам эпилептического статуса производные вальпроевой кислоты демонстрировали эффективность в значительно меньших дозах [19].

Альтернативные методы лечения

Нежелательные побочные эффекты и прогрессирующее снижение эффективности существующих препаратов через 30 мин после воздействия ФОС обуславливают необходимость поиска новых средств. Поскольку ФОС действуют быстро, во многих случаях экстренная медицинская помощь опаздывает, поэтому требуются универсальные и быстродействующие противосудорожные средства с возможностью наиболее простого варианта введения [25]. В числе применяемых подходов — комбинированные схемы лечения, новые лекарственные формы, создание оригинальных или модификация существующих молекул.

Комбинированное применение препаратов

Ранняя политерапия (например, сочетающая бензодиазепины с препаратами второй линии или антагонистами NMDA-рецептора) может усиливать контроль над приступами при незначительном усилении побочных эффектов, однако завершённые клинические исследования немногочисленны [21]. Политерапия также может уменьшать количество побочных эффектов за счет снижения доз используемых препаратов и возникновения синергического эффекта [29]. В частности, в эксперименте на крысах сочетание мидазолама, кетамина и вальпроата значительно уменьшало частоту и продолжительность судорог по сравнению с монотерапией более высокими дозами [20]. Сочетанное применение вальпроатов с диазепамом способствует активации нейрогенеза [10], вальпроаты также пытаются сочетать с карнитином [21]. Комбинирование мидазолама с дексмететомидином (антагонист $\alpha 2$ -адренергических рецепторов) превосходит по эффективности монотерапию мидазоламом при снижении судорожной активности у крыс, в том числе при введении через 60 мин после инициации судорожного синдрома [29]. В эксперименте на крысах назначение вальпроата натрия после применения мидазолама снижало частоту и продолжительность судорог, а дополнительное назначение анестетика лозартана снижало количество повреждений головного мозга [30]. Сочетание 3 мг/кг мидазолама, 30 мг/кг кетамина и 90 мг/кг вальпроата в эксперименте на крысах продемонстрировало значительное уменьшение количества и продолжительности судорог по сравнению с монотерапией высокими дозами мидазолама. Эффект наблюдали и через 40 мин после воздействия ФОС, когда мидазолам был уже неэффективен [20].

Изучена эффективность дополнительного применения проциклидина в эксперименте на крысах, отравленных ФОС, при внутрибрюшинном введении в тройном (проциклидин 6 мг/кг, диазепам 10 мг/кг и пентобарбитал

30 мг/кг) и двойном (проциклидин 10 мг/кг и пропофол 50 мг/кг) сочетании. В первом случае через 30–40 мин после отравления судороги купировались, но с 43%-й летальностью и развитием невропатологии у выживших. Во втором случае судороги купировались, но 17% крыс все же умерли в течение 24 ч. При сочетании леветирацетама (50 мг/кг) с проциклидином (10 мг/кг) или карамифеном (10 мг/кг) в большинстве случаев судороги подавлялись, но иногда требовалось добавить мекамиламин. Проциклидин давал лучший эффект, чем карамифен, его профилактическое применение (за 20 мин до отравления ФОС) было гораздо эффективнее введения после отравления. Комбинация атропина и кетамина оказывала противосудорожное действие при введении через 30–120 мин после отравления [22].

В эксперименте на животных действие диазепама (10 мг/кг) усиливалось за счет дополнительного введения флупиртина (50 мг/кг) [12]. Применение нейротектора мемантина в дополнение к бензодиазепинам продемонстрировало слишком узкий терапевтический индекс [4].

Новые неинвазивные лекарственные формы

Перспективными представляются повышение биодоступности и упрощение введения зарегистрированных субстанций за счет разработки неинвазивных лекарственных форм (назальные формы, аэрозоли, защечные растворы). При интраназальном введении хорошее кровоснабжение слизистой оболочки носа может обеспечить фармакокинетическое преимущество: лекарство попадает напрямую в ЦНС и большой круг кровообращения. Замедление всасывания требует повышения дозы, увеличивающего риск передозировки. Однако спреи с препаратами бензодиазипинового ряда рекомендуют даже детям в качестве седативного средства. Согласно результатам метаанализа опыта применения интраназальных форм у детей в качестве седативного средства, мидазолам превосходит по эффективности диазепам. Лоразепам имеет 80%-ю биодоступность, время достижения максимальной концентрации составляет 30 мин, что почти в два раза быстрее, чем при внутримышечном введении, нет существенных отличий в скорости и продолжительности действия при сравнении с внутривенной формой. При купировании судорожных припадков не выявлены отличия по эффективности интраназальной формы мидазолама от внутривенной и ректальной форм диазепама. Среднее время прекращения приступов после введения мидазолама составляло 3–4 мин, максимальная концентрация в плазме крови достигалась через 25 мин, а клинически значимая концентрация — в течение 10 мин [31]. Большинство интраназальных форм бензодиазепинов и трансбуккальная форма мидазолама зарегистрированы только как седативные и снотворные средства, однако в США зарегистрирован назальный спрей на основе диазепама VALTOCO, который показан к применению в качестве противосудорожного средства.

Протестированные на крысах назальные спреи с атропином демонстрируют сопоставимую с парентеральной формой введения эффективность, быструю системную абсорбцию. Проведены ограниченные клинические исследования назальных капель атропина с хитозаном, пик концентрации отмечали через 30 мин. Нанокристаллы атропина в виде сухого порошка для ингаляций оказались неэффективными: через 15 мин у

добровольцев наблюдали только небольшой пик в крови, второй пик через 60 мин был связан с абсорбцией вещества в ЖКТ. В эксперименте на добровольцах для достижения концентрации в крови, равноценной однократной внутримышечной инъекции (2 мг) потребовалось шесть ингаляций порошком атропина (в дозе 0,4 мг/ингаляция), что сочли малоперспективным [4].

Разработана сублингвальная быстро распадающаяся таблетка атропина, сопоставимая по проницаемости с раствором, однако биоэквивалентная сублингвальная доза атропина не установлена [4].

Разработка новых производных вальпроевой кислоты

Применение вальпроевой кислоты в качестве антидота малоприменяемо из-за большой дозы, необходимой для эффективного купирования судорог. Однако амидные производные (например, новое производное вальпроевой кислоты и 1,3,4-тиадиазола (вальпрозоламида)) демонстрируют в экспериментах более высокую противосудорожную активность и меньшую нейротоксичность. Значения DL_{50} и TD_{50} вальпрозоламида при внутрибрюшинном введении мышам составляли 924,8 (756,9–1063,7) мг/кг и 456,7 (325,4–603,6) мг/кг [32].

Валноктамид более эффективен и имеет меньше побочных эффектов, чем вальпроат натрия [21]. Его тестировали на крысах разного возраста (21-, 28- и 70-дневных) — значения ED_{50} составили 34–165 мг/кг. Только у 9% животных развивались спорадические кратковременные эпизоды судорожной активности через 2–3 ч после начала лечения. Показана эффективность валноктамида при внутрибрюшинном введении на крысах и морских свинок (ED_{50} 62–80 мг/кг), в том числе при отсроченном применении и в комбинации с диазепамом в дозе 2,2 мг/кг (монотерапия диазепамом в указанной дозе неэффективна) [28].

Сек-бутилпропилацетамид (SPD) — более мощный гомолог валноктамида, что показано в экспериментах на крысах [21]. У SPD и валноктамида ED_{50} составляет около 65 мг/кг, в то время как у вальпроевой кислоты — 366 мг/кг. Препарат тестировали на мышах, крысах и морских свинок. При применении через 30 мин после воздействия ФОС на модели судорожного синдрома у крыс (внутрибрюшинное введение) диазепам, вальпроевая кислота, валноктамид были неэффективны, а суспензия SPD в дозе 84 мг/кг подавляла судороги [33].

На мышах продемонстрирована противосудорожная эффективность N-замещенных вальпроамидов при внутрибрюшинном введении [26]. Пролонгированная форма вальпроевой кислоты (в виде пролекарства, активируемого в процессе метаболизма) селективно связывалась с белком-транспортером аминокислот (LAT1) в эксперименте на животных, что способствовало более эффективному проникновению в ЦНС и главному высвобождению активного компонента [34]. Амидные производные вальпроевой кислоты (RDG1–RDG8) более активны, чем вальпроат натрия в эксперименте [27].

Другие методы лечения

Из разрабатываемых противоэпилептических препаратов бриварацетам в доклинических исследованиях ингибировал высвобождение нейротрансмиттеров, эффективнее связывался с белком SV2A, чем леветирацетам, быстрее действовал, имел меньшее количество побочных эффектов.

В доклинических исследованиях был эффективен перампанел (селективный антагонист глутаматного рецептора AMPA) [21]. Разрабатывают новый антагонист ионотропных глутаматных рецепторов AMPA и KAR [29].

В случаях, если после контакта с ФОС прошло более 30 мин, предложено использовать нейростероидные препараты [9]. Есть предположение, что они действуют как положительные аллостерические модуляторы (в наномолярных концентрациях) и прямые активаторы (в микромолярных концентрациях) всех изоформ рецептора ГАМК (синаптические и внесинаптические рецепторы). Применение эндогенных нейростероидов (аллопрегнанолон) экономически нецелесообразно, однако синтетические нейростероиды (альфаксолон, ганаксолон) более активны при пероральном приеме и имеют в 4–6 раз более длительный период полувыведения. В эксперименте на крысах показана эффективность ганаксолона при внутримышечном введении: монотерапия предотвращала гибель нейронов, снижала потерю тормозных интернейронов, сочетание с мидазоломом повышало эффективность. Аналоги ганаксолона SGE-516 усиливали токи ГАМК [9, 21].

Дифенгидрамин продемонстрировал схожую эффективность с атропином при отравлении ФОС. Выявлена антидотная активность хлорфенирамина и прометазина в эксперименте. Предложено использовать антигистаминные препараты с центральной антимиускариновой активностью. Монотерапия гликопирролатом, реализующим эффекты через периферические рецепторы, или его комбинация с атропином позволяет снизить смертность, однако изменения выраженности холинергических токсических эффектов отсутствуют [4, 7].

Изучено воздействие на цитокиновый профиль введением IL1RA в дополнение к диазепаму. Каннабиноиды усиливают действие вальпроатов, однако прямое противосудорожное действие не доказано [21].

Изучено дополнительное применение ингибиторов гистондеацетилазы в целях воздействия на экспрессию ряда генов, включая усиление экспрессии белков

теплового шока и нейротрофического фактора головного мозга для нейропротекции. Предложено применять белки теплового шока (например, HSP-70), предотвращающие денатурацию белков и нежелательную агрегацию полипептидов, проведено тестирование некоторых противовоспалительных препаратов [10]. В числе других средств, изученных на предмет улучшения контроля над приступами 2-дезоксиглюкоза, гуперзин А, имепитоин, миноклицин, питолизант, глибенкламид, антагонист рецептора P2X7, буметанид, бикарбонат натрия, инфузии блокаторов кальциевых каналов, препараты с неустановленным механизмом противосудорожного действия, например клонидин [3, 4, 8, 21]. Однако все эти методы не самодостаточны и недостаточно эффективны.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, стандартная антидотная терапия отравлений ФОС эффективна только при очень раннем применении. Единые рекомендации по оказанию помощи пострадавшим с судорожным синдромом в случае неэффективности стандартной терапии отсутствуют. Нет единых рекомендаций по купированию судорог в случае их повторного возникновения при длительной транспортировке пострадавшего. Ни один зарегистрированный препарат не обеспечивает комплексную защиту от воздействия нейротоксикантов. Это обуславливает необходимость продолжения исследований по разработке новых средств купирования судорожного синдрома при отравлении конвульсантами холинергического ряда. Наиболее перспективными представляются создание новых лекарственных средств на основе сочетаний зарегистрированных субстанций для достижения кумулятивного эффекта, разработка новых лекарственных форм, повышающих биодоступность препаратов, разработка новых оригинальных веществ путем модификации химического синтеза соединений, обладающих противосудорожной активностью.

Литература

1. Разработка методологии диагностики и фармакологической коррекции последствий отравлений веществами судорожного действия. Методические рекомендации МР ФМБА России 12.08-18. М., 2018; 44 с.
2. Phillips HN, Tormoehlen L. Toxin-induced seizures. *Neurol Clin.* 2020; 38 (4): 867–79.
3. Куценко С. А., редактор. Военная токсикология, радиобиология и медицинская защита. СПб.: Фолиант, 2004; 528 с.
4. Alozi M, Rawas-Qalaji M. Treating organophosphates poisoning: management challenges and potential solutions. *Crit Rev Toxicol.* 2020; 50 (9): 764–79.
5. Reddy BS, Skaria TG, Polepalli S, Vidyasagar S, Rao M, Kunhikatta V, et al. Factors associated with outcomes in organophosphate and carbamate poisoning: a retrospective study. *Toxicol Res.* 2020; 36 (3): 257–66.
6. Гладких В. Д., Назаров В. Б. Реактиваторы холинэстеразы в терапии отравлений нейротропными физиологически активными веществами. *Медицина экстремальных ситуаций.* 2014; 1 (47): 54–6.
7. King AM, Aaron CK. Organophosphate and carbamate poisoning. *Emerg Med Clin North Am.* 2015; 33 (1): 133–51.
8. Eddleston M. Novel clinical toxicology and pharmacology of organophosphorus insecticide self-poisoning. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2019; 59: 341–60.
9. Reddy DS. Mechanism-based novel antidotes for organophosphate neurotoxicity. *Curr Opin Toxicol.* 2019; 14: 35–45.
10. Araujo Furtado M, Rossetti F, Chanda S, Yourick D. Exposure to nerveagents: from status epilepticus to neuroinflammation, brain damage, neurogenesis and epilepsy. *Neurotoxicology.* 2012; 33 (6): 1476–90.
11. Jett DA, Spriggs SM. Translational research on chemical nerve agents. *Neurobiol Dis.* 2020; 133: 104335.
12. Williamson J, Singh T, Kapur J. Neurobiology of organophosphate-induced seizures. *Epilepsy Behav.* 2019; 101 (Pt B): 106426.
13. Newmark J. Therapy for acute nerve agent poisoning: an update. *Neurol Clin Pract.* 2019; 9 (4): 337–42.
14. Lamb T, Selvarajah LR, Mohamed F, Jayamanne S, Gawarammana I, Mostafa A, et al. High lethality and minimal variation after acute self-poisoning with carbamate insecticides in Sri Lanka — implications for global suicide prevention. *Clin Toxicol (Phila).* 2016; 54 (8): 624–31.
15. Wu X, Kuruba R, Reddy DS. Midazolam-resistant seizures and brain injury after acute intoxication of diisopropylfluorophosphate, an organophosphate pesticide and surrogate for nerve agents. *J Pharmacol Exp Ther.* 2018; 367 (2): 302–21.
16. Imran I, Koch K, Schöfer H, Lau H, Klein J. Effects of three anti-seizure drugs on cholinergic and metabolic activity in experimental status epilepticus. *J Pharm Pharm Sci.* 2019; 22 (1): 340–51.

17. Benzodiazepines. LiverTox: clinical and research information on drug-induced liver injury. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Bethesda (MD) [Internet]. 2012. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548298>.
18. Arora N, Dhiman P, Kumar S, Singh G, Monga V. Recent advances in synthesis and medicinal chemistry of benzodiazepines. *Bioorg Chem.* 2020; 97: 103668.
19. Morgan JE, Wilson SC, Travis BJ, Bagri KH, Pagarigan KT, Belski HM, et al. Refractory and super-refractory status epilepticus in nerve agent-poisoned rats following application of standard clinical treatment guidelines. *Front Neurosci.* 2021; 15: 732213.
20. Niquet J, Lumley L, Baldwin R, Rossetti F, Suchomelova L, Naylor D, et al. Rational polytherapy in the treatment of cholinergic seizures. *Neurobiol Dis.* 2020; 133: 104537.
21. Amengual-Gual M, Sánchez Fernández I, Wainwright MS. Novel drugs and early polypharmacotherapy in status epilepticus. *Seizure.* 2019; 68: 79–88.
22. Myhrer T, Aas P. Choice of approaches in developing novel medical counter measures for nerve agent poisoning. *Neurotoxicology.* 2014; 44: 27–38.
23. Vijayaraghavan R. Autoinjector device for rapid administration of drugs and antidotes in emergency situations and in mass casualty management. *J Int Med Res.* 2020; 48 (5): 300060520926019.
24. Al-Otaibi F. An overview of structurally diversified anticonvulsant agents. *Acta Pharm.* 2019; 69 (3): 321–44.
25. Romoli M, Mazzocchetti P, D'Alonzo R, Siliquini S, Rinaldi VE, Verrotti A, et al. Valproic acid and epilepsy: from molecular mechanisms to clinical evidences. *Curr Neuropharmacol.* 2019; 17 (10): 926–46.
26. Tasso SM, Moon SCh, Bruno-Blancha LE, Estiu GL. Characterization of the anticonvulsant profile of valpromide derivatives. *Bioorg Med Chem.* 2004; 12 (14): 3857–69.
27. Upmanyu N, Gupta S, Grover J, Mishra P. Synthesis of valproic acid derivatives and their evaluation for anticonvulsant activity. *The Internet Journal of Alternative Medicine.* 2008; 7 (1): 1–6. Available from: <https://ispub.com/IJAM/7/1/5721>.
28. Haines KM, Matson LM, Dunn EN, Ardinger CE, Stubbs RL, Bibi D, et al. Comparative efficacy of valnoctamide and sec-butylpropylacetamide (SPD) in terminating nerve agent-induced seizures in pediatric rats. *Epilepsia.* 2019; 60 (2): 315–21.
29. Tsai YH, Lein PJ. Mechanisms of organophosphate neurotoxicity. *Curr Opin Toxicol.* 2021; 26: 49–60.
30. Swissa E, Bar-Klein G, Serlin Y, Weissberg I, Kamintsky L, Eisenkraft A, et al. Midazolam and isoflurane combination reduces late brain damage in the paraoxon-induced status epilepticus rat model. *Neurotoxicology.* 2020; 78: 99–105.
31. Bailey AM, Baum RA, Horn K, Lewis T, Morizio K, Schultz A, et al. Review of intranasally administered medications for use in the emergency department. *J Emerg Med.* 2017; 53 (1): 38–48.
32. Мальгин А. С. Оценка острой токсичности и нейротоксичности нового амидного производного вальпроевой кислоты и 1,3,4-тиадиазола. *Медицина.* 2019; 3: 37–46.
33. White HS, Alex AB, Pollock A, Hen N, Ahmad T, Wilcox KS, et al. A new derivative of valproic acid amide possesses a broad-spectrum antiseizure profile and unique activity against status epilepticus and organophosphate neuronal damage. *Epilepsia.* 2012; 53 (1): 131–46.
34. Mikko Gynther M, Peura L, Vernerová M, Leppänen J, Kärkkäinen J, Lehtonen M, et al. Amino acid promoieties alter valproic acid pharmacokinetics and enable extended brain exposure. *Neurochem Res.* 2016; 41: 2797–809.

References

1. Razrabotka metodologii diagnostiki i farmakologicheskoy korekicii posledstvij otravlenij veshchestvami sudorozhnogo dejstviya. Metodicheskie rekomendacii MR FMBA Rossii 12.08-18. M., 2018; 44 p. Russian.
2. Phillips HN, Tormoehlen L. Toxin-induced seizures. *Neurol Clin.* 2020; 38 (4): 867–79.
3. Kucenko SA, editor. Voennaja toksikologija, radiobiologija i medicinskaja zashhita. SPb.: Foliant, 2004; 528 p. Russian.
4. Alozi M, Rawas-Qalaji M. Treating organophosphates poisoning: management challenges and potential solutions. *Crit Rev Toxicol.* 2020; 50 (9): 764–79.
5. Reddy BS, Skaria TG, Polepalli S, Vidyasagar S, Rao M, Kunhikatta V, et al. Factors associated with outcomes in organophosphate and carbamate poisoning: a retrospective study. *Toxicol Res.* 2020; 36 (3): 257–66.
6. Gladkih VD, Nazarov VB. Cholinesterase reactivators in the therapy of intoxication with neurotrophic physiologically active substances. *Extreme Medicine.* 2014; 1 (47): 54–6. Russian.
7. King AM, Aaron CK. Organophosphate and carbamate poisoning. *Emerg Med Clin North Am.* 2015; 33 (1): 133–51.
8. Eddleston M. Novel clinical toxicology and pharmacology of organophosphorus insecticide self-poisoning. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2019; 59: 341–60.
9. Reddy DS. Mechanism-based novel antidotes for organophosphate neurotoxicity. *Curr Opin Toxicol.* 2019; 14: 35–45.
10. Araujo Furtado M, Rossetti F, Chanda S, Yourick D. Exposure to nerveagents: from status epilepticus to neuroinflammation, brain damage, neurogenesis and epilepsy. *Neurotoxicology.* 2012; 33 (6): 1476–90.
11. Jett DA, Spriggs SM. Translational research on chemical nerve agents. *Neurobiol Dis.* 2020; 133: 104335.
12. Williamson J, Singh T, Kapur J. Neurobiology of organophosphate-induced seizures. *Epilepsy Behav.* 2019; 101 (Pt B): 106426.
13. Newmark J. Therapy for acute nerve agent poisoning: an update. *Neurol Clin Pract.* 2019; 9 (4): 337–42.
14. Lamb T, Selvarajah LR, Mohamed F, Jayamanne S, Gawarammana I, Mostafa A, et al. High lethality and minimal variation after acute self-poisoning with carbamate insecticides in Sri Lanka — implications for global suicide prevention. *Clin Toxicol (Phila).* 2016; 54 (8): 624–31.
15. Wu X, Kuruba R, Reddy DS. Midazolam-resistant seizures and brain injury after acute intoxication of diisopropylfluorophosphate, an organophosphate pesticide and surrogate for nerve agents. *J Pharmacol Exp Ther.* 2018; 367 (2): 302–21.
16. Imran I, Koch K, Schöfer H, Lau H, Klein J. Effects of three anti-seizure drugs on cholinergic and metabolic activity in experimental status epilepticus. *J Pharm Pharm Sci.* 2019; 22 (1): 340–51.
17. Benzodiazepines. LiverTox: clinical and research information on drug-induced liver injury. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Bethesda (MD) [Internet]. 2012. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548298>.
18. Arora N, Dhiman P, Kumar S, Singh G, Monga V. Recent advances in synthesis and medicinal chemistry of benzodiazepines. *Bioorg Chem.* 2020; 97: 103668.
19. Morgan JE, Wilson SC, Travis BJ, Bagri KH, Pagarigan KT, Belski HM, et al. Refractory and super-refractory status epilepticus in nerve agent-poisoned rats following application of standard clinical treatment guidelines. *Front Neurosci.* 2021; 15: 732213.
20. Niquet J, Lumley L, Baldwin R, Rossetti F, Suchomelova L, Naylor D, et al. Rational polytherapy in the treatment of cholinergic seizures. *Neurobiol Dis.* 2020; 133: 104537.
21. Amengual-Gual M, Sánchez Fernández I, Wainwright MS. Novel drugs and early polypharmacotherapy in status epilepticus. *Seizure.* 2019; 68: 79–88.
22. Myhrer T, Aas P. Choice of approaches in developing novel medical counter measures for nerve agent poisoning. *Neurotoxicology.* 2014; 44: 27–38.
23. Vijayaraghavan R. Autoinjector device for rapid administration of drugs and antidotes in emergency situations and in mass casualty management. *J Int Med Res.* 2020; 48 (5): 300060520926019.
24. Al-Otaibi F. An overview of structurally diversified anticonvulsant agents. *Acta Pharm.* 2019; 69 (3): 321–44.
25. Romoli M, Mazzocchetti P, D'Alonzo R, Siliquini S, Rinaldi VE, Verrotti A, et al. Valproic acid and epilepsy: from molecular

- mechanisms to clinical evidences. *Curr Neuropharmacol*. 2019; 17 (10): 926–46.
26. Tasso SM, Moon SCh, Bruno-Blancha LE, Estiu GL. Characterization of the anticonvulsant profile of valpromide derivatives. *Bioorg Med Chem*. 2004; 12 (14): 3857–69.
 27. Upmanyu N, Gupta S, Grover J, Mishra P. Synthesis of valproic acid derivatives and their evaluation for anticonvulsant activity. *The Internet Journal of Alternative Medicine*. 2008; 7 (1): 1–6. Available from: <https://ispub.com/IJAM/7/1/5721>.
 28. Haines KM, Matson LM, Dunn EN, Ardinger CE, Stubbs RL, Bibi D, et al. Comparative efficacy of valnoctamide and sec-butylpropylacetamide (SPD) in terminating nerve agent-induced seizures in pediatric rats. *Epilepsia*. 2019; 60 (2): 315–21.
 29. Tsai YH, Lein PJ. Mechanisms of organophosphate neurotoxicity. *Curr Opin Toxicol*. 2021; 26: 49–60.
 30. Swissa E, Bar-Klein G, Serlin Y, Weissberg I, Kamintsky L, Eisenkraft A, et al. Midazolam and isoflurane combination reduces late brain damage in the paraoxon-induced status epilepticus rat model. *Neurotoxicology*. 2020; 78: 99–105.
 31. Bailey AM, Baum RA, Horn K, Lewis T, Morizio K, Schultz A, et al. Review of intranasally administered medications for use in the emergency department. *J Emerg Med*. 2017; 53 (1): 38–48.
 32. Malygin AS. Research of the antiepileptic activity of the new amydic derivative valproic acid and 1,3,4-thiadiazole. *Medicine*. 2019; 3: 37–46. Russian.
 33. White HS, Alex AB, Pollock A, Hen N, Ahmad T, Wilcox KS, et al. A new derivative of valproic acid amide possesses a broad-spectrum antiseizure profile and unique activity against status epilepticus and organophosphate neuronal damage. *Epilepsia*. 2012; 53 (1): 131–46.
 34. Mikko Gynther M, Peura L, Vernerová M, Leppänen J, Kärkkäinen J, Lehtonen M, et al. Amino acid promoieties alter valproic acid pharmacokinetics and enable extended brain exposure. *Neurochem Res*. 2016; 41: 2797–809.

ПЕРВИЧНАЯ МЕДИЦИНСКАЯ СОРТИРОВКА ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 НА ДОГОСПИТАЛЬНОМ ЭТАПЕ

М. А. Черкашин¹✉, Н. С. Березин², Н. А. Березина¹, А. А. Николаев¹, Д. И. Куплевацкая¹, В. И. Куплевацкий¹, Т. М. Ракова¹, И. С. Щепарев³

¹ Лечебно-диагностический центр международного института биологических систем имени С. Березина, Санкт-Петербург, Россия

² Международный институт биологических систем, Санкт-Петербург, Россия

³ Национальный медико-хирургический центр имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Пандемия COVID-19 затронула все сферы жизни и кардинально изменила работу систем здравоохранения во всех странах. В условиях массового, трудно контролируемого обращения пациентов за медицинской помощью, с первых недель остро встал вопрос широкого внедрения в рутинную практику принципов медицинской сортировки (триажа). В обзоре дан анализ 49 публикаций, посвященных разным аспектам организации догоспитальной медицинской сортировки. Значительный интерес представляет динамика изменений подходов к триажу, его целей и технологий, а также роли разных методов лучевой диагностики, в зависимости от того, как накапливался опыт работы с новой инфекцией. Поиск литературы на русском и английском языках проведен за период до 10 марта 2022 г. с использованием различных баз данных и репозитория (Embase, Medline/PubMed, Researchgate, medrxiv.org, РИИЦ). Поиск осуществлялся по ключевым словам «COVID-19», «coronavirus», «коронавирус», «SARS-CoV-2», «2019nCoV», «lung ultrasound», «computed tomography», «computerized tomography», «компьютерная томография», «СТ», «триаж», «сортировка». Стратегия создания центров или пунктов догоспитальной сортировки в случае пандемии позволяет снизить нагрузку на приемные отделения больниц и загруженность стационаров. Быстрый доступ к различным методам медицинской визуализации (рентгенография, ультразвуковое исследование легких или компьютерная томография) значительно облегчает принятие клинического решения и в сложившихся нестандартных условиях может быть признан полезным.

Ключевые слова: новая коронавирусная инфекция, COVID-19, медицинская сортировка, компьютерная томография

Вклад авторов: М. А. Черкашин — планирование статьи, сбор и анализ литературы, подготовка рукописи, редактирование; Н. С. Березин — сбор и анализ литературы, подготовка рукописи; Н. А. Березина — планирование статьи, подготовка рукописи, редактирование; А. А. Николаев, Д. И. Куплевацкая, В. И. Куплевацкий, Т. М. Ракова, И. С. Щепарев — сбор и анализ литературы, подготовка рукописи.

✉ **Для корреспонденции:** Михаил Александрович Черкашин
ул. 6-я Советская, д. 24–26б, г. Санкт-Петербург, 191144, Россия; mc@ldc.ru

Статья получена: 14.04.2022 **Статья принята к печати:** 29.04.2022 **Опубликована онлайн:** 25.05.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.015

PRIMARY PRE-HOSPITAL TRIAGE OF PATIENTS WITH COVID-19

Cherkashin MA¹✉, Berezin NS², Berezina NA¹, Nikolaev AA¹, Kuplevatskaya DI¹, Kuplevatsky VI¹, Rakova TM¹, Shcheparev IS³

¹ Berezin Diagnostic and Treatment Center of International Institute of Biological Systems, St. Petersburg, Russia

² International Institute of Biological Systems, St. Petersburg, Russia

³ Pirogov National Medical and Surgical Center, Moscow, Russia

The COVID-19 pandemic affected every sector of society, radically altering the work of health systems throughout the world. In the situation of the mass influx of patients seeking medical care that was hard to control, the issue of the widespread adoption of the medical sorting (triage) principles became urgent within weeks. The review provides analysis of 49 publications dealing with various aspects of arranging pre-hospital triage. The dynamic changes in approaches to triage, its objectives and technologies, as well as in the contribution of various X-ray imaging methods depending on the evolving experience of working with the novel infection, are of great interest. The search for literature in Russian and English published before March 10, 2022 was performed in a number of databases (Embase, Medline/PubMed, Researchgate, medrxiv.org, RISC). The search was performed using the following keywords: COVID-19, coronavirus, *коронавирус*, SARS-CoV-2, 2019nCoV, lung ultrasound, computed tomography, *компьютерная томография*, CT, triage, *сортировка*. The strategy of establishing pre-hospital triage centers or stations in case of pandemic makes it possible to reduce both the burden on the emergency departments and the occupancy rate for inpatient services. Quick access to various imaging methods (X-ray imaging, lung ultrasound or computed tomography) greatly facilitates taking clinical decisions, and could be considered beneficial in the current extraordinary situation.

Keywords: novel coronavirus infection, COVID-19, triage, computed tomography

Author contribution: Cherkashin MA — article planning, literature collecting and analysis, manuscript writing, editing; Berezina NA — literature collecting and analysis, manuscript writing; Berezin NS — article planning, manuscript writing, editing; Nikolaev AA, Kuplevatskaya DI, Kuplevatsky VI, Rakova TM, Shcheparev IS — literature collecting and analysis, manuscript writing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Mikhail A. Cherkashin
6-ya Sovetskaya, 24–26b, St. Petersburg, 191144, Russia; mc@ldc.ru

Received: 14.04.2022 **Accepted:** 29.04.2022 **Published online:** 25.05.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.015

В конце 2019 г. в Китайской Народной Республике (КНР) началось распространение новой коронавирусной инфекции с эпицентром в городе Ухань провинции Хубэй [1, 2]. Вскоре вирус был идентифицирован. Группой изучения коронавируса международного комитета по таксономии вирусов ему было присвоено название SARS-CoV-2 [3]. Острая инфекция, вызываемая SARS-CoV-2, получила название COVID-19 (Coronavirus disease 2019) [1]. В начале 2020 г. началось активное распространение COVID-19 по миру [4]. В марте 2020 г. эпидемия затронула и Российскую Федерацию (РФ). На фоне бурного роста числа заболевших

11 марта 2020 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) классифицировала COVID-19 как пандемию.

Как показал опыт КНР, Италии, Франции, Испании, массовый приток пациентов выявил острое несоответствие между клиническими потребностями и возможностями стационаров. Скопление пациентов, потенциально не нуждающихся в госпитализации, в приемных отделениях больниц приводило к нехватке мест и увеличению смертности среди тяжелых больных [5, 6]. Уже в первые недели массового распространения новой коронавирусной инфекции остро встала потребность в методике по

выявлению лиц с COVID-19 и их распределению по прогностическому признаку.

В сложившейся ситуации здравоохранению предстояло решить множество задач, в том числе направленных на снижение одномоментной нагрузки на госпитальное звено. Очевидным решением стало масштабное внедрение принципов медицинской сортировки (triage), обычно осуществляемой в случаях крупных катастроф и стихийных бедствий. Основным принцип триажа заключается в том, что при недостатке ресурсов приходится тем или иным способом определять пациентов, которым помощь в стационаре не может быть отложена, и тех, кого можно отправить на амбулаторный этап либо понизить уровень срочности.

В работе представлен аналитический обзор опубликованных за последние два года данных в отношении организации догоспитальной медицинской сортировки пациентов с подозрением на новую коронавирусную инфекцию и роли различных методов медицинской визуализации в поддержке принятия клинических решений. В различных странах и регионах подходы к первичной лучевой диагностике различаются, и отношение (в том числе и декларируемое в клинических рекомендациях) к ней менялось на протяжении всей пандемии. Авторами сделан акцент на применении компьютерной томографии (КТ) органов грудной клетки, поскольку в крупных городах нашей страны этот метод остается наиболее доступным.

Поиск литературы на русском и английском языках за период до 10 марта 2022 г. проводили с использованием различных баз данных и репозиториев (Embase, Medline/PubMed, Researchgate, medrxiv.org, PИHЦ). Поиск осуществлялся по ключевым словам «COVID-19», «coronavirus», «коронавирус», «SARS-COV-2», «2019nCoV» и «computed tomography», «computerized tomography», «компьютерная томография», «СТ», «triage», «сортировка». С учетом малой изученности и большой актуальности темы в анализ включали в том числе публично доступные препринты, статьи со статусом «в печати», абстракты научных конференций и клинические случаи. Каждую из 156 найденных публикаций оценивали минимум два члена авторского коллектива по шкале от 1 до 5 баллов (методология, использование минимум одного метода лучевой диагностики, число пациентов, результаты, клиническая значимость). Каждый случай исключения публикации из анализа требовал комментариев от рецензента. В случае разногласий решение принимали голосованием всего авторского коллектива. Финально было включено 49 публикаций.

Сортировка и ее реализация

Медицинская сортировка (триаж) пациентов с подозрением на новую коронавирусную инфекцию на догоспитальном этапе и в условиях приемных отделений стационаров является ключевым моментом для определения дальнейшей тактики ведения и маршрутизации больного, что, несомненно, влияет на исходы заболевания [7]. Применительно к условиям текущей пандемии триаж на амбулаторном этапе это не что иное, как комплекс диагностических мероприятий, направленных на оценку тяжести состояния пациента и принятие максимально объективного решения о срочности и необходимости его медицинской эвакуации в специализированный (перепрофилированный) стационар. Перевод медицинских учреждений в режим сортировки возможен в исключительных

случаях, как правило, при массовом одномоментном поступлении больных и пораженных. В мирной жизни подобные ситуации возникают в случаях крупных катастроф или стихийных бедствий, а основной целью триажа является оказание медицинской помощи максимальному числу пострадавших или больных в оптимальном объеме [7].

Общей для всех стран проблемой в первые месяцы пандемии стала невысокая доступность лабораторных тестов ПЦР для первичной диагностики у пациентов с подозрением на новую коронавирусную инфекцию [8–10]. Так, среднее время получения результата с момента забора мазка составляло в условиях приемного отделения 573 ± 327 мин (189–2812 мин) [10].

Вместе с тем, для адекватной маршрутизации и первичной сортировки пациентов с респираторными симптомами необходимо достаточно быстро отсеять условно «чистых» пациентов, которые должны получать медицинскую помощь в неинфекционных (неперепрофилированных) учреждениях, а также вычленив группу больных, пораженных коронавирусной инфекцией, для направления их в условно «красные» стационары. Помимо этого, крайне важно уже на догоспитальном этапе, либо в условиях приемного отделения, провести первичную дифференциальную диагностику причин дыхательной недостаточности, поскольку она может быть проявлением неинфекционной соматической патологии [10–12].

На начальном этапе суть триажа заключалась в разделении пациентов на COVID+ и COVID– и большинство работ, опубликованных в 2020 г., описывали именно такую стратегию [10, 13]. Однако уже в первые месяцы пандемии к этой цели добавилась сортировка по степени тяжести, поскольку все системы здравоохранения абсолютно всех стран столкнулись с большой перегрузкой стационарного звена и стала очевидной необходимость выработать четкие критерии для госпитализации в условиях острого дефицита коечной мощности.

В такой ситуации начались поиски диагностических методов, способных в короткие сроки повлиять на принятие клинических решений в ходе медицинской сортировки пациентов. В связи с тем, что ведущим было поражение системы органов дыхания, ряд авторов для дополнительной быстрой оценки состояния пациента предложили использовать различные модальности лучевой диагностики: компьютерную томографию органов грудной клетки, ультразвуковое исследование, классическое рентгеновское исследование [11, 14–17].

В итоге, уже к февралю 2020 г. было сформировано консенсусное мнение, что протоколы триажа должны включать в себя клинические, лабораторные и радиологические данные (как правило, результаты КТ органов грудной клетки) [18–20].

Рентгенография

Классические рентгеновские методы лучевой диагностики, как наиболее доступные и распространенные, начали применять у пациентов с COVID-19 с первых дней пандемии, однако в некоторых работах было показано, что КТ имеет несколько большую чувствительность [17, 21]. Вместе с тем рентгенография обладает рядом преимуществ по сравнению с классической КТ: меньшая лучевая нагрузка, более быстрое получение данных, возможность использования в отделениях реанимации, портативность, — и остается значимым и полезным

Таблица 1. Балльная система совместной оценки рентгенологической картины и результатов КТ (шкала Вrixia в модификации Çinkooglu)

Рентгенографический признак	КТ-признак	Степень (для РГ)	Балл (для КТ)
Отсутствие	Отсутствие	0	0
Туманное уплотнение	Матовое стекло	1	1
Ретикулярное уплотнение	Булыжная мостовая, ретикулярное уплотнение	2	2
Консолидация	Консолидация	3	3

методом для проведения фоллоу-апов и быстрой диагностики возможных осложнений, а также экстренных состояний у уже госпитализированных пациентов [20, 22]. Опубликованы результаты ретроспективного сравнительного исследования по оценке эффективности КТ и рентгенографии органов грудной клетки в процессе триажа при поступлении в стационар [17]. В исследование было включено 113 пациентов, поступивших с подозрением на пневмонию, вызванную COVID-19, в университетскую клинику города Измир (Турция) в период с 15 марта по 1 сентября 2020 г. Критериями включения служили: положительный результат ПЦР, наличие результатов рентгенографии органов грудной клетки с предварительным диагнозом пневмония, наличие результатов КТ органов грудной клетки дополнительно к рентгенографии. Для оценки объема поражения легких авторы использовали собственную модификацию шкалы Вrixia: каждое легкое условно делили на шесть зон, каждое легочное поле оценивали по наличию и степени выраженности «матового стекла», ретикулярных уплотнений, участков консолидации. Более подробно система подсчета представлена в табл. 1.

Подводя итоги, авторы отметили, что для ранних стадий заболевания, когда преобладает симптом матового стекла, рентгенография характеризуется низкой чувствительностью и в такой ситуации КТ эффективна. Однако на продвинутых стадиях пневмонии, с преобладанием ретикулярных и инфильтративных изменений, чувствительность методов становится сопоставима, что позволяет рекомендовать рентгенографию в большей степени не для триажа, а для оценки динамики состояния пациента в условиях отделения интенсивной терапии [17].

Ультразвуковая диагностика

Ультразвуковое сканирование легких (УСЛ) довольно широко используют для быстрой оценки состояния у пациентов с дыхательной недостаточностью в рамках протокола BLUE [23]. В ходе пандемии гриппа H1N1 (2009 г.) были описаны возможности УСЛ в дифференциальной диагностике вирусной и бактериальной пневмонии [24]. К настоящему времени все большее распространение получают портативные ультразвуковые аппараты,

позволяющие выполнять исследование на дому, в автомобиле скорой помощи, у койки пациента (point of care ultrasound, POCUS), поэтому буквально с первых дней нынешней пандемии УСЛ стали применять во многих учреждениях на всех этапах оказания помощи — от амбулаторного до отделений реанимации [14, 25, 26]. В отличие от рентгенографии или КТ, УЗИ позволяет провести оценку довольно быстро (продолжительность выполнения протокола BLUE составляет менее 3 мин), отсутствует какая-либо лучевая нагрузка, исследование может быть повторено многократно в любое время, не требуется транспортировка пациента [14–16]. У пациентов в тяжелом состоянии и с выраженной гипоксемией, для которых транспортировка в кабинет КТ организационно затруднена, УСЛ позволяет быстро оценить степень поражения легких, наличие пневмоторакса или плеврального выпота [14, 27].

Первое известное применение УСЛ для оценки степени поражения легких у пациента с новой коронавирусной инфекцией было опубликовано в 2020 г. группой врачей из университетской клиники Gemelli (Рим, Италия). Авторы сделали вывод о том, что метод можно использовать в качестве первичного скрининга в условиях приемного отделения, так как он позволяет разделить пациентов на группу низкого риска (без ультразвуковых изменений; могут при необходимости ожидать следующего уровня лучевой диагностики) и высокого риска (с выявленными патологическими изменениями; требуют обследования следующего уровня и решения вопроса о начале терапии) [25]. Отдельно было отмечено, что несложность выполнения ультразвукового сканирования и доступность портативных аппаратов позволяют применять его на амбулаторном этапе в рамках пре-триажа для решения вопроса и направлении пациента в приемное отделение больницы.

Другие авторы на основе полученных в ходе клинического исследования данных предложили к внедрению в клиническую практику ультразвуковую классификацию, которая выявляет тяжесть поражения легких и позволяет оценить потребность пациента в переводе в ОРИТ и необходимость проведения механической ИВЛ [16]. Классификация основана на балльной системе: визуально оценивается (от 0 до

Таблица 2. Классификация CO-RADS [7, 38]

CO-RADS	Уровень подозрения на COVID-19	Результаты КТ-обследования
CO-RADS 1	Нет	Нормальные или наличие неинфекционных патологий
CO-RADS 2	Низкий	Патологии, соответствующие инфекциям, отличным от COVID-19
CO-RADS 3	Средний	Наличие COVID-19 неясно
CO-RADS 4	Высокий	Патологии с подозрением на COVID-19
CO-RADS 5	Очень высокий	Типичный COVID-19
CO-RADS 6	ПЦР+	COVID-19

Таблица 3. Классификация результатов КТ в зависимости от степени выявленных изменений

Степень изменений	Основные проявления вирусной пневмонии	Протяженность изменений
КТ-0 (нулевая)	Норма или отсутствие КТ-признаков вирусной пневмонии на фоне типичной клинической картины и соответствующего эпидемиологического анамнеза	
КТ-1 (легкая)	Матовое стекло без иных признаков	Вовлечение паренхимы легкого менее 25%
КТ-2 (среднетяжелая)	Матовое стекло без иных признаков	Вовлечение паренхимы легкого 25–50%
КТ-3 (тяжелая)	Матовое стекло с участками консолидации	Вовлечение паренхимы легкого 50–75% или увеличение объема поражения на 50% за 24–48 ч на фоне дыхательных нарушений
КТ-4 (критическая)	Диффузное уплотнение легочной ткани по типу «матового стекла» и участков консолидации в сочетании с ретикулярными изменениями. Гидроторакс	Вовлечение паренхимы легкого более 75%

4 баллов) степень поражения двенадцати зон (две передних, две задних и две латеральных для каждого легкого). Классификация была названа авторами «LUZ» (lung ultrasound zaragoza score). По оценке, 22 и более баллов LUZ является предиктором перевода пациента на механическую вентиляцию легких [16].

С учетом особенностей POCUS предложен алгоритм догоспитальной сортировки, базирующийся на клинической оценке дыхательной недостаточности (ДН), измерении сатурации и результатах ультразвукового сканирования [26]. После быстрого обследования авторы работы предложили разделять пациентов на четыре группы:

- направляемые на самоизоляцию в домашних условиях (отсутствуют симптомы ДН, $SpO_2 \geq 93\%$, отсутствие патологических ультразвуковых находок — А линии);

- направляемые на самоизоляцию в домашних условиях с последующим активным наблюдением (отсутствуют симптомы ДН, $SpO_2 \geq 93\%$, есть патологические ультразвуковые находки — В линии);

- направляемые домой для кислородотерапии на дому под динамическим наблюдением, либо госпитализируемые, если входят в группы риска (есть симптомы ДН, $SpO_2 < 93\%$, отсутствуют патологические ультразвуковые находки);

- госпитализируемые (есть симптомы ДН, $SpO_2 < 93\%$, есть патологические ультразвуковые находки — В линии) [26].

В ряде сравнительных клинических исследований было показано, что УСЛ и КТ примерно схожи по чувствительности и специфичности с точки зрения первичной диагностики пневмонии, вызванной SARS-CoV-2 [19].

В целом, ультразвуковое сканирование может быть массово внедрено как на догоспитальном этапе и в приемных отделениях для первичной сортировки и стратификации рисков у пациентов, так и для оценки тяжести и динамики состояния в условиях отделений пульмонологии и ОПИТ [14].

Компьютерная томография

КТ органов грудной полости у пациентов с новой коронавирусной инфекцией используют в различных странах для инструментальной поддержки принятия клинических решений в ходе медицинской сортировки, в целях первичной лучевой диагностики и оценки динамики заболевания (амбулаторно и в стационаре, включая отделения реанимации) [28]. На начальном этапе данные о чувствительности и специфичности этого метода в диагностике вирусных пневмоний, вызванных SARS-CoV-2 были довольно вариабельны, однако, после стандартизации и выработки четких критериев, ситуация значительно улучшилась [29].

Уже в апреле 2020 г. был выпущен ряд клинических рекомендаций различных медицинских сообществ (Fleischner Society, The Society of Thoracic Radiology, American College of Radiology, Radiological Society of North America), в которых обсуждалось применение КТ для диагностики коронавирусных пневмоний [30, 31].

Первоначально на КТ возлагали большие надежды с точки зрения диагностики именно COVID-19. Весьма показательна работа, в которой в период с 16 по 22 апреля 2020 г. была проведена серия телефонных интервью с семью руководителями приемных отделений крупных госпиталей из разных регионов Великобритании (Лондон, восточная Англия, северо-западный и юго-западный регионы) [32]. Одной из обсуждаемых тем была сортировка обращающихся пациентов в условиях пандемии. Все опрошенные отметили, что нередко сталкивались с ситуациями, когда у первично бессимптомных пациентов, обращающихся в приемное отделение, например, по поводу травмы, которые исходно были расценены как не пораженные коронавирусной инфекцией, при дальнейшем обследовании уже в «чистом» отделении по результатам КТ случайно выявляли вирусные пневмонии. В связи с этим в рутинной практике в одном из госпиталей начали массово использовать рентгенографию и значительно увеличили применение КТ органов грудной клетки уже в условиях приемного отделения даже у бессимптомных пациентов с целью быстрого исключения поражения легких [32]. Французские исследователи описали опыт функционирования приемных отделений трех крупных университетских клиник города Лион, Франция с марта по апрель 2020 г. [10]. КТ органов грудной клетки выполняли всем пациентам, независимо от причины обращения (есть подозрение на коронавирусную инфекцию или нет, есть положительный результат ПЦР или он отрицателен) с целью сортировки и дальнейшей маршрутизации больных в COVID-отделения или чистые [10].

Однако довольно быстро выяснилось, что рентгенологическая картина любой интерстициальной пневмонии, вызванной респираторными вирусами, примерно одинакова и в реальной практике практически нельзя отличить ковидное поражение от, например, гриппа и фактически возможно только условно оценить объем поражения легких [33]. Следствием этого стала выработка общей позиции — воздерживаться от использования как рентгенографии, так и КТ для рутинной диагностики или скрининга бессимптомных пациентов, поскольку выявляемые изменения имеют невысокую специфичность [28]. Таким образом, на сегодняшний день рекомендация для применения рентгенологических методов диагностики одна: проводить их у среднетяжелых и тяжелых пациентов с симптомами дыхательной недостаточности

даже при отрицательном ПЦР, но с клиническим подозрением на COVID-19. В 12-й версии временных методических рекомендаций Минздрава также указано, что проведение лучевого исследования пациентам с острыми респираторными инфекциями на догоспитальном этапе показано лишь при среднетяжелом, тяжелом и крайне тяжелом состоянии в целях медицинской сортировки [1].

Технические особенности и требования к выполнению КТ у пациентов с подозрением на COVID-19

В подавляющем большинстве случаев для первичной диагностики оптимальным будет выполнение низкодозовой КТ, что позволяет снизить лучевую нагрузку, не теряя в качестве исследования [34, 35]. Процедуру исходно выполняют без внутривенного контрастирования, контраст может быть дополнительно введен при подозрении на легочную эмболию или некротизирующую пневмонию [1, 34–37].

С целью стандартизации оценки и описания снимков различными радиологическими сообществами были разработаны критерии и классификации, которые на сегодняшний день широко используют по всему миру.

Первой попыткой унификации критериев стала разработанная Нидерландским радиологическим обществом в марте 2020 г. классификация CO-RADS, исходно предназначавшаяся для оценки вероятности наличия пневмонии, вызванной коронавирусной инфекцией [7, 38].

Основываясь на наборе конкретных рентгенологических симптомов, уровень вероятности COVID-19 в рамках данной классификации варьирует от очень низкой CO-RADS-1 до очень высокой CO-RADS-5, а максимальный балл CO-RADS-6 дает лабораторное подтверждение (табл. 2). По заключению голландских коллег, рентгенологическую картину необходимо оценивать в совокупности с клиническими симптомами и длительностью заболевания, следует также учитывать тот факт, что в первые дни болезни при нетяжелом ее течении КТ-картина может быть недостоверной.

На этапе клинического внедрения классификации CO-RADS оказалось, что с ее помощью нельзя достоверно установить диагноз COVID-19, хотя на это возлагали большие надежды.

Тем временем уже ранней весной 2020 г. коллегами из Китая и США было предложено несколько вариантов рентгенологической классификации степени поражения легких при вирусной пневмонии [39].

Так, было описано разделение пациентов на четыре категории, в зависимости от процента вовлеченной в патологический процесс паренхимы легких: нормальные легкие (0%), менее 25%, 25–50%, более 50% поражения [39].

В модифицированном виде эта балльная классификация вошла в консенсус Российского общества рентгенологов и радиологов и была принята в нашей стране (табл. 3) [37, 40].

Проведение оценки степени поражения легочной ткани в баллах, как и ожидалось, позволило упростить и ускорить описание исследований, разработать стандартизированные заключения, а также стало для врачей клинических специальностей универсальным инструментом для быстрой предварительной оценки тяжести состояния больного. В условиях нехватки коечных мощностей на пике пандемии балльная классификация тяжести пневмонии в совокупности с клинической картиной и показателями витальных функций легла в

основу алгоритмов сортировки на амбулаторном этапе и в приемных отделениях стационаров. На сегодняшний день рутинным подходом стала госпитализация пациентов преимущественно с КТ-3 и КТ-4. Пациенты с пневмониями КТ-0-2, нетяжелыми клиническими проявлениями и при отсутствии у них факторов риска (возраст старше 60 лет, сахарный диабет, беременность и т. д.) возвращаются на амбулаторный этап под наблюдение врачей поликлиник, получая необходимое лечение на дому [7, 40].

Организация центра догоспитальной медицинской сортировки

На начальном этапе распространения COVID-19 во всех странах работа с основным потоком первичных обращений симптомных пациентов легла на приемные отделения больниц, что привело к их значительной перегрузке [32, 41–45].

Нарастание числа пациентов, трудности с обеспечением инфекционного контроля, недостаточная готовность стационаров к ежедневным массовым поступлениям больных с новой малоизученной инфекцией (или подозрением на ее наличие), ограниченные ресурсы персонала, диагностического оборудования, коечного фонда, технические сложности с получением быстрого ответа ПЦР привели к тому, что в различных учреждениях (а иногда и на региональном уровне) были внедрены стратегии как расширения емкости и непрерывности работы существующих приемных отделений, так и создания альтернативных вариантов первичной медицинской сортировки на догоспитальном этапе.

Реструктуризация существующих приемных отделений больниц является довольно очевидным решением. Группа авторов из Милана в апреле 2020 г. опубликовала работу, посвященную подготовке своего университетского госпиталя к приему пациентов [44]. Первичную оценку (пре-триаж) проводили в автомобиле скорой помощи либо в палатках, установленных перед входом в приемное отделение, где оценивали температуру, сатурацию и респираторные симптомы. Пациентов с подозрением на COVID-19 и сатурацией < 94% направляли на КТ и забор мазка в «красной» зоне приемного отделения, пациентов с симптомами, но сатурацией > 94% — только на забор мазка. После получения результатов исследований каждого пациента повторно осматривал врач для принятия решения о необходимости госпитализации. На случай, если пациента исходно доставляли в тяжелом и крайне тяжелом состоянии и требовалось незамедлительное лечение в отделении интенсивной терапии, в приемном отделении был организован изолированный блок, оснащенный необходимым оборудованием (аппараты ИВЛ, средства мониторинга витальных функций и т. д.) и укомплектованный персоналом основных отделений реанимации. Данная категория пациентов попадала в «реанимацию входа» строго через КТ (транспортировку осуществляли в сопровождении сестер интенсивной терапии) и получала респираторную поддержку в блоке интенсивной терапии приемного отделения до лабораторного подтверждения COVID-19. При положительном результате пациента переводили в основное отделение реанимации COVID-19, при отрицательном мазке — в профильное «чистое» интенсивное отделение [44].

Группа авторов из Миланского и Пармского университетов на основе опыта работы с первыми 702 пациентами в 2020 г. опубликовали диагностический

алгоритм, включающий в себя первичную клиническую оценку больного в палатках, развернутых перед приемным отделением, с последующей маршрутизацией на КТ для решения вопроса о госпитализации [46].

В сентябре 2020 г. были опубликованы результаты опроса руководителей 283 приемных отделений в Испании [43]. В большинстве отделений была введена медицинская сортировка, осуществлено выделение наблюдательных коек и коек первой помощи, внедрено разделение потоков пациентов. Число медицинских сестер было увеличено на 83%, а врачей на 59% (преимущественно в крупных госпиталях) [43].

В качестве способов повышения эффективности работы приемного отделения отмечена необходимость не только в увеличении числа персонала и реконфигурации и зонирования помещений, но и ряда управленческих инициатив [32]. Так, внедрение различных технологических инноваций (мобильные реанимационные тележки) позволило организовывать рабочее место врача-интенсивиста в любой точке приемного отделения. Помимо этого, в большинстве госпиталей были изменены клинические пути.

1. Разделение пациентов на пять категорий, в зависимости от клинической картины и результатов быстрого обследования (оценки сатурации, частоты дыхательных движений, потребности в респираторной поддержке, рентгенологической картины, биохимических маркеров — тропонина, С-реактивного белка и уровня D-димера):

- подходящие для выписки домой или на амбулаторный этап;
- подходящие для выписки на амбулаторный этап после углубленного обследования в условиях приемного отделения;
- нуждающиеся в госпитализации в коенное отделение;
- нуждающиеся в госпитализации в отделение интенсивной терапии;
- нуждающиеся в паллиативной помощи.

2. Ранняя эскалация объема оказываемой помощи уже в условиях приемного отделения.

3. Внедрение команд быстрой интубации, что позволяет в короткие сроки начать респираторную поддержку у пациентов высокого риска и обеспечить их безопасный перевод в отделение интенсивной терапии [32].

Таким образом, стратегия интенсификации работы приемных отделений оказалась работоспособной, хотя для достижения результатов во всех случаях пришлось перестраивать рабочие процессы и внедрять изменения.

Вместе с тем, в ряде случаев были приняты решения о выделении отдельно стоящих подразделений в качестве догоспитальных пре-триаж- и триаж-центров. Так, уже 14 апреля 2020 г. был опубликован один из первых опытов развертывания временной клиники на базе отделения скорой помощи (indoor ambulance bay) в Massachusetts General Hospital в Бостоне, США [12]. В обычной обстановке данное отделение способно принять одновременно до семи бригад скорой помощи, напрямую соединено с приемным отделением и имеет в своем составе площадку санитарной обработки и деконтаминации. Были физически выделены и оборудованы с точки зрения обеспечения инфекционного контроля следующие пространства:

- зона ожидания пациентов;
- регистратура;
- зона медицинской сортировки (четыре смотровых кабинета, в каждом врач и клинический специалист);
- зона забора биологического материала.

После оценки состояния пациента либо отправляли на домашнее лечение под наблюдение врача общей практики, либо передавали для госпитализации в приемное отделение стационара [12].

Авторы отмечают, что обращения происходили по двум основным вариантам: около 75% пациентов были направлены врачами из офисов первичной практики, записывались через колл-центр либо из амбулаторного центра больницы; оставшиеся 25% составили те, кто прибыл самостоятельно. За первые три недели работы через временную клинику прошло 2667 пациентов (в среднем 160 человек в сутки), из них лишь около 1% было перенаправлено в приемное отделение больницы для дальнейшего дообследования и лечения [12].

В Москве в конце марта — начале апреля 2020 г. была разработана и внедрена в реальную практику стратегия использования амбулаторных центров КТ (АКТЦ) для скрининга, маршрутизации и динамического наблюдения пациентов с подозрением на новую коронавирусную инфекцию [40]. На базе городских поликлиник, оснащенных компьютерными томографами, было развернуто 47 центров.

Все томографы были объединены в единое цифровое пространство с помощью Единого радиологического информационного сервиса Единой медицинской информационно-аналитической системы (ЕРИС ЕМИАС), что позволило рентгенологам дистанционно проводить описание результатов исследований, тем самым существенно снизив риск заражения медицинского персонала. Помимо этого, было введено зонирование АКТЦ на «красную», «буферную» и «зеленую» зоны. В «красной» зоне располагались компьютерные томографы. Весь медицинский персонал, работающий в этой зоне, был обеспечен средствами индивидуальной защиты третьего класса. «Буферная» зона служила для переодевания в средства индивидуальной защиты. В «зеленой» зоне находились кабинеты врачей, ординаторские и операционные комнаты. Уже к октябрю 2020 г. через амбулаторные центры прошло более 268 тысяч пациентов [40].

Опубликован опыт развертывания двух амбулаторных триажных центров, оснащенных компьютерными томографами в Санкт-Петербурге [7, 47]. Первые шесть месяцев работы (условно первая и вторая волны пандемии) центры принимали только пациентов, доставляемых бригадами скорой медицинской помощи, обрабатывая за сутки около 400 случаев. Затем маршрутизация была изменена и около 80% обращений стали составлять направленные врачами поликлиник больные с подозрением или с лабораторно подтвержденным COVID-19 и респираторными симптомами. Основными целями работы была предварительная оценка тяжести состояния пациента и принятие решения о необходимости госпитализации в перепрофилированные стационары.

- Стандартный алгоритм оценки включал в себя:
- сбор анамнеза, в том числе эпидемиологический (уточнение вероятных контактов с инфицированными, факта и результата забора мазка на SARS-CoV-2);
 - бесконтактную термометрию;
 - оценку жалоб больного (лихорадка, кашель, одышка, слабость, потеря обоняния и т. д.);
 - оценку частоты дыхательных движений и пульсоксиметрию;
 - измерение артериального давления;
 - получение информации о сопутствующих заболеваниях и дополнительных рисках;
 - с июля 2021 г. дополнительно начался сбор анамнеза

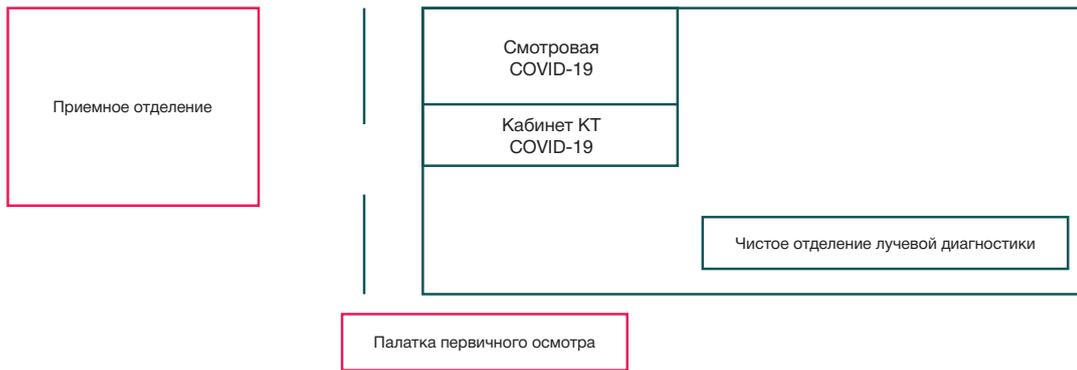


Рис. 1. Зонирование сортировочной площадки Сычуаньской университетской клиники (адаптировано из [49])

вакцинации против новой коронавирусной инфекции [48]. Авторами было отмечено, что в средствах защиты невыполнима аускультация при работе, а элементы физикального осмотра, как, например, пальпация или перкуссия, резко ограничены. Однако полученных данных, как правило, достаточно для первичной оценки тяжести состояния пациента. После врачебного осмотра пациента переводили в кабинет КТ для выполнения томографии, затем повторно осматривали врачом с результатами описания снимков и принимали решение о госпитализации. При необходимости осуществляли респираторную поддержку и мониторинг витальных функций, поскольку оба центра были оснащены источниками кислорода, бифазными дефибрилляторами-мониторами и реанимационными тележками, укомплектованными в соответствии с алгоритмом расширенной реанимации [7].

Крайне важен вопрос сокращения времени, затрачиваемого на медицинскую сортировку. С одной стороны, длительное пребывание в приемном отделении или триажном центре негативно сказывается на психологическом состоянии пациента, с другой стороны, при тяжелом течении заболевания откладывается оказание специализированной помощи. Так, по результатам анализа 1945 обращений пациентов в приемные отделения было выявлено, что среднее время от назначения врачом КТ до ее выполнения и получения описания составило 187 ± 148 мин (21; 1267) [10]. На наш взгляд, в ситуации, когда результат исследования может быть получен в среднем лишь через 3–5 ч, вряд ли такой процесс можно отнести к понятию триаж. Однако, учитывая, что время получения результатов ПЦР на тот момент было в разы

выше, авторы сделали вывод о том, что КТ является быстрым и простым способом поддержки принятия решений в ходе медицинской сортировки [10].

В целом, внедрение догоспитальной сортировки оказалось эффективным и поставленные задачи были выполнены. Так, по данным из Санкт-Петербурга, за период с апреля по ноябрь 2020 г. через сортировочные центры прошло 37 537 пациентов, в 21 986 случаях выявлена интерстициальная пневмония, госпитализация из-за тяжести состояния и объема поражения легких потребовалась 5532 больным, а 32 005 были отправлены на амбулаторный этап [47].

Обеспечение инфекционного контроля

Для обеспечения адекватного инфекционного контроля и оптимизации затрат времени на работу с каждым пациентом в рутинной клинической практике приходится не только изменять процессы, но и проводить ряд инженерных и организационных работ, выполнять реконфигурацию отделений и помещений [32, 44].

Авторы из West China Hospital (Сычуань, Китай) в июне 2020 г. опубликовали опыт реорганизации своего отделения лучевой диагностики в целях первичной сортировки пациентов [49]. Клиника Сычуаньского университета является национальным региональным центром третьего уровня, имеет в своем составе 4300 коек и была перепрофилирована на работу с COVID-19 21 января 2020 г. Перед входом в приемное отделение, для первичной сортировки, были развернуты палатки, в которых проводили осмотр пациентов с симптомами или



Рис. 2. Зонирование этажа с компьютерным томографом. O₂ — источник кислорода, ALS — реанимационная тележка. При возможности, необходимо предусмотреть туалет для пациентов в красной зоне



Рис. 3. Уровни защиты в зависимости от условий работы [7]

подозрением на новую коронавирусную инфекцию. После осмотра пациентов по выделенному пути направляли в отделение лучевой диагностики для выполнения КТ. Служба лучевой диагностики West China Hospital оснащена 12 магнитно-резонансными томографами, 14 компьютерными томографами, одной ангиографической установкой, 32 аппаратами для рентгенографии и имеет в штате 65 врачей-рентгенологов и 161 представителя среднего медицинского персонала (рентгенлаборанты, медицинские сестры, регистраторы, медицинские техники и инженеры). Одно из подразделений, имеющее по четыре аппарата КТ и МРТ расположено на первом этаже рядом с приемным отделением и было задействовано в триаже поступающих пациентов. Для обеспечения инфекционного контроля и создания эпидемиологически оптимальных путей пациентов, данное отделение было поделено на четыре зоны: контаминированную, условно-контаминированную, буферную и чистую (рис. 1) [49].

Применительно к специфике своих поликлинических отделений авторы другой работы описали следующий вариант зонирования: кабинет КТ, смотровая, неотложные укладки и источники кислорода находятся в контаминированной зоне (рис. 2).

Пациентов доставляют в центр бригадами скорой медицинской помощи, они поднимаются в зону ожидания, где происходит оформление медицинской документации, затем их осматривает врач, выполняет КТ и повторный осмотр с результатами, после чего принимает решение либо об эвакуации в профильный стационар либо о возвращении на амбулаторный этап [7].

Крайне важным моментом для снижения рисков заражения персонала и пациентов является перестройка рутинных рабочих процессов отделений лучевой диагностики. Так, плановые процедуры (скрининг, периодическая рентгенологическая оценка пациентов с ХОБЛ и т. д.) должны быть отложены, количество персонала «первой линии» должно быть уменьшено (поскольку современные технологии позволяют проводить дистанционное описание снимков), рентгенографические исследования, по возможности, необходимо выполнять портативными аппаратами у постели больного, дабы исключить лишние перемещения пациентов в стационаре, в кабинете КТ должен находиться только рентгенлаборант, а рентгенолог должен описывать снимки удаленно из чистой зоны [20].

Высокий риск контаминации персонала вирусным аэрозолем, необходимость регулярной обработки и дезинфекции кабинетов, использование средств индивидуальной защиты и другие факторы значительно усложняют выполнение КТ и требуют четкого планирования и управления имеющимися ресурсами [34, 49]. Серьезным вопросом представляется рациональное использование средств индивидуальной защиты. В начальном периоде пандемии информация была крайне противоречивой, большинство специалистов здравоохранения не имели опыта работы с СИЗ, что потребовало специальной подготовки. Например, в одном из сообщений описан опыт перепрофилирования крупной региональной больницы, при котором уделено много внимания подготовке персонала. Было внедрено три ступени тренингов: лекции с живой демонстрацией СИЗ и процедур их надевания и снятия (1 ч, группы не более 25 человек), симуляционное занятие по надеванию, использованию и снятию СИЗ (1 ч, группы не более 5 человек), внезапные индивидуальные проверки после начала работы (20 мин, заполнение чек-листа) [44]. Эволюция взглядов на применение средств индивидуальной защиты в ходе пандемии представляется нам отдельной большой темой для изучения, поэтому в данной публикации мы хотели бы отметить лишь ключевые этапы. На сегодняшний день всеми отечественными и зарубежными регуляторными агентствами (Роспотребнадзор, Минздрав, CDC, NHS и т. д.) принято выделение уровней СИЗ [1, 7]:

– уровень 1: вероятен контакт с пациентом с подозрением на COVID-19 (сотрудники приемных отделений неперепрофилированных больниц; бригады скорой помощи; персонал коечных отделений, выделенных для лечения пневмоний; работники амбулаторного звена, принимающие пациентов с признаками ОРВИ; лица, выполняющие инструментальную диагностику у пациентов с признаками респираторных инфекций и т. д.);

– уровень 2: длительный контакт с пациентом, подозреваемым на наличие COVID-19, либо при подтвержденной лабораторной инфекции в условиях коечного отделения инфекционного/перепрофилированного стационара;

– уровень 3: длительный контакт с пациентами с подозрением на COVID-19 и лабораторно подтвержденным COVID-19 в условиях отделения реанимации, а также

проведение инвазивных вмешательств на дыхательных путях у данной категории пациентов и нахождение в помещениях, в которых проводится неинвазивная вентиляция легких.

Примерная комплектация различных уровней СИЗ представлена на рис. 3.

Таким образом, к настоящему моменту для работы в условиях сортировочных площадок на догоспитальном этапе достаточно применения средств индивидуальной защиты первого уровня [1, 7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Концепция создания центров или пунктов догоспитальной медицинской сортировки в случае пандемии позволяет

снизить нагрузку на приемные отделения больниц и загруженность стационаров в целом. Быстрый доступ к различным методам медицинской визуализации (рентгенографии, ультразвуковому исследованию легких или КТ) значительно облегчает принятие клинического решения и в сложившихся нестандартных условиях может быть признан полезным, однако необходимо четко следовать клиническим рекомендациями, для того чтобы избежать избыточного применения КТ органов грудной клетки без должных показаний. Организация деятельности подобных центров нуждается в тщательной подготовке с точки зрения инфекционного контроля, проработке безопасных маршрутов и разделения потоков больных.

Литература

1. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 12 от 21.09.2021 Министерство здравоохранения Российской Федерации.
2. Zhu N, Zhang D, Wang, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in china, 2019. *The New England Journal of Medicine*. 2020; 382 (8): 727–73.
3. Ciotti M, Angeletti S, Minieri M, et al. COVID-19 Outbreak: an overview. *Chemotherapy*. 2019; 64: 215–23. DOI: 10.1159/000507423.
4. Ye Q, Wang B, Mao J, et al. Epidemiological analysis of COVID-19 and practical experience from China. *Journal of medical virology*. 2020; 92 (7): 755–69.
5. Orfali K. What Triage Issues Reveal: Ethics in the COVID-19 Pandemic in Italy and France. *J Bioeth Inq*. 2020; 17 (4): 675–9. DOI: 10.1007/s11673-020-10059-y.
6. Herreros B, Gella P, Real de Asua D. Triage during the COVID-19 epidemic in Spain: better and worse ethical arguments. *Journal of medical ethics*. 2020; 46 (7): 455–8. Available from: <https://doi.org/10.1136/medethics-2020-106352>.
7. Березина Н. А., Черкашин М. А., Куплевацкий В. И., Куплевацкая Д. И., Ракова Т. М., Николаев А. А., и др. Организация работы амбулаторного центра компьютерной томографии для оказания экстренной помощи пациентам с подозрением на новую коронавирусную инфекцию. Учебное пособие. М.: Инфра-М, 2020; 78 с. DOI: 10.12737/1222384.
8. Ai T Yang Z Hou H, et al. Correlation of chest CT and RT-PCR testing for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: a Report of 1014 Cases. *Radiology*. 2020; 296: E32–E40.
9. Xie X, Zhong Z, Zhao W, et al. Chest CT for typical Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) pneumonia: relationship to negative RT-PCR testing. *Radiology*. 2020; 296: E41–E45.
10. Ducray V, Vlachomitrou AS, Bouscambert-Duchamp M, et al. Chest CT for rapid triage of patients in multiple emergency departments during COVID-19 epidemic: experience report from a large French university hospital. *Eur Radiol*. 2021; 31: 795–803. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00330-020-07154-4>.
11. Cao Y, Li Q, Chen J, et al. Hospital Emergency Management Plan During the COVID-19 Epidemic. *Acad Emerg Med*. 2020; 27 (4): 309–11. DOI: 10.1111/acem.13951.
12. Baugh JJ, Yun BJ, Searle E, et al. Creating a COVID-19 surge clinic to offload the emergency department. *Am J Emerg Med*. 2020; 38 (7): 1535–7. DOI: 10.1016/j.ajem.2020.04.057.
13. Bai HX, Hsieh B, Xiong Z, et al. Performance of radiologists in differentiating COVID-19 from viral pneumonia on chest CT. *Radiology*. 2020; 200823. Available from: <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200823>.
14. Ciurba BE, Sárközi HK, Szabó IA, et al. Advantages of lung ultrasound in triage, diagnosis and monitoring COVID-19 patients: review. *Acta Marisiensis — Seria Medica*. 2021; 67 (2): 73–76. DOI:10.2478/amma-2021-0019.
15. Lieveld AWE, Kok B, Schuit FH, et al. Diagnosing COVID-19 pneumonia in a pandemic setting: Lung Ultrasound versus CT (LUVCT) — a multicenter, prospective, observational study. *ERJ Open Res*. 2020; 6 (4): 00539–2020.
16. Garcia-Rubio J, Lopez-Gimenez I, Horna-Garces V, et al. Point-of-care lung ultrasound assessment for risk stratification and therapy guiding in COVID-19 patients. A prospective non-interventional study. *Eur Respir J*. 2021; 2004283.
17. Çinkooğlu A, Bayraktaroğlu S, Ceylan N, et al. Efficacy of chest X-ray in the diagnosis of COVID-19 pneumonia: comparison with computed tomography through a simplified scoring system designed for triage. *Egypt J Radiol Nucl Med*. 2021; 52: 166. Available from: <https://doi.org/10.1186/s43055-021-00541-x>.
18. Bernheim A, Mei X, Huang M, et al. Chest CT Findings in Coronavirus Disease-19 (COVID-19): Relationship to Duration of Infection. *Radiology*. 2020 295 (3): 200463. DOI: 10.1148/radiol.2020200463.
19. Alcantara ML, Bernardo MPL, Aufran TB, et al. Lung ultrasound as a triage tool in an emergency setting during the Covid-19 outbreak: comparison with CT findings. *Int J Cardiovasc Sci*. 2020; 33 (5): 479–87 DOI: 10.36660/ijcs.20200133.
20. Sverzellati N, Milone F, Balbi M. How imaging should properly be used in COVID-19 outbreak: an Italian experience. *Diagn Interv Radiol*. 2020; 26 (3): 204–6. Available from: <https://doi.org/10.5152/dir.2020.30320>.
21. Wong HYF, Lam HYS, Fong AH, et al Frequency and distribution of chest radiographic findings in patients positive for COVID-19. *Radiology*. 2020; 296 (2): E72–E78. Available from: <https://doi.org/10.1148/radiol.2020201160>.
22. Güneyli S, Atçeken Z, Doğan H, et al Radiological approach to COVID-19 pneumonia with an emphasis on chest CT. *Diagn Interv Radiol*. 2020; 26 (4): 323–32. Available from: <https://doi.org/10.5152/dir.2020.20260>.
23. Liechtenstein DA, Meziere GA. Relevance of Lung Ultrasound in the Diagnosis of Acute Respiratory Failure, The BLUE Protocol. *Chest*. 2008; 134: 117–25.
24. Tsung JW, Kessler DO, Shah VP. Prospective application of clinician performed lung ultrasonography during the 2009 H1N1 influenza A pandemic: distinguishing viral from bacterial pneumonia. *Crit Ultrasound J*. 2012; 4–16.
25. Buonsenso D, Piano A, Raffaelli F, et al. Point-of-Care Lung Ultrasound findings in novel coronavirus disease-19 pneumoniae: a case report and potential applications during COVID-19 outbreak. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020; 24 (5): 2776–80.
26. Piliago C, Strumia A, Stone MB, Pascarella G. The Ultrasound-Guided Triage: A New Tool for Prehospital Management of COVID-19 Pandemic. *Anesth Analg*. 2020; 131 (2): e93–e94.
27. Bello G, Blanco P. Lung ultrasonography for assessing lung aeration in acute respiratory distress syndrome: a narrative review. *J Ultrasound Med*. 2019; 38: 27–37.
28. Machnicki S, Patel D, Singh A, et al. The Usefulness of Chest CT Imaging in Patients With Suspected or Diagnosed COVID-19.

- CHEST. 2021; 160 (2): 652–70. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.chest.2021.04.004>.
29. Salameh J, Leeftang M., Hooft L, et al. Thoracic imaging tests for the diagnosis of COVID-19. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020; 9: Cd013639.
 30. Rubin GD, Ryerson CJ, Haramati LB, et al. The role of chest imaging in patient management during the COVID-19 pandemic: a multinational consensus statement from the Fleischner Society. *Radiology.* 2020; 296 (1): 172–80.
 31. Simpson S, Kay FU, Abbara S, et al. Radiological Society of North America expert consensus document on reporting chest CT findings related to COVID-19: endorsed by the Society of Thoracic Radiology, the American College of Radiology, and RSNA. *Radiol Cardiothorac Imaging.* 2020; 2 (2): e200152.
 32. Walton H, Navaratnam AV, Ormond M, et al. Emergency medicine response to the COVID-19 pandemic in England: a phenomenological study. *Emerg Med J.* 2020; 37 (12): 768–72. DOI: 10.1136/emmed-2020-210220.
 33. Wang W, Xu Y, Gao R, et al. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA.* 2020; 323 (18): 1843–44. DOI:10.1001/jama.2020.3786
 34. Kwee TC, Kwee RM. Chest CT in COVID-19: what the radiologist needs to know. *RadioGraphics.* 2020; 40 (7): 1848–65.
 35. Dangis A, Gieraerts C, Bruecker YD, et al. Accuracy and reproducibility of low-dose submillisievert chest CT for the diagnosis of COVID-19. *Radiol Cardiothorac Imaging.* 2020; 2 (2): e200196.
 36. Homayounieh F, Holmberg O, Umairi RA, et al. Variations in CT utilization, protocols, and radiation doses in COVID-19 pneumonia: results from 28 Countries in the IAEA Study. *Radiology.* 2021; 298 (3): E141–E151. DOI: 10.1148/radiol.2020203453.
 37. Синицын В. Е., Тюрин И. Е., Митьков В. В. Временные согласительные методические рекомендации Российского общества рентгенологов и радиологов (РОПР) и Российской ассоциации специалистов ультразвуковой диагностики в медицине (РАСУДМ) «Методы лучевой диагностики пневмонии при новой коронавирусной инфекции COVID-19» (версия 2). *Вестник рентгенологии и радиологии.* 2020; 101 (2): 72–89. Available from: <https://doi.org/10.20862/0042-4676-2020-101-2-72-89>.
 38. Prokop M, van Everdingen W, van Rees Vellinga T, et al. CO-RADS: A Categorical CT Assessment Scheme for Patients Suspected of Having COVID-19-Definition and Evaluation. *Radiology.* 2020; 296 (2), E97–E104. Available from: <https://doi.org/10.1148/radiol.2020201473>.
 39. Yang R, Li X, Liu H, et al. Chest CT severity score: an imaging tool for assessing severe COVID-19. *Radiol Cardiothorac Imaging.* 2020; 2e200047.
 40. Морозов С. П., Кузьмина Е. С., Ледихова Н. В., и др. Мобилизация научно-практического потенциала службы лучевой диагностики г. Москвы в пандемию COVID-19. *Digital Diagnostics.* 2020; 1 (1): 5–12. DOI: 10.17816/DD51043.
 41. Mitchell R, Banks C. On behalf of authoring working party Emergency departments and the COVID-19 pandemic: making the most of limited resources *Emergency Medicine Journal* 2020; 37: 258–9.
 42. Mareiniss DP. The impending storm: COVID-19, pandemics and our overwhelmed emergency departments. *Am J Emerg Med.* 2020; 38 (6): 1293–4. DOI: 10.1016/j.ajem.2020.03.033.
 43. Alquézar-Arbé A, Piñera P, Jacob J, et al. Impact of the COVID-19 pandemic on hospital emergency departments: results of a survey of departments in 2020 — the Spanish ENCOVUR study. *Emergencias.* 2020; 32 (5): 320–1.
 44. Carenzo L, Costantini E, Greco M, et al. Hospital surge capacity in a tertiary emergency referral centre during the COVID-19 outbreak in Italy. *Anaesthesia.* 2020; 75 (7): 928–34. DOI: 10.1111/anae.15072. Erratum in: *Anaesthesia.* 2020; 75 (11): 1540.
 45. Spina S, Marrazzo F, Migliari M, et al. The response of Milan's Emergency Medical System to the COVID-19 outbreak in Italy. *Lancet.* 2020; 395: e49–50.
 46. Sverzellati N, Milanese G, Milone F, et al. Integrated Radiologic Algorithm for COVID-19 Pandemic. *J Thorac Imaging.* 2020; 35 (4): 228–33. DOI: 10.1097/RTI.0000000000000516.
 47. Cherkashin M, Berezina N, Nikolaev A, et al. Outpatient CT-centre for emergency triage of COVID-19 patients: local experience from Saint Petersburg. *Insights into Imaging.* 2021; 12 (75): 80. DOI:10.1186/s13244-021-01014-5.
 48. Barchuk A, Cherkashin M, Bulina A, et al. Vaccine Effectiveness against Referral to Hospital and Severe Lung Injury Associated with COVID-19: A Population-based Case-control Study in St. Petersburg, Russia. *medRxiv* 2021.08.18.21262065; DOI: <https://doi.org/10.1101/2021.08.18.21262065>.
 49. Huang Z, Zhao S, Li Z, et al, The Battle Against Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Emergency Management and Infection Control in a Radiology Department. *J Am Coll Radiol.* 2020; 24 (5): 2776–80.

References

1. Vremennye metodicheskie rekomendacii «Profilaktika, diagnostika i lechenie novoj koronavirusnoj infekcii (COVID-19). Versiya 12 ot 21.09.2021 Ministerstvo zdravooxraneniya Rossijskoj Federacii. Russian.
2. Zhu N, Zhang D, Wang, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in china, 2019. *The New England Journal of Medicine.* 2020; 382 (8): 727–73.
3. Ciotti M, Angeletti S, Minieri M, et al. COVID-19 Outbreak: an overview. *Chemotherapy.* 2019;64: 215–23. DOI: 10.1159/000507423.
4. Ye Q, Wang B, Mao J, et al. Epidemiological analysis of COVID-19 and practical experience from China. *Journal of medical virology.* 2020; 92 (7): 755–69.
5. Orfali K. What Triage Issues Reveal: Ethics in the COVID-19 Pandemic in Italy and France. *J Bioeth Inq.* 2020; 17 (4): 675–9. DOI: 10.1007/s11673-020-10059-y.
6. Herreros B, Gella P, Real de Asua D. Triage during the COVID-19 epidemic in Spain: better and worse ethical arguments. *Journal of medical ethics.* 2020; 46 (7): 455–8. Available from: <https://doi.org/10.1136/medethics-2020-106352>.
7. Berezina NA, Cherkashin MA, Kuplevackij VI, Kuplevackaya DI, Rakova TM, Nikolaev AA, i dr. Organizaciya raboty ambulatnogo centra komp'yuternoj tomografii dlya okazaniya ehkstroennoj pomoshhi pacientam s podozreniem na novuyu koronavirusnyuyu infekciyu. *Uchebnoe posobie. M.: Infra-M, 2020; 78 s. DOI: 10.12737/1222384. Russian.*
8. Ai T Yang Z Hou H, et al. Correlation of chest CT and RT-PCR testing for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: a Report of 1014 Cases. *Radiology.* 2020; 296: E32–E40.
9. Xie X, Zhong Z, Zhao W, et al. Chest CT for typical Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) pneumonia: relationship to negative RT-PCR testing. *Radiology.* 2020; 296: E41–E45.
10. Ducray V, Vlachomitrou AS, Bouscambert-Duchamp M, et al. Chest CT for rapid triage of patients in multiple emergency departments during COVID-19 epidemic: experience report from a large French university hospital. *Eur Radiol.* 2021; 31: 795–803. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00330-020-07154-4>.
11. Cao Y, Li Q, Chen J, et al. Hospital Emergency Management Plan During the COVID-19 Epidemic. *Acad Emerg Med.* 2020; 27 (4): 309–11. DOI: 10.1111/acem.13951.
12. Baugh JJ, Yun BJ, Searle E, et al. Creating a COVID-19 surge clinic to offload the emergency department. *Am J Emerg Med.* 2020; 38 (7): 1535–7. DOI: 10.1016/j.ajem.2020.04.057.
13. Bai HX, Hsieh B, Xiong Z, et al. Performance of radiologists in differentiating COVID-19 from viral pneumonia on chest CT. *Radiology.* 2020; 200823. Available from: <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200823>.
14. Ciurba BE, Sárközi HK, Szabó IA, et al. Advantages of lung ultrasound in triage, diagnosis and monitoring COVID-19 patients: review. *Acta Marisiensis — Seria Medica.* 2021; 67 (2): 73–76. DOI:10.2478/amma-2021-0019.

15. Lieveld AWE, Kok B, Schuit FH, et al. Diagnosing COVID-19 pneumonia in a pandemic setting: Lung Ultrasound versus CT (LUVCT) — a multicenter, prospective, observational study. *ERJ Open Res.* 2020; 6 (4): 00539–2020.
16. Garcia-Rubio J, Lopez-Gimenez I, Horna-Garcés V, et al. Point-of-care lung ultrasound assessment for risk stratification and therapy guiding in COVID-19 patients. A prospective non-interventional study. *Eur Respir J.* 2021; 2004283.
17. Çinkooğlu A, Bayraktaroglu S, Ceylan N, et al. Efficacy of chest X-ray in the diagnosis of COVID-19 pneumonia: comparison with computed tomography through a simplified scoring system designed for triage. *Egypt J Radiol Nucl Med.* 2021; 52: 166. Available from: <https://doi.org/10.1186/s43055-021-00541-x>.
18. Bernheim A, Mei X, Huang M, et al. Chest CT Findings in Coronavirus Disease-19 (COVID-19): Relationship to Duration of Infection. *Radiology.* 2020 295 (3): 200463. DOI: 10.1148/radiol.2020200463.
19. Alcántara ML, Bernardo MPL, Autran TB, et al. Lung ultrasound as a triage tool in an emergency setting during the Covid-19 outbreak: comparison with CT findings. *Int J Cardiovasc Sci.* 2020; 33 (5): 479–87 DOI: 10.36660/ijcs.20200133.
20. Sverzellati N, Milone F, Balbi M. How imaging should properly be used in COVID-19 outbreak: an Italian experience. *Diagn Interv Radiol.* 2020; 26 (3): 204–6. Available from: <https://doi.org/10.5152/dir.2020.30320>.
21. Wong HYF, Lam HYS, Fong AH, et al Frequency and distribution of chest radiographic findings in patients positive for COVID-19. *Radiology.* 2020; 296 (2): E72–E78. Available from: <https://doi.org/10.1148/radiol.2020201160>.
22. Güneyli S, Atçeken Z, Doğan H, et al Radiological approach to COVID-19 pneumonia with an emphasis on chest CT. *Diagn Interv Radiol.* 2020; 26 (4): 323–32. Available from: <https://doi.org/10.5152/dir.2020.20260>.
23. Liechtenstein DA, Meziere GA. Relevance of Lung Ultrasound in the Diagnosis of Acute Respiratory Failure, The BLUE Protocol. *Chest.* 2008; 134: 117–25.
24. Tsung JW, Kessler DO, Shah VP. Prospective application of clinician performed lung ultrasonography during the 2009 H1N1 influenza A pandemic: distinguishing viral from bacterial pneumonia. *Crit Ultrasound J.* 2012; 4–16.
25. Buonsenso D, Piano A, Raffaelli F, et al. Point-of-Care Lung Ultrasound findings in novel coronavirus disease-19 pneumoniae: a case report and potential applications during COVID-19 outbreak. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2020; 24 (5): 2776–80.
26. Pilięgo C, Strumia A, Stone MB, Pascarella G. The Ultrasound-Guided Triage: A New Tool for Prehospital Management of COVID-19 Pandemic. *Anesth Analg.* 2020; 131 (2): e93–e94.
27. Bello G, Blanco P. Lung ultrasonography for assessing lung aeration in acute respiratory distress syndrome: a narrative review. *J Ultrasound Med.* 2019; 38: 27–37.
28. Machnicki S, Patel D, Singh A, et al. The Usefulness of Chest CT Imaging in Patients With Suspected or Diagnosed COVID-19. *CHEST.* 2021; 160 (2): 652–70. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.chest.2021.04.004>.
29. Salameh J, Leeftang M., Hooft L, et al. Thoracic imaging tests for the diagnosis of COVID-19. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020; 9: Cd013639.
30. Rubin GD, Ryerson CJ, Haramati LB, et al. The role of chest imaging in patient management during the COVID-19 pandemic: a multinational consensus statement from the Fleischner Society. *Radiology.* 2020; 296 (1): 172–80.
31. Simpson S, Kay FU, Abbara S, et al. Radiological Society of North America expert consensus document on reporting chest CT findings related to COVID-19: endorsed by the Society of Thoracic Radiology, the American College of Radiology, and RSNA. *Radiol Cardiothorac Imaging.* 2020; 2 (2): e200152.
32. Walton H, Navaratnam AV, Ormond M, et al. Emergency medicine response to the COVID-19 pandemic in England: a phenomenological study. *Emerg Med J.* 2020; 37 (12): 768–72. DOI: 10.1136/emered-2020-210220.
33. Wang W, Xu Y, Gao R, et al Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA.* 2020; 323 (18): 1843–44. DOI:10.1001/jama.2020.3786
34. Kwee TC, Kwee RM. Chest CT in COVID-19: what the radiologist needs to know. *RadioGraphics.* 2020; 40 (7): 1848–65.
35. Dangis A, Gieraerts C, Bruecker YD, et al. Accuracy and reproducibility of low-dose submillisievert chest CT for the diagnosis of COVID-19. *Radiol Cardiothorac Imaging.* 2020; 2 (2): e200196.
36. Homayounieh F, Holmberg O, Umairi RA, et al. Variations in CT utilization, protocols, and radiation doses in COVID-19 pneumonia: results from 28 Countries in the IAEA Study. *Radiology.* 2021; 298 (3): E141–E151. DOI: 10.1148/radiol.2020203453.
37. Sinicyn VE, Tyurin IE, Mitkov VV. Vremennye soglasitel'nye metodicheskie rekomendacii Rossijskogo obshhestva rentgenologov i radiologov (RORR) i Rossijskoj asociacii specialistov ul'trazvukovoj diagnostiki v medicine (RASUDM) «Metody luchevoj diagnostiki pnevmonii pri novoj koronavirusnoj infekcii COVID-19» (versiya 2). *Vestnik rentgenologii i radiologii.* 2020; 101 (2): 72–89. Available from: <https://doi.org/10.20862/0042-4676-2020-101-2-72-89>. Russian.
38. Prokop M, van Everdingen W, van Rees Vellinga T, et al. CO-RADS: A Categorical CT Assessment Scheme for Patients Suspected of Having COVID-19-Definition and Evaluation. *Radiology.* 2020; 296 (2), E97–E104. Available from: <https://doi.org/10.1148/radiol.2020201473>.
39. Yang R, Li X, Liu H, et al. Chest CT severity score: an imaging tool for assessing severe COVID-19. *Radiol Cardiothorac Imaging.* 2020; 2:e200047.
40. Morozov SP, Kuzmina ES, Ledixova NV, i dr. Mobilizaciya nauchno-prakticheskogo potenciala sluzhby luchevoj diagnostiki g. Moskvy v pandemiyu COVID-19. *Digital Diagnostics.* 2020; 1 (1): 5–12. DOI: 10.17816/DD51043. Russian.
41. Mitchell R, Banks C. On behalf of authoring working party Emergency departments and the COVID-19 pandemic: making the most of limited resources *Emergency Medicine Journal* 2020; 37: 258–9.
42. Mareiniss DP. The impending storm: COVID-19, pandemics and our overwhelmed emergency departments. *Am J Emerg Med.* 2020; 38 (6): 1293–4. DOI: 10.1016/j.ajem.2020.03.033.
43. Alquęzar-Arbę A, Piñera P, Jacob J, et al. Impact of the COVID-19 pandemic on hospital emergency departments: results of a survey of departments in 2020 — the Spanish ENCOVUR study. *Emergencias.* 2020; 32 (5): 320–1.
44. Carengo L, Costantini E, Greco M, et al. Hospital surge capacity in a tertiary emergency referral centre during the COVID-19 outbreak in Italy. *Anaesthesia.* 2020; 75 (7): 928–34. DOI: 10.1111/anae.15072. Erratum in: *Anaesthesia.* 2020; 75 (11): 1540.
45. Spina S, Marrazzo F, Migliari M, et al. The response of Milan's Emergency Medical System to the COVID-19 outbreak in Italy. *Lancet.* 2020; 395: e49–50.
46. Sverzellati N, Milanese G, Milone F, et al. Integrated Radiologic Algorithm for COVID-19 Pandemic. *J Thorac Imaging.* 2020; 35 (4): 228–33. DOI: 10.1097/RTI.0000000000000516.
47. Cherkashin M, Berezina N, Nikolaev A, et al. Outpatient CT-centre for emergency triage of COVID-19 patients: local experience from Saint Petersburg. *Insights into Imaging.* 2021; 12 (75): 80. DOI:10.1186/s13244-021-01014-5.
48. Barchuk A, Cherkashin M, Bulina A, et al. Vaccine Effectiveness against Referral to Hospital and Severe Lung Injury Associated with COVID-19: A Population-based Case-control Study in St. Petersburg, Russia. *medRxiv* 2021.08.18.21262065; DOI: <https://doi.org/10.1101/2021.08.18.21262065>.
49. Huang Z, Zhao S, Li Z, et al. The Battle Against Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Emergency Management and Infection Control in a Radiology Department. *J Am Coll Radiol.* 2020; 24 (5): 2776–80.

ОМИКСНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ДИАГНОСТИКЕ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*Ю. А. Беспятых^{1,2}✉, Д. В. Басманов¹¹ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия² Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева, Москва, Россия

Туберкулез, вызываемый бактериями *Mycobacterium tuberculosis*, продолжает оставаться глобальным бременем для нашей страны и всего мира. По данным Всемирной организации здравоохранения, 10 млн случаев впервые выявленного туберкулеза зарегистрировано в 2019 г. Постоянный рост лекарственно-устойчивого туберкулеза усугубляет ситуацию и оказывается основным препятствием в борьбе с заболеванием. Для разработки новых способов диагностики и стратегий лечения крайне важно максимально полное понимание физиологии патогена и его вирулентных свойств. Мультиомиксные подходы в изучении инфекционных агентов являются крайне полезными для понимания сути заболевания. Несмотря на наличие большого количества геномных и транскриптомных данных, патогенный потенциал, выживаемость, персистенция, иммуномодуляция, механизмы лекарственной устойчивости и взаимодействия между хозяином и патогеном остаются малоизученными. Использование протеомных подходов оказалось более информативным и предоставляет более подробную информацию об истинном состоянии клетки в различных условиях. Подходы протеомики и биоинформатики значительно помогли в идентификации и характеристике целевых белков, которые могут быть использованы для создания новых терапевтических средств. В то же время именно интеграция омиксных данных и единовременное использование системного подхода к изучению различных клинически значимых штаммов микобактерий позволяют существенно расширить знания в понимании механизма заболевания и способов борьбы с инфекцией. В обзоре описаны различные омиксные технологии и их роль в разработке диагностических панелей *M. tuberculosis*.

Ключевые слова: туберкулез, диагностика, системный анализ**Финансирование:** работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-75-10144.**Вклад авторов:** Ю. А. Беспятых — концепция, написание текста и финальное редактирование; Д. В. Басманов — анализ исходных материалов по биосенсорам и чипам, написание текста.✉ **Для корреспонденции:** Юлия Андреевна Беспятых
ул. Малая Пироговская, д. 1а, г. Москва, 119435, Россия; JuliaBes@rcpcm.org**Статья получена:** 12.04.2022 **Статья принята к печати:** 27.04.2022 **Опубликована онлайн:** 16.05.2022**DOI:** 10.47183/mes.2022.013OMICS TECHNOLOGIES IN THE DIAGNOSTICS OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*Bespyatykh JA^{1,2}✉, Basmanov DV¹¹ Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia² Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russia

Tuberculosis, caused by *Mycobacterium tuberculosis*, remains a global burden on our country and entire world. According to the World Health Organization, 10 million incident cases of tuberculosis were registered in 2019. A steady increase in the drug-resistant tuberculosis aggravates the situation and appears to be the major obstacle to the fight against the disease. A thorough understanding of the pathogen physiology and virulence properties is extremely important for the development of new diagnosis methods and treatment strategies. Multiomics approaches to studying the infectious agents are indispensable in understanding the nature of the disease. Despite the availability of sufficient genomic and transcriptomic data, pathogenic potential, survival rate, persistence, immunomodulation, mechanisms underlying drug resistance and host-pathogen interaction remain poorly understood. The use of proteomic approaches has been more informative, and provides more information about the true state of the cell in various conditions. Proteomic and bioinformatic approaches helped considerably in identification and characterization of target proteins that could be used for the development of new therapeutic options. Nevertheless, OMICs data integration with simultaneous use of the system approach to studying various clinically significant mycobacterial strains makes it possible to increase knowledge about the disease mechanisms and infection control methods. The review outlines various OMICs technologies and their role in the development of the *M. tuberculosis* diagnostic panels.

Keywords: tuberculosis, diagnosis, system analysis**Funding:** the study was supported by RSF grant № 20-75-10144.**Author contribution:** Bespyatykh JA — study concept, manuscript writing and editing; Basmanov DV — analysis of raw data on biosensors and microarrays, manuscript writing.✉ **Correspondence should be addressed:** Julia A. Bespyatykh
Malaya Pirogovskaya, 1a, Moscow, 119435, Russia; JuliaBes@rcpcm.org**Received:** 12.04.2022 **Accepted:** 27.04.2022 **Published online:** 16.05.2022**DOI:** 10.47183/mes.2022.013

Mycobacterium tuberculosis является этиологическим агентом туберкулеза и занимает одно из лидирующих мест среди причин смертельных случаев, вызванных инфекционными агентами. Основные проблемы в лечении туберкулеза включают рост числа случаев заражения штаммами с множественной (МЛУ) и широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ), ко-инфекции вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) [1]. В настоящее время терапия туберкулеза включает препараты первого ряда, прием которых занимает 6–9 месяцев и имеет серьезные побочные эффекты [2]. Лечение МЛУ/ШЛУ

требует гораздо большей продолжительности и включает противотуберкулезные препараты второго ряда в дополнение к препаратам первого ряда, пиразинамиду и высоким дозам изониазида [3]. Несмотря на имеющуюся этапность режимов лечения, рост числа случаев МЛУ и ШЛУ создает новые препятствия для существующей лекарственной терапии [4]. Таким образом, становятся очевидными потребность в совершенствовании лекарственных препаратов и способов борьбы с инфекцией, а также необходимость разработки новых вакцинных препаратов.

M. tuberculosis передается преимущественно воздушно-капельным путем, при вдыхании аэрозоля, содержащего клетку возбудителя [5]. После попадания в легкие бактерии инфицируют альвеолярные макрофаги и обходят иммунный ответ хозяина [6]. Для дальнейшего распространения в организме микобактерии подавляют защитный механизм, используемый макрофагами, включая аутофагию, окисление фагосом и выброс активных форм кислорода и азота [7, 8]. Кроме того, инфицированные макрофаги продуцируют хемокины, которые привлекают воспалительные клетки, включая нейтрофилы и естественные клетки-киллеры, что способствует дальнейшему развитию воспаления и образованию многоядерных гигантских клеток, называемых гранулемами [9]. Таким образом, именно гранулемы, обеспечивают нишу для жизнедеятельности бактерий, а также служат резервуаром для распространения инфекции.

Секретируемые *M. tuberculosis* белки (секретом) играют ключевую роль в нарушении иммунного ответа и прогрессировании внутриклеточного роста [10, 11]. Ранний секретируемый антиген (ESAT-6), важный фактор вирулентности *M. tuberculosis*, известен тем, что регулирует иммунный ответ хозяина путем подавления провоспалительных реакций, таких как выработка интерферона гамма (IFN) [12] и интерлейкина-12 (IL12) [13]. Кроме того, ESAT-6 стимулирует выработку IL6 в макрофагах [14] и играет важную роль в индуцировании поляризации макрофагов и их перехода в эпителиоидные макрофаги, являющиеся основной составляющей туберкулезной гранулемы [15, 16]. Показано, что секретируемый эффектор Rv1988 метилирует гистоновые белки клетки хозяина и таким образом эпигенетически модулирует антимикобактериальные функции макрофагов [17]. Все это подтверждает значительную роль белков *M. tuberculosis* в вирулентности [18]. Помимо того, высокопроизводительный скрининг протеома в масштабе всей системы потенциальных антигенов *M. tuberculosis* может быть использован для создания новых вакцин [19].

Несмотря на то что геном *M. tuberculosis* был широко изучен еще в начале 2000-х гг., анализ протеома *M. tuberculosis* отставал из-за сложных протоколов выделения белков и необходимости использования сложного и дорогостоящего оборудования [20]. Более 30% протеома до сих пор не охарактеризовано и представлено гипотетическими белками [21]. Расшифровка функции этих белков будет способствовать лучшему пониманию физиологии и вирулентности *M. tuberculosis*. Очевидно, что она возможна только с привлечением других омиксных технологий, таких как транскриптомика и протеогеномика. Несомненно, что важны идентификация и характеристика всех генов, но особое внимание стоит уделить геномным продуктам, ответственным за вирулентность и патогенез. Можно определять как транскрипты, так и белковые продукты и метаболиты, в том числе количественно, что позволит выявить различия в патогенности и лекарственной устойчивости между линиями и штаммами *M. tuberculosis*. В целом, комбинация таких подходов может помочь в поиске новых мишеней для противотуберкулезных препаратов, а также реализации стратегии ВОЗ «Покончить с туберкулезом».

Геномика

На сегодняшний день представление о генетическом потенциале изучаемого объекта будет определять

дальнейшую стратегию любого исследования. Впервые полный геном *M. tuberculosis* H37Rv был опубликован в 1998 г. [22], а развитие технологий секвенирования привело к тому, что на сегодняшний день в базе данных NCBI содержится более 13 тыс. геномов *M. tuberculosis*. Однако стоит отметить, что большинство из них не собраны в кольцо. Долгое время аннотация *M. tuberculosis* H37Rv (27-я версия согласно базе данных TuberculList (<http://tuberculist.epfl.ch/>), содержащая 4018 белок-кодирующих генов, из которых 26% относятся к классу белков с гипотетической функцией, являлась референсной и наиболее полной. В 2019 г. была опубликована полная последовательность штамма RUS_BO, относящегося к семейству Beijing [23].

Микобактерии обладают всеми генами, необходимыми для синтеза незаменимых аминокислот, витаминов, ферментов и кофакторов. Было отмечено, что они имеют высокую долю генов, кодирующих ферменты, участвующие в липогенезе и липолизе. Кроме того, *M. tuberculosis* обладает генами, необходимыми для синтеза гликолитических ферментов и ферментов анаболического пентозофосфатного пути, который генерирует NADPH и пентозы, ферменты цикла Кребса и глиоксилатного цикла, который синтезирует углеводы из жиров. Туберкулезная палочка обладает также ферментами, используемыми в аэробном, микроаэрофильном и бескислородном переносе электронов. Показано, что микобактерии способны выживать в различных условиях среды, в том числе богатых кислородом легких, макрофагах и в центре казеозных гранул [24].

Геном микобактерий богат генами метаболизма жирных кислот, в том числе миколовых, содержащих кислые аспарагин- и глицинбогатые полипептиды. Большую часть генома составляют также гены белков семейств PE (proline-glutamate, $n = 99$) и PPE (proline-proline-glutamate, $n = 68$), вариативность которых, предположительно, обеспечивает различия антигенов и способность ингибировать иммунный ответ [25].

Одной из особенностей генома *M. tuberculosis* является большое число повторяющихся последовательностей ДНК. Например, инсерционные элементы IS (от англ. insertion sequences), способствующие ДНК-полиморфизму микобактерий, и вариативное количество tandemных повторов VNTR (от англ. variable number of tandem repeats). Наряду с IS-элементами содержатся прямые повторы DR (от англ. direct repeat region), разделенные вариативными последовательностями — спейсерами, а также основные полиморфные tandemные повторы MPTR (от англ. major polymorphic tandem repeat) и полиморфная GC-богатая повторяющаяся последовательность PGRS (от англ. polymorphic GC-repetitive sequence). Все эти особенности генома *M. tuberculosis* легли в основу методов диагностики и типирования патогена: полиморфизм длин рестрикционных фрагментов IS6110 (RFLP-типирование) [26], сполиготипирование [27], VNTR-типирование [28]. Дополнительно, в геноме H37Rv были обнаружены последовательности профагов *phiRv1* и *phiRv2*. В связи с тем, что они не были обнаружены в геноме авирулентных H37Ra и *M. bovis* BCG, их ассоциируют с факторами патогенности.

Разработка более специфичных методов типирования, например, включающая лекарственную устойчивость и вирулентность внутри определенных семейств *M. tuberculosis*, требует доподлинно установить функции конкретных генов, их вклад в метаболизм клетки и тем более реализацию уникальных особенностей

патогена. Безусловно, определить все это возможно только с использованием дополнительных методов, таких как транскриптомный и протеомный анализ.

Протеомика

Протеомика является важным инструментом идентификации как известных, так и новых белковых мишеней, которые являются частью системы вирулентности и защитных механизмов клетки, а также ключевым звеном взаимодействия хозяина и патогена. Повышение и снижение синтеза тех или иных белков, связанных с иммунитетом хозяина, с вирулентностью патогена, указывают на их роль в защитных механизмах или патогенезе. Такая регуляция и снижение регуляции полезны для идентификации белков, которые могут оказаться важными в качестве мишеней для лекарств или разработки диагностических инструментов, представляющих различные стадии патогенеза и уровень развития инфекции. Начиная с идентификации любого такого белка для установления его в качестве лекарственной мишени или диагностического маркера, а также для мониторинга кинетики содержания белков в различных органах в ответ на инфекцию, необходимо использовать подход, включающий следующие последовательные шаги: идентификация новых мишеней, проверка их роли *in vitro*, сравнительный анализ уникальности и специфичности мишени, верификация действия мишени в моделях *in vivo*.

Методы протеомного анализа наиболее полно были описаны ранее [20], где в том числе рассмотрены основные результаты протеомного анализа возбудителя туберкулеза. На сегодняшний день они дополнены сведениями об интеграции протеомных и транскриптомных данных, например, для представителей кластера Beijing B0/W148 проведен системный омиксный анализ [23], позволивший выявить дополнительные уникальные особенности представителей.

Актуальность проведения непосредственно системного подхода обусловлена и тем, что наличие транскрипта, в том числе высоко представленного, не всегда ведет к синтезу белка. Соответственно без протеомного анализа транскриптомика не в полной мере показательна. В свою очередь протеомный анализ позволяет зафиксировать конечный продукт, при этом дополнение указанных данных транскриптомными позволяет в большей степени понять физиологию клетки. Существенным недостатком, на сегодняшний день, является также разрозненность характера вновь получаемых данных. Очевидно, что необходимо помещать каждое открытие в контексте других и рассматривать систему как единое целое при разработке диагностических панелей.

Транскриптомика

Как было сказано выше, бактерии должны крайне быстро адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды, и соответственно изменения в экспрессии генов, возникающие в ответ на защитную реакцию организма-хозяина либо на действие лекарственных препаратов, являются необходимым условием для выживания и функционирования патогенов. Изучение транскриптома (полного набора транскриптов, производимого бактерией) в первую очередь дополняет данные секвенирования генома, и для этого используют различные подходы. Методы, применяемые для анализа транскриптомов микобактерий, подробно рассмотрены ранее [29].

Безусловно, основные открытия транскриптомики связаны с изучением резистентности возбудителя туберкулеза. Развитие технологий способствовало появлению ДНК-микрочипов, которые явились мощным инструментом для изучения дифференциальной экспрессии генов, в том числе в условиях *in vivo* [30]. Однако данный метод не нашел применения в диагностике. Использование транскриптов в качестве диагностических мишеней имеет ряд существенных недостатков, основным из которых является время жизни. Тем не менее транскриптомика является крайне существенной для понимания метаболизма клетки и использования остальных омиксных данных в диагностике. Так как применение именно системного анализа позволило выявить комплексные изменения в представленности белков (на транскриптомном и протеомном уровнях), ответственных за биосинтез жирных липидов в вирулентных штаммах *M. tuberculosis* [23, 31, 32]. Последнее в свою очередь продемонстрировало актуальность понимания того, как различные молекулярные части генома (гены и транскрипты) интегрируются в сети, отражающие метаболизм, регуляцию, сигнализацию и белок-белковые взаимодействия.

Метабомика

Метаболические пути лежат в основе функционирования клетки. Их изучение и реконструкция метаболизма являются важным шагом в моделировании клеточной деятельности и, что самое важное, понимании глубинных механизмов на системном уровне.

Микобактерии обязаны многими своими уникальными свойствами миколовым кислотам — компонентам их клеточных стенок. В ряде работ показана важность миколовых кислот для роста, выживания и патогенности бактерий [33]. Именно поэтому биосинтез миколовых кислот стал предметом многих биохимических и генетических исследований [34]. Так, была построена подробная модель синтеза миколовой кислоты в *M. tuberculosis*, включающая 197 метаболитов, участвующих в 219 реакциях, катализируемых 28 белками. В ходе сравнительного анализа метаболических путей *M. tuberculosis* H37Rv и человека было показано, что AccD3, Fas, FabH, Pks13, DesA1/2, DesA3 являются потенциальными мишенями для разработки противотуберкулезных препаратов [35].

Непрерывное накопление данных о белках *M. tuberculosis*, расшифровка их ферментных свойств позволили смоделировать ряд метаболических сетей микобактерий. Так, геномная метаболическая сеть GSMN (от англ. genome-scale metabolic network) включает в себя 849 уникальных реакций с участием 739 метаболитов и 726 генов [36]. Следует отметить, что на сегодняшний день многое остается неясным из-за неполной характеристики некоторых белков и неполной информации об их биохимических реакциях. В то же время использование имеющихся метаболических сетей позволило определить 318 белков, необходимых для роста микобактерии [35]. Таким образом, можно предположить, что именно эти 318 белков играют важную роль в поддержании их метаболизма.

Белок-белковые взаимодействия формируют основу для путей передачи сигнала в клетке, а также различных транскрипционных регуляторных сетей. Наиболее расширенная версия сети протеомных взаимодействий *M. tuberculosis* H37Rv на сегодняшний день представлена базой данных STRING [37]. STRING включает литературные

данные, описывающие взаимодействия, изученные экспериментально, а также полученные в результате анализа генома с использованием биоинформатических алгоритмов. Таким образом, сеть охватывает различные типы прямых или опосредованных взаимодействий и связей, таких как: а) физическое образование комплекса между двумя белками, необходимыми для формирования функциональной единицы; б) корегуляция генов, принадлежащих к одному оперону или к общему соседству; в) взаимодействие белков в данном метаболическом пути и, следовательно, влияющих друг на друга; г) связи между белками на основе преобладающего сосуществования, совместной экспрессии или слияния доменов. Сеть является первым комплексным представлением о связях между различными белками, аналогичным получению карты дорог города. В настоящее время наполнение базы данных происходит непосредственно в ходе интеграции системного анализа, в том числе основной акцент делается на экспериментальном уточнении предсказанных взаимосвязей. На основе этой информации была получена матрица функционального расстояния и последующий индекс близости белков, которые помогают понять, как влияние конкретного взятого белка может распространяться на метаболическую сеть в целом. Данный индекс был использован для прогнозирования стратегии максимального нарушения метаболизма путем ингибирования наименьшего количества белков. В ходе исследования было установлено, что ингибирование комбинации из четырех белков одновременно может повлиять суммарно на 471 белок, относящийся к 33 путям, что приводит к нарушению метаболизма на 75% [38].

Омиксы в диагностике

В области поисков биомаркеров туберкулеза исследования идут непрерывно, выявлено множество перспективных кандидатов для определения риска заражения, риска заболевания, вероятности излечения и защиты от инфекции [39]. Большинство таких биомаркеров связаны с иммунитетом организма хозяина и включают в себя белки, метаболиты, клеточные маркеры и транскрипты [40]. Несмотря на многочисленные сообщения о корреляции с различными стадиями туберкулеза, особенно у детей [41], на сегодняшний день нет коммерчески доступных прогностических биомаркеров. Безусловно, это говорит о недостаточной клинической значимости описанных маркеров и необходимости ведения дальнейших поисков.

Наибольшие успехи были достигнуты в области молекулярного тестирования как на наличие *M. tuberculosis*, так и на лекарственную устойчивость с использованием геномных данных. Так, Xpert XDR (Cepheid; CA, США) позволяет обнаружить генетический материал *M. tuberculosis* вместе с мутациями, вызывающими устойчивость к рифампицину, изониазиду, инъекционным препаратам и фторхинолонам. В свою очередь российский аналог, гидрогелевые чипы разработки Института молекулярной биологии им. Энгельгардта РАН [42], в частности ТБ-ТЕСТ, позволяет проводить типирование и одновременно определять устойчивость суммарно по 114 генетическим детерминантам: из них 28 мутаций — в гене *groB*, ответственных за устойчивость к рифампицину; 11 мутаций — в гене *katG*, по пять мутаций — в *inhA* и *ahpC*, приводящих к устойчивости к изониазиду; 18 — в *embB*, ответственных за устойчивость к этамбутолу; 15 — в *gyrA*; 23 — в *gyrB*, ответственных за устойчивость

к фторхинолонам; 4 — в *rrs*; 5 — в *eis*, приводящих к устойчивости к аминогликозидам и капреомицину [43].

Полногеномное секвенирование становится все более привлекательным вариантом для выявления лекарственной устойчивости у *M. tuberculosis* и может быть также использовано для улучшения понимания передачи туберкулеза [44]. Эта технология основана на выявлении мутаций в геноме *M. tuberculosis*, ассоциированных с лекарственной устойчивостью, и данные показывают корреляцию между генетическими мутациями и результатами культурального исследования лекарственной чувствительности, по крайней мере, для четырех препаратов первого ряда (изониазид, рифампицин, этамбутол и пиразинамид) [45, 46]. В то же время некоторые расхождения в данных фенотипического и генетического профиля лекарственной устойчивости свидетельствуют в пользу того, что, не всегда используя геномные данные, можно однозначно установить лекарственную чувствительность бактерии. Принимая во внимание тот факт, что структура популяции *M. tuberculosis* неоднородна и имеет свои особенности, в том числе региональные, можно говорить о разработке региональных диагностических тест-систем. Известно, что на территории нашей страны преобладают штаммы семейства Beijing (50–80% всех случаев) [47]. Для данного генетического семейства доказаны строгая ассоциация с формированием лекарственной устойчивости и большая вирулентность по сравнению с другими генотипами [48]. Последнее подтверждено как на уровне *in vivo* моделей [49], так и на уровне эпидемиологических исследований. Повышенная представленность факторов вирулентности продемонстрирована для штаммов семейства Beijing на молекулярном уровне, в том числе и в ходе симтемного омиксного анализа [23, 32, 50].

Принимая во внимание все вышесказанное, можно предположить, что наиболее перспективна ранняя диагностика именно штаммов семейства Beijing. В контексте данной задачи на сегодняшний день наиболее актуально использование микрофлюидного безмаркерного биосенсора на поверхностных оптических волнах в одномерном фотонном кристалле (ПВФК-биосенсора). ПВФК-биосенсор позволяет анализировать широкий диапазон взаимодействий: от образования различных белково-белковых комплексов до взаимодействия олигонуклеотидов различной последовательности. Основным преимуществом технологии является прохождение реакций в изолированной зоне минимального объема, что исключает контаминацию, сокращает время анализа, делает удобной процедуру анализа для оператора. Регистрация таких взаимодействий проводится в реальном времени и не требует предварительного мечения целевых биомолекул [51], что в свою очередь значительно упрощает и ускоряет процесс анализа.

С учетом потенциала ПВФК-биосенсора с двумерным пространственным разрешением [52] нами был предложен принципиально новый метод типирования возбудителя туберкулеза [53]: модификация поверхности фотонного кристалла декстраном и использование системы из олигонуклеотидов для детекции одноцепочечной ДНК *M. tuberculosis*. Стоит отметить, что метод модификации поверхности оптимизирован непосредственно для детекции туберкулезной ДНК [54]. Дополнительно предложен вариант упрощенной дифференциальной детекции штаммов семейства Beijing и LAM как наиболее распространенных на территории нашей страны. Такой подход позволит не только упростить сам процесс

диагностики, но и снизить затраты на разработку и производство диагностической тест-системы. При этом саму платформу можно использовать для протеомного типирования *M. tuberculosis*.

Для диагностики латентной туберкулезной инфекции в настоящее время используют два основных иммунных подхода, которые включены в руководство ВОЗ [55]: туберкулиновый кожный тест TST (от англ. tuberculin skin test) и тест на высвобождение интерферона- γ IGRA (от англ. interferon- γ release assay). Хотя IGRA обладает более высокой специфичностью, по сравнению с TST, ни один из этих тестов не позволяет точно отличить латентную туберкулезную инфекцию от активного туберкулеза. Оба теста имеют низкую чувствительность в различных группах населения с ослабленным иммунитетом. Когортные исследования показали, что и TST, и IGRA имеют низкую прогностическую ценность в отношении перехода латентной инфекции в активный туберкулез [56], поэтому важно тестировать только людей с риском прогрессирования и использовать все клинические данные в дополнение к результатам тестов. Для оценки результатов существуют удобные калькуляторы, такие как Online TST/IGRA Interpreter. Кожный тест C-Tb (Statens Serum Institut; Копенгаген, Дания), основанный на более специфичных для туберкулеза антигенах ESAT-6 и CFP10, показал схожий с TST профиль безопасности и точность, аналогичную IGRA, в ходе третьей фазы клинических испытаний [57, 58].

Несколькими группами исследователей сообщалось о потенциальной возможности использовать белок HspX в качестве маркера заболевания и в том числе латентной формы [59, 60]. Однако последующий системный анализ различных штаммов *M. tuberculosis* продемонстрировал несостоятельность такого подхода [32]. Таким образом,

поиск биомаркеров инфекционного процесса до сих пор остается наиболее актуальной задачей для исследователей во всем мире.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Туберкулез остается одной из главных проблем здравоохранения в нашей стране. Несмотря на наличие различных тест-систем, идентификация и особенно типирование патогена остаются актуальной задачей как в России, так и во всем мире. Имеющиеся технологии базируются преимущественно на использовании хорошо изученных геномных данных. За последние десятилетия в мире появилось множество других омиксных технологий, таких как метагеномика, транскриптомика, протеомика, метаболомика и культуромика, которые играют ключевую роль в понимании основных механизмов вирулентности, резистентности и патогенности бактерии. Мы рассмотрели различные омиксные технологии и возможность их использования в качестве диагностического инструмента. Согласно последним научным достижениям, омиксные технологии следует использовать согласованно, а не по отдельности, для получения значимых результатов в понимании патогенеза *Mycobacterium tuberculosis*. Помимо этого, для детального и целостного понимания необходимы новые технологии, такие как биоинформатика, нанотехнологии, одноклеточная геномика, а также новые технологии экспрессии генов, такие как наностринг, и инструменты визуализации. Рассматриваемые вместе наборы имеющихся и вновь получаемых омиксных данных должны создать интегрированное представление о глобальной регуляции генов *M. tuberculosis* и способствовать как развитию диагностических панелей, так и разработке новых эффективных методов лечения.

Литература

- Rachow A, Ivanova O, Wallis R, Charalambous S, Jani I, Bhatt N, et al. TB sequel: Incidence, pathogenesis and risk factors of long-term medical and social sequelae of pulmonary TB — A study protocol 11 Medical and Health Sciences 1117 Public Health and Health Services. BMC Pulm Med. 2019; 19: 1–9. DOI: 10.1186/S12890-018-0777-3/TABLES/2.
- Podany AT, Swindells S. Current strategies to treat tuberculosis. F1000Research. 2016; 5. DOI: 10.12688/F1000RESEARCH.7403.1/DOI.
- Tiberi S, Scardigli A, Centis R, D'Ambrosio L, Muñoz-Torrico M, Salazar-Lezama MÁ, et al. Classifying new anti-tuberculosis drugs: rationale and future perspectives. Int J Infect Dis. 2017; 56: 181–4. DOI: 10.1016/J.IJID.2016.10.026.
- Migliori GB, Tiberi S, Zumla A, Petersen E, Chakaya JM, Wejse C, et al. MDR/XDR-TB management of patients and contacts: Challenges facing the new decade. The 2020 clinical update by the Global Tuberculosis Network. Int J Infect Dis. 2020; 92S: S15–S25. DOI: 10.1016/J.IJID.2020.01.042.
- Patterson B, Wood R. Is cough really necessary for TB transmission? Tuberculosis. 2019; 117: 31–35. DOI: 10.1016/J.TUBE.2019.05.003.
- Chai Q, Wang L, Liu CH, Ge B. New insights into the evasion of host innate immunity by *Mycobacterium tuberculosis*. Cell Mol Immunol. 2020; 17: 901–13. DOI: 10.1038/s41423-020-0502-z.
- Bradfute SB, Castillo EF, Arko-Mensah J, Chauhan S, Jiang S, Mandell M, et al. Autophagy as an immune effector against tuberculosis. Curr Opin Microbiol. 2013; 16: 355. DOI: 10.1016/J.MIB.2013.05.003.
- Weiss G, Schaible UE. Macrophage defense mechanisms against intracellular bacteria. Immunol Rev. 2015; 264: 182–203. DOI: 10.1111/IMR.12266. PMID: 25703560.
- Ehlers S, Schaible UE. The granuloma in tuberculosis: dynamics of a host-pathogen collusion. Front Immunol. 2013; 3. DOI: 10.3389/FIMMU.2012.00411. PMID: 23308075.
- Qiang L, Wang J, Zhang Y, Ge P, Chai Q, Li B, et al. Mycobacterium tuberculosis Mce2E suppresses the macrophage innate immune response and promotes epithelial cell proliferation. Cell Mol Immunol. 2019; 16: 380–91. DOI: 10.1038/S41423-018-0016-0. PMID: 29572547.
- Su H, Zhu S, Zhu L, Kong C, Huang Q, Zhang Z, et al. Mycobacterium tuberculosis latent antigen Rv2029c from the multistage DNA vaccine A39 drives TH1 responses via TLR-mediated macrophage activation. Front Microbiol. 2017; 8: 2266. DOI: 10.3389/FMICB.2017.02266/BIBTEX.
- Peng H, Wang X, Barnes PF, Tang H, Townsend JC, Samten B. The Mycobacterium tuberculosis Early Secreted Antigenic Target of 6 kDa Inhibits T Cell Interferon- γ Production through the p38 Mitogen-activated Protein Kinase Pathway. J Biol Chem. 2011; 286: 24508–18. DOI: 10.1074/JBC.M111.234062. PMID: 21586573.
- Wang X, Barnes PF, Huang F, Alvarez IB, Neuenschwander PF, Sherman DR, et al. Early secreted antigenic target of 6-kDa protein of *Mycobacterium tuberculosis* primes dendritic cells to stimulate Th17 and inhibit Th1 immune responses. J Immunol. 2012; 189: 3092–103. DOI: 10.4049/JIMMUNOL.1200573. PMID: 22904313.
- Jung BG, Wang X, Yi N, Ma J, Turner J, Samten B. Early Secreted Antigenic Target of 6-kDa of *Mycobacterium tuberculosis*

- Stimulates IL6 Production by Macrophages through Activation of STAT3. *Sci Rep*. 2017; 7. DOI: 10.1038/SREP40984. PMID: 28106119.
15. Refai A, Gritli S, Barbouche MR, Essafi M. Mycobacterium tuberculosis Virulent Factor ESAT-6 Drives Macrophage Differentiation Toward the Pro-inflammatory M1 Phenotype and Subsequently Switches It to the Anti-inflammatory M2 Phenotype. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018; 8. DOI: 10.3389/FCIMB.2018.00327. PMID: 30283745.
 16. Lin J, Jiang Y, Liu D, Dai X, Wang M, Dai Y. Early secreted antigenic target of 6-kDa of *Mycobacterium tuberculosis* induces transition of macrophages into epithelioid macrophages by downregulating iNOS / NO-mediated H3K27 trimethylation in macrophages. *Mol Immunol*. 2020; 117: 189–200. DOI: 10.1016/J.MOLIMM.2019.11.013. PMID: 31816492.
 17. Yaseen I, Kaur P, Nandicoori VK, Khosla S. Mycobacteria modulate host epigenetic machinery by Rv1988 methylation of a non-tail arginine of histone H3. *Nat Commun* 2015 61. 2015; 6: 1–13. DOI: 10.1038/ncomms9922. PMID: 26568365.
 18. Schubert OT, Mouritsen J, Ludwig C, Röst HL, Rosenberger G, Arthur PK, et al. The Mtb proteome library: A resource of assays to quantify the complete proteome of mycobacterium tuberculosis. *Cell Host Microbe*. 2013; 13: 602–12. DOI: 10.1016/j.chom.2013.04.008.
 19. Kunnath-Velayudhan S, Porcelli SA. Recent Advances in Defining the Immunoproteome of *Mycobacterium tuberculosis*. *Front Immunol*. 2013; 0: 335. DOI: 10.3389/FIMMU.2013.00335.
 20. Беспятых Ю. А., Шитиков Е. А., Ильина Е. Н. Протеомные подходы в изучении микобактерий. *Acta Naturae*. 2017; 9, 1 (32): 16–26. DOI: 10.32607/20758251-2017-9-1-15-25. PMID: 28461970.
 21. Uddin R, Siddiqui QN, Sufian M, Azam SS, Wadood A. Proteome-wide subtractive approach to prioritize a hypothetical protein of XDR-*Mycobacterium tuberculosis* as potential drug target. *Genes Genomics*. 2019; 41: 1281–92. DOI: 10.1007/S13258-019-00857-Z. PMID: 31388979.
 22. Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, et al. Deciphering the biology of mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. *Nature*. 1998; 537–44.
 23. Bespyatykh J, Shitikov E, Guliaev A, Smolyakov A, Klimina K, Veselovsky V, et al. System OMCs analysis of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing B0/W148 cluster. *Sci Rep*. 2019; 9. DOI: 10.1038/s41598-019-55896-z. PMID: 31848428.
 24. Upadhyay S, Mittal E, Phillips JA. Tuberculosis and the art of macrophage manipulation. *Pathog Dis*. 2018; 76: 37. DOI: 10.1093/FEMSPD/FTY037. PMID: 29762680.
 25. Tientcheu LD, Koch A, Ndengane M, Andoseh G, Kampmann B, Wilkinson RJ. Immunological consequences of strain variation within the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Eur J Immunol*. 2017; 47: 432. DOI: 10.1002/EJL.201646562. PMID: 28150302.
 26. Van Embden JD, Cave MD, Crawford JT, Dale JW, Eisenach KD, Gicquel B, et al. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *J Clin Microbiol*. 1993; 31: 406–9. PMID: 8381814.
 27. Bespyatykh JA, Zimenkov DV, Shitikov EA, Kulagina EV, Lapa SA, Gryadunov DA, et al. Spoligotyping of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates using hydrogel oligonucleotide microarrays. *Infect Genet Evol*. 2014; 26. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.04.024.
 28. Frothingham R, Meeker-O'Connell WA. Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. *Microbiology*. 1998; 144 (Pt 5): 1189–96. DOI: 10.1099/00221287-144-5-1189. PMID: 9611793.
 29. Скворцова Т. А., Ажикина Т. Л. Анализ транскриптомов патогенных бактерий в инфицированном организме: проблемы и способы их решения (обзорная статья). *Биоорганическая химия*. 2010; 36: 596–606.
 30. Coppola M, Lai RPJ, Wilkinson RJ, Ottenhoff THM. The In Vivo Transcriptomic Blueprint of *Mycobacterium tuberculosis* in the Lung. *Front Immunol*. 2021; 12: 5212. DOI: 10.3389/FIMMU.2021.763364/BIBTEX. PMID: 35003075.
 31. Bespyatykh J, Shitikov E, Butenko I, Altukhov I, Alexeev D, Mokrousov I, et al. Proteome analysis of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing B0/W148 cluster. *Sci Rep*. 2016; 6. DOI: 10.1038/srep28985.
 32. Bespyatykh J, Shitikov E, Bespyatykh D, Guliaev A, Klimina K, Veselovsky V, et al. Metabolic Changes of *Mycobacterium tuberculosis* during the Anti-Tuberculosis Therapy. *Pathog (Basel, Switzerland)*. 2020; 9. DOI: 10.3390/PATHOGENS9020131. PMID: 32085490.
 33. Nataraj V, Varela C, Javid A, Singh A, Besra GS, Bhatt A. Mycolic acids: deciphering and targeting the Achilles' heel of the tubercle bacillus. *Mol Microbiol*. 2015; 98: 7. DOI: 10.1111/MMI.13101. PMID: 26135034.
 34. Takayama K, Wang C, Besra GS. Pathway to Synthesis and Processing of Mycolic Acids in *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Microbiol Rev*. 2005; 18: 81. DOI: 10.1128/CMR.18.1.81-101.2005. PMID: 15653820.
 35. Chandra N, Kumar D, Rao K. Systems biology of tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*. 2011; 91: 487–96. DOI: 10.1016/J.TUBE.2011.02.008. PMID: 21459043.
 36. Beste DJV, Hooper T, Stewart G, Bonde B, Avignone-Rossa C, Bushell ME, et al. GSMN-TB: A web-based genome-scale network model of *Mycobacterium tuberculosis* metabolism. *Genome Biol*. 2007; 8: 1–18. DOI: 10.1186/GB-2007-8-5-R89/FIGURES/5. PMID: 17521419.
 37. Von Mering C, Huynen M, Jaeggi D, Schmidt S, Bork P, Snel B. STRING: a database of predicted functional associations between proteins. *Nucleic Acids Res*. 2003; 31: 258–61. DOI: 10.1093/NAR/GKG034. PMID: 12519996.
 38. Raman K, Vashisht R, Chandra N. Strategies for efficient disruption of metabolism in *Mycobacterium tuberculosis* from network analysis. *Mol Biosyst*. 2009; 5: 1740–51. DOI: 10.1039/B905817F. PMID: 19593474.
 39. Goletti D, Lee MR, Wang JY, Walter N, Ottenhoff THM. Update on tuberculosis biomarkers: From correlates of risk, to correlates of active disease and of cure from disease. *Respirology*. 2018; 23: 455–66. DOI: 10.1111/RESP.13272. PMID: 29457312.
 40. La Manna MP, Orlando V, Li Donni P, Sirci G, Di Carlo P, Cascio A, et al. Identification of plasma biomarkers for discrimination between tuberculosis infection/disease and pulmonary non tuberculosis disease. *PLoS One*. 2018; 13. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0192664. PMID: 29543810.
 41. Togun TO, MacLean E, Kampmann B, Pai M. Biomarkers for diagnosis of childhood tuberculosis: A systematic review. *PLoS One*. 2018; 13: e0204029. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0204029. PMID: 30212540.
 42. Zimenkov DV, Antonova OV, Kuzmin AV, Isaeva YD, Krylova LY, Popov SA, et al. Detection of second-line drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* using oligonucleotide microarrays. *BMC Infect Dis*. 2013; 13: 1–8. DOI: 10.1186/1471-2334-13-240/TABLES/4. PMID: 23705640.
 43. Беспятых Ю. А., Шитиков Е. А., Зименков Д. В., Кулагина Е. В., Грядун Д. А., Носова Е. Ю., и др. Определение лекарственной устойчивости и генотипирование клинических штаммов *Mycobacterium tuberculosis* при помощи экспериментального набора «ТБ-ТЕСТ». *Пульмонология*. 2013; 4: 77–81. DOI: 10.18093/0869-0189-2013-0-4-77-81.
 44. Satta G, Lipman M, Smith GP, Arnold C, Kon OM, McHugh TD. *Mycobacterium tuberculosis* and whole-genome sequencing: how close are we to unleashing its full potential? *Clin Microbiol Infect*. 2018; 24: 604–9. DOI: 10.1016/J.CMI.2017.10.030. PMID: 29108952.
 45. Allix-Bequec C, Arandjelovic I, Lijun Bi, Beckert P, Bonnet M, Bradley P, et al. Prediction of Susceptibility to First-Line Tuberculosis Drugs by DNA Sequencing. *N Engl J Med*. 2018; 379: 1403–15. DOI: 10.1056/NEJMOA1800474. PMID: 30280646.
 46. Cox H, Mizrahi V. The Coming of Age of Drug-Susceptibility Testing for Tuberculosis. *N Engl J Med*. 2018; 379: 1474–5. DOI: 10.1056/NEJME1811861. PMID: 30256713.
 47. Shitikov E, Kolchenko S, Mokrousov I, Bespyatykh J, Ischenko D, Ilina E, et al. Evolutionary pathway analysis and unified classification of East Asian lineage of *Mycobacterium tuberculosis*. *Sci Rep*. 2017; 7: 9227. DOI: 10.1038/s41598-017-10018-5.
 48. Ribeiro SCM, Gomes LL, Amaral EP, Andrade MRM, Almeida FM, Rezende AL, et al. *Mycobacterium tuberculosis* strains of the modern sublineage of the Beijing family are more likely to display

- increased virulence than strains of the ancient sublineage. *J Clin Microbiol.* 2014; 52: 2615–24. DOI: 10.1128/JCM.00498-14. PMID: 24829250.
49. Беспятых Ю. А., Виноградова Т. И., Маничева О. А., Заболотных Н. В., Догондзе М. З., Витовская М. Л., и др. Вирулентность *Mycobacterium tuberculosis* генотипа Beijing в условиях in vivo. *Инфекция и иммунитет.* 2019; 9 (1): 173–82. DOI: 10.15789/2220-7619-2019-1-173-182.
 50. Bespyatykh J, Smolyakov A, Guliaev A, Shitikov E, Arapidi G, Butenko I, et al. Proteogenomic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing B0/W148 cluster strains. *J Proteomics.* 2019; 192: 18–26. DOI: 10.1016/j.jprot.2018.07.002.
 51. Konopsky VN, Karakouz T, Alieva EV, Vicario C, Sekatskii SK, Dietler G. Photonic Crystal Biosensor Based on Optical Surface Waves. *Sensors.* 2013; 13: 2566–78. DOI: 10.3390/S130202566. PMID: 23429517.
 52. Konopsky V, Mitko T, Aldarov K, Alieva E, Basmanov D, Moskalets A, et al. Photonic crystal surface mode imaging for multiplexed and high-throughput label-free biosensing. *Biosens Bioelectron.* 2020; 168. DOI: 10.1016/J.BIOS.2020.112575. PMID: 32892115.
 53. Митько Т. В., Шажуров Р. И., Ширшиков Ф. В., Сизова С. В., Алиева Е. В., Конопский В. Н., и др. Создание микрофлюидного биосенсора для диагностики и типирования *Mycobacterium tuberculosis*. *Клиническая практика.* 2021; 12 (2): 14–20. DOI: <https://doi.org/10.17816/clinpract71815>.
 54. Sizova S, Shakurov R, Mitko T, Shirshikov F, Solovyeva D, Konopsky V, et al. The Elaboration of Effective Coatings for Photonic Crystal Chips in Optical Biosensors. *Polymers (Basel).* 2021; 14. DOI: 10.3390/POLYM14010152. PMID: 35012173.
 55. WHO. Latent tuberculosis infection: updated and consolidated guidelines for programmatic management [cited 2022 Apr 11]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/260233>.
 56. Pai M, Denkinger CM, Kik SV, Rangaka MX, Zwerling A, Oxlade O, et al. Gamma interferon release assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Microbiol Rev.* 2014; 27: 3–20. DOI: 10.1128/CMR.00034-13. PMID: 24396134.
 57. Aggerbeck H, Ruhwald M, Hoff ST, Borregaard B, Hellstrom E, Malahleha M, et al. C-Tb skin test to diagnose *Mycobacterium tuberculosis* infection in children and HIV-infected adults: A phase 3 trial. *PLoS One.* 2018; 13. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0204554. PMID: 30248152.
 58. Ruhwald M, Aggerbeck H, Gallardo RV, Hoff ST, Villate JI, Borregaard B, et al. Safety and efficacy of the C-Tb skin test to diagnose *Mycobacterium tuberculosis* infection, compared with an interferon — release assay and the tuberculin skin test: a phase 3, double-blind, randomised, controlled trial. *Lancet Respir Med.* 2017; 5: 259–68. DOI: 10.1016/S2213-2600(16)30436-2. PMID: 28159608.
 59. Castro-Garza J, García-Jacobo P, Rivera-Morales LG, Quinn FD, Barber J, Karls R, et al. Detection of anti-HspX antibodies and HspX protein in patient sera for the identification of recent latent infection by *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS One.* 2017; 12. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0181714. PMID: 28813434.
 60. Dhiman A, Haldar S, Mishra SK, Sharma N, Bansal A, Ahmad Y, et al. Generation and application of DNA aptamers against HspX for accurate diagnosis of tuberculous meningitis. *Tuberculosis (Edinb).* 2018; 112: 27–36. DOI: 10.1016/J.TUBE.2018.07.004. PMID: 30205966.

References

1. Rachow A, Ivanova O, Wallis R, Charalambous S, Jani I, Bhatt N, et al. TB sequel: Incidence, pathogenesis and risk factors of long-term medical and social sequelae of pulmonary TB — A study protocol 11 Medical and Health Sciences 1117 Public Health and Health Services. *BMC Pulm Med.* 2019; 19: 1–9. DOI: 10.1186/S12890-018-0777-3/TABLES/2.
2. Podany AT, Swindells S. Current strategies to treat tuberculosis. *F1000Research.* 2016; 5. DOI: 10.12688/F1000RESEARCH.7403.1/DOI.
3. Tiberi S, Scardigli A, Centis R, D'Ambrosio L, Muñoz-Torrico M, Salazar-Lezama MÁ, et al. Classifying new anti-tuberculosis drugs: rationale and future perspectives. *Int J Infect Dis.* 2017; 56: 181–4. DOI: 10.1016/J.IJID.2016.10.026.
4. Migliori GB, Tiberi S, Zumla A, Petersen E, Chakaya JM, Wejse C, et al. MDR/XDR-TB management of patients and contacts: Challenges facing the new decade. The 2020 clinical update by the Global Tuberculosis Network. *Int J Infect Dis.* 2020; 92S: S15–S25. DOI: 10.1016/J.IJID.2020.01.042.
5. Patterson B, Wood R. Is cough really necessary for TB transmission? *Tuberculosis.* 2019; 117: 31–35. DOI: 10.1016/J.TUBE.2019.05.003.
6. Chai Q, Wang L, Liu CH, Ge B. New insights into the evasion of host innate immunity by *Mycobacterium tuberculosis*. *Cell Mol Immunol.* 2020; 17: 901–13. DOI: 10.1038/s41423-020-0502-z.
7. Bradfute SB, Castillo EF, Arko-Mensah J, Chauhan S, Jiang S, Mandell M, et al. Autophagy as an immune effector against tuberculosis. *Curr Opin Microbiol.* 2013; 16: 355. DOI: 10.1016/J.MIB.2013.05.003.
8. Weiss G, Schaible UE. Macrophage defense mechanisms against intracellular bacteria. *Immunol Rev.* 2015; 264: 182–203. DOI: 10.1111/IMR.12266. PMID: 25703560.
9. Ehlers S, Schaible UE. The granuloma in tuberculosis: dynamics of a host-pathogen collusion. *Front Immunol.* 2013; 3. DOI: 10.3389/FIMMU.2012.00411. PMID: 23308075.
10. Qiang L, Wang J, Zhang Y, Ge P, Chai Q, Li B, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Mce2E suppresses the macrophage innate immune response and promotes epithelial cell proliferation. *Cell Mol Immunol.* 2019; 16: 380–91. DOI: 10.1038/S41423-018-0016-0. PMID: 29572547.
11. Su H, Zhu S, Zhu L, Kong C, Huang Q, Zhang Z, et al. *Mycobacterium tuberculosis* latent antigen Rv2029c from the multistage DNA vaccine A39 drives TH1 responses via TLR-mediated macrophage activation. *Front Microbiol.* 2017; 8: 2266. DOI: 10.3389/FMICB.2017.02266/BIBTEX.
12. Peng H, Wang X, Barnes PF, Tang H, Townsend JC, Samten B. The *Mycobacterium tuberculosis* Early Secreted Antigenic Target of 6 kDa Inhibits T Cell Interferon- γ Production through the p38 Mitogen-activated Protein Kinase Pathway. *J Biol Chem.* 2011; 286: 24508–18. DOI: 10.1074/JBC.M111.234062. PMID: 21586573.
13. Wang X, Barnes PF, Huang F, Alvarez IB, Neuenschwander PF, Sherman DR, et al. Early secreted antigenic target of 6-kDa protein of *Mycobacterium tuberculosis* primes dendritic cells to stimulate Th17 and inhibit Th1 immune responses. *J Immunol.* 2012; 189: 3092–103. DOI: 10.4049/JIMMUNOL.1200573. PMID: 22904313.
14. Jung BG, Wang X, Yi N, Ma J, Turner J, Samten B. Early Secreted Antigenic Target of 6-kDa of *Mycobacterium tuberculosis* Stimulates IL6 Production by Macrophages through Activation of STAT3. *Sci Rep.* 2017; 7. DOI: 10.1038/SREP40984. PMID: 28106119.
15. Refai A, Gritli S, Barbouche MR, Essafi M. *Mycobacterium tuberculosis* Virulent Factor ESAT-6 Drives Macrophage Differentiation Toward the Pro-inflammatory M1 Phenotype and Subsequently Switches It to the Anti-inflammatory M2 Phenotype. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018; 8. DOI: 10.3389/FMICB.2018.00327. PMID: 30283745.
16. Lin J, Jiang Y, Liu D, Dai X, Wang M, Dai Y. Early secreted antigenic target of 6-kDa of *Mycobacterium tuberculosis* induces transition of macrophages into epithelioid macrophages by downregulating iNOS / NO-mediated H3K27 trimethylation in macrophages. *Mol Immunol.* 2020; 117: 189–200. DOI: 10.1016/J.MOLIMM.2019.11.013. PMID: 31816492.
17. Yaseen I, Kaur P, Nandicoori VK, Khosla S. *Mycobacteria* modulate host epigenetic machinery by Rv1988 methylation of a non-tail arginine of histone H3. *Nat Commun.* 2015 6: 1–13. DOI: 10.1038/ncomms9922. PMID: 26568365.
18. Schubert OT, Mouritsen J, Ludwig C, Röst HL, Rosenberger G,

- Arthur PK, et al. The Mtb proteome library: A resource of assays to quantify the complete proteome of mycobacterium tuberculosis. *Cell Host Microbe*. 2013; 13: 602–12. DOI: 10.1016/j.chom.2013.04.008.
19. Kunnath-Velayudhan S, Porcelli SA. Recent Advances in Defining the Immunoproteome of Mycobacterium tuberculosis. *Front Immunol*. 2013; 0: 335. DOI: 10.3389/FIMMU.2013.00335.
 20. Беспятых Ю. А., Шитиков Е. А., Ильина Е. Н. Протеомные подходы в изучении микобактерий. *Acta Naturae*. 2017; 9, 1 (32): 16–26. DOI: 10.32607/20758251-2017-9-1-15-25. PMID: 28461970.
 21. Uddin R, Siddiqui QN, Sufian M, Azam SS, Wadood A. Proteome-wide subtractive approach to prioritize a hypothetical protein of XDR-Mycobacterium tuberculosis as potential drug target. *Genes Genomics*. 2019; 41: 1281–92. DOI: 10.1007/S13258-019-00857-Z. PMID: 31388979.
 22. Cole ST, Brosch R, Parkhill J, Garnier T, Churcher C, Harris D, et al. Deciphering the biology of mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. *Nature*. 1998; 537–44.
 23. Bespyatykh J, Shitikov E, Guliaev A, Smolyakov A, Klimina K, Veselovsky V, et al. System OMCs analysis of Mycobacterium tuberculosis Beijing B0/W148 cluster. *Sci Rep*. 2019; 9. DOI: 10.1038/s41598-019-55896-z. PMID: 31848428.
 24. Upadhyay S, Mittal E, Phillips JA. Tuberculosis and the art of macrophage manipulation. *Pathog Dis*. 2018; 76: 37. DOI: 10.1093/FEMSPD/FTY037. PMID: 29762680.
 25. Tientcheu LD, Koch A, Ndengane M, Andoseh G, Kampmann B, Wilkinson RJ. Immunological consequences of strain variation within the Mycobacterium tuberculosis complex. *Eur J Immunol*. 2017; 47: 432. DOI: 10.1002/EJL.201646562. PMID: 28150302.
 26. Van Embden JD, Cave MD, Crawford JT, Dale JW, Eisenach KD, Gicquel B, et al. Strain identification of Mycobacterium tuberculosis by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. *J Clin Microbiol*. 1993; 31: 406–9. PMID: 8381814.
 27. Bespyatykh JA, Zimenkov DV, Shitikov EA, Kulagina EV, Lapa SA, Gryadunov DA, et al. Spoligotyping of Mycobacterium tuberculosis complex isolates using hydrogel oligonucleotide microarrays. *Infect Genet Evol*. 2014; 26. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.04.024.
 28. Frothingham R, Meeker-O'Connell WA. Genetic diversity in the Mycobacterium tuberculosis complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. *Microbiology*. 1998; 144 (Pt 5): 1189–96. DOI: 10.1099/00221287-144-5-1189. PMID: 9611793.
 29. Skvorcova TA, Azhikina TL. Analiz transkriptomov patogennykh bakterij v inficirovannom organizme: problemy i sposoby ix resheniya (obzornaya stat'ya). *Bioorganicheskaya ximiya*. 2010; 36: 596–606. Russian.
 30. Coppola M, Lai RPJ, Wilkinson RJ, Ottenhoff THM. The In Vivo Transcriptomic Blueprint of Mycobacterium tuberculosis in the Lung. *Front Immunol*. 2021; 12: 5212. DOI: 10.3389/FIMMU.2021.763364/BIBTEX. PMID: 35003075.
 31. Bespyatykh J, Shitikov E, Butenko I, Altukhov I, Alexeev D, Mokrousov I, et al. Proteome analysis of the Mycobacterium tuberculosis Beijing B0/W148 cluster. *Sci Rep*. 2016; 6. DOI: 10.1038/srep28985.
 32. Bespyatykh J, Shitikov E, Bespyatykh D, Guliaev A, Klimina K, Veselovsky V, et al. Metabolic Changes of Mycobacterium tuberculosis during the Anti-Tuberculosis Therapy. *Pathog (Basel, Switzerland)*. 2020; 9. DOI: 10.3390/PATHOGENS9020131. PMID: 32085490.
 33. Nataraj V, Varela C, Javid A, Singh A, Besra GS, Bhatt A. Mycolic acids: deciphering and targeting the Achilles' heel of the tubercle bacillus. *Mol Microbiol*. 2015; 98: 7. DOI: 10.1111/MMI.13101. PMID: 26135034.
 34. Takayama K, Wang C, Besra GS. Pathway to Synthesis and Processing of Mycolic Acids in Mycobacterium tuberculosis. *Clin Microbiol Rev*. 2005; 18: 81. DOI: 10.1128/CMR.18.1.81-101.2005. PMID: 15653820.
 35. Chandra N, Kumar D, Rao K. Systems biology of tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*. 2011; 91: 487–96. DOI: 10.1016/J.TUBE.2011.02.008. PMID: 21459043.
 36. Beste DJV, Hooper T, Stewart G, Bonde B, Avignone-Rossa C, Bushell ME, et al. GSMN-TB: A web-based genome-scale network model of Mycobacterium tuberculosis metabolism. *Genome Biol*. 2007; 8: 1–18. DOI: 10.1186/GB-2007-8-5-R89/FIGURES/5. PMID: 17521419.
 37. Von Mering C, Huynen M, Jaeggi D, Schmidt S, Bork P, Snel B. STRING: a database of predicted functional associations between proteins. *Nucleic Acids Res*. 2003; 31: 258–61. DOI: 10.1093/NAR/GKG034. PMID: 12519996.
 38. Raman K, Vashisht R, Chandra N. Strategies for efficient disruption of metabolism in Mycobacterium tuberculosis from network analysis. *Mol Biosyst*. 2009; 5: 1740–51. DOI: 10.1039/B905817F. PMID: 19593474.
 39. Goletti D, Lee MR, Wang JY, Walter N, Ottenhoff THM. Update on tuberculosis biomarkers: From correlates of risk, to correlates of active disease and of cure from disease. *Respirology*. 2018; 23: 455–66. DOI: 10.1111/RESP.13272. PMID: 29457312.
 40. La Manna MP, Orlando V, Li Donni P, Sireci G, Di Carlo P, Cascio A, et al. Identification of plasma biomarkers for discrimination between tuberculosis infection/disease and pulmonary non tuberculosis disease. *PLoS One*. 2018; 13. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0192664. PMID: 29543810.
 41. Togun TO, MacLean E, Kampmann B, Pai M. Biomarkers for diagnosis of childhood tuberculosis: A systematic review. *PLoS One*. 2018; 13: e0204029. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0204029. PMID: 30212540.
 42. Zimenkov DV, Antonova OV, Kuzmin AV, Isaeva YD, Krylova LY, Popov SA, et al. Detection of second-line drug resistance in Mycobacterium tuberculosis using oligonucleotide microarrays. *BMC Infect Dis*. 2013; 13: 1–8. DOI: 10.1186/1471-2334-13-240/TABLES/4. PMID: 23705640.
 43. Bespyatykh YuA, Shitikov EA, Zimenkov DV, Kulagina EV, Gryadunov D. A, Nosova EYu, i dr. Opredelenie lekarstvennoj ustojchivosti i genotipirovanie klinicheskix shtammov *Mycobacterium tuberculosis* pri pomoshhi ehksperimental'nogo nabora «TB-TEST». *Pul'monologiya*. 2013; 4: 77–81. DOI: 10.18093/0869-0189-2013-0-4-77-81. Russian.
 44. Satta G, Lipman M, Smith GP, Arnold C, Kon OM, McHugh TD. Mycobacterium tuberculosis and whole-genome sequencing: how close are we to unleashing its full potential? *Clin Microbiol Infect*. 2018; 24: 604–9. DOI: 10.1016/J.CMI.2017.10.030. PMID: 29108952.
 45. Allix-Bequec C, Arandjelovic I, Lijun Bi, Beckert P, Bonnet M, Bradley P, et al. Prediction of Susceptibility to First-Line Tuberculosis Drugs by DNA Sequencing. *N Engl J Med*. 2018; 379: 1403–15. DOI: 10.1056/NEJMOA1800474. PMID: 30280646.
 46. Cox H, Mizrahi V. The Coming of Age of Drug-Susceptibility Testing for Tuberculosis. *N Engl J Med*. 2018; 379: 1474–5. DOI: 10.1056/NEJME1811861. PMID: 30256713.
 47. Shitikov E, Kolchenko S, Mokrousov I, Bespyatykh J, Ischenko D, Ilina E, et al. Evolutionary pathway analysis and unified classification of East Asian lineage of Mycobacterium tuberculosis. *Sci Rep*. 2017; 7: 9227. DOI: 10.1038/s41598-017-10018-5.
 48. Ribeiro SCM, Gomes LL, Amaral EP, Andrade MRM, Almeida FM, Rezende AL, et al. Mycobacterium tuberculosis strains of the modern sublineage of the Beijing family are more likely to display increased virulence than strains of the ancient sublineage. *J Clin Microbiol*. 2014; 52: 2615–24. DOI: 10.1128/JCM.00498-14. PMID: 24829250.
 49. Bespyatykh YuA, Vinogradova TI, Manicheva OA, Zabolotnykh NV, Dogonadze MZ, Vitovskaya ML, i dr. Virulentnost' Mycobacterium tuberculosis genotipa Beijing v usloviyax in vivo. *Infekciya i immunitet*. 2019; 9 (1): 173–82. DOI: 10.15789/2220-7619-2019-1-173-182. Russian.
 50. Bespyatykh J, Smolyakov A, Guliaev A, Shitikov E, Arapidi G, Butenko I, et al. Proteogenomic analysis of Mycobacterium tuberculosis Beijing B0/W148 cluster strains. *J Proteomics*. 2019; 192: 18–26. DOI: 10.1016/j.jprot.2018.07.002.
 51. Konopsky VN, Karakouz T, Alieva EV, Vicario C, Sekatskii SK, Dietler G. Photonic Crystal Biosensor Based on Optical Surface Waves. *Sensors*. 2013; 13: 2566–78. DOI: 10.3390/S130202566. PMID: 23429517.
 52. Konopsky V, Mitko T, Aldarov K, Alieva E, Basmanov D, Moskalets A, et al. Photonic crystal surface mode imaging for multiplexed and high-throughput label-free biosensing. *Biosens Bioelectron*. 2020; 168. DOI: 10.1016/J.BIOS.2020.112575. PMID: 32892115.

53. Mitko TV, Shakurov RI, Shirshikov FV, Sizova SV, Alieva EV, Konopskij VN, i dr. Sozdanie mikroflyuidnogo biosensora dlya diagnostiki i tipirovaniya Mycobacterium tuberculosis. *Klinicheskaya praktika*. 2021; 12 (2): 14–20. DOI: <https://doi.org/10.17816/clinpract71815>. Russian.
54. Sizova S, Shakurov R, Mitko T, Shirshikov F, Solovyeva D, Konopsky V, et al. The Elaboration of Effective Coatings for Photonic Crystal Chips in Optical Biosensors. *Polymers (Basel)*. 2021; 14. DOI: 10.3390/POLYM14010152. PMID: 35012173.
55. WHO. Latent tuberculosis infection: updated and consolidated guidelines for programmatic management [cited 2022 Apr 11]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/260233>.
56. Pai M, Denkinger CM, Kik SV, Rangaka MX, Zwerling A, Oxlade O, et al. Gamma interferon release assays for detection of Mycobacterium tuberculosis infection. *Clin Microbiol Rev*. 2014; 27: 3–20. DOI: 10.1128/CMR.00034-13. PMID: 24396134.
57. Aggerbeck H, Ruhwald M, Hoff ST, Borregaard B, Hellstrom E, Malahleha M, et al. C-Tb skin test to diagnose Mycobacterium tuberculosis infection in children and HIV-infected adults: A phase 3 trial. *PLoS One*. 2018; 13. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0204554. PMID: 30248152.
58. Ruhwald M, Aggerbeck H, Gallardo RV, Hoff ST, Villate JI, Borregaard B, et al. Safety and efficacy of the C-Tb skin test to diagnose Mycobacterium tuberculosis infection, compared with an interferon — release assay and the tuberculin skin test: a phase 3, double-blind, randomised, controlled trial. *Lancet Respir Med*. 2017; 5: 259–68. DOI: 10.1016/S2213-2600(16)30436-2. PMID: 28159608.
59. Castro-Garza J, García-Jacobo P, Rivera-Morales LG, Quinn FD, Barber J, Karls R, et al. Detection of anti-HspX antibodies and HspX protein in patient sera for the identification of recent latent infection by Mycobacterium tuberculosis. *PLoS One*. 2017; 12. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0181714. PMID: 28813434.
60. Dhiman A, Haldar S, Mishra SK, Sharma N, Bansal A, Ahmad Y, et al. Generation and application of DNA aptamers against HspX for accurate diagnosis of tuberculous meningitis. *Tuberculosis (Edinb)*. 2018; 112: 27–36. DOI: 10.1016/J.TUBE.2018.07.004. PMID: 30205966.

НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЕЧЕВОЙ ФУНКЦИИ У ЛИЦ, ПЕРЕНЕСШИХ ЛЕГКУЮ ФОРМУ COVID-19

С. А. Гуляев ✉, Ю. А. Воронкова, Т. А. Абрамова, Е. А. Ковражкина

Федеральный центр мозга и нейротехнологий Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Одной из наиболее важных проблем современной нейрофизиологии является установление связи между данными объективных исследований и мыслительным процессом. Целью исследования был объективный анализ причин развития когнитивных дисфункций у лиц, перенесших легкую форму новой коронавирусной инфекции, с помощью технологии решения обратной ЭЭГ-задачи. Проведено обследование 38 человек, перенесших COVID-19 и вернувшихся к выполнению профессиональных обязанностей. Контрольную группу составили 33 здоровых человека. ЭЭГ регистрировали с помощью 128-канальной системы с усредненным референтом. Полученные данные сегментировали с выделением отдельных ЭЭГ-микросостояний и преобразовывали с помощью алгоритма решения обратной задачи ЭЭГ, реализованном в пакете прикладных программ sLORETA. У лиц, не болевших COVID-19, в состоянии пассивного расслабленного бодрствования во всех классах ЭЭГ-микросостояний присутствует компонент ритмической активности 47-го поля Бродмана, ответственного за восприятие и реализацию музыки ($0,01 < p < 0,05$; χ^2 -test). Слухоречевая нагрузка характеризовалась появлением ритмической активности над полями 22, 23, 37, 39, 40, 44, 45 и 47. У переболевших новой коронавирусной инфекцией в состоянии пассивного расслабленного бодрствования ритмическая активность была зарегистрирована над полями 22, 37, 39, 40. При слухоречевой нагрузке ритмическая активность выделялась над полями 37, 39 и 41 ($p < 0,05$; χ^2 -test). Таким образом, у лиц, перенесших COVID-19, выявлены изменения реализации речевой функции в виде дезорганизации последовательности включения основных речевых центров.

Ключевые слова: новая коронавирусная инфекция, ЭЭГ, решение обратной задачи

Вклад авторов: С. А. Гуляев — анализ данных, написание текста, оформление; Ю. А. Воронкова, Т. А. Абрамова — получение данных; Е. А. Ковражкина — оформление.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФЦМН ФМБА России (протокол № 148-1 от 15 июня 2021 г.). Все лица приняли участие в эксперименте на добровольных началах, без дополнительного поощрения. Исследования эксперимента проводили сотрудники ФГБУ ФЦМН ФМБА России в рамках научной работы учреждения без привлечения сторонних средств.

✉ **Для корреспонденции:** Сергей Александрович Гуляев
ул. Островитянова, д. 1, стр. 10, г. Москва, 117997, Россия; sergruss@yandex.ru

Статья получена: 24.03.2022 **Статья принята к печати:** 04.05.2022 **Опубликована онлайн:** 25.05.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.016

NEUROPHYSIOLOGICAL ASSESSMENT OF SPEECH FUNCTION IN INDIVIDUALS HAVING A HISTORY OF MILD COVID-19

Gulyaev SA ✉, Voronkova YuA, Abramova TA, Kovrazhkina EA

Federal Center for Brain and Neurotechnologies of Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russia

Establishing a link between the objective research data and the thought process is one of the major issues of modern neurophysiology. The study was aimed to find an opportunity to perform objective analysis of the causes of cognitive impairment in individuals having a history of mild novel coronavirus infection by solving the inverse EEG problem. A total of 38 COVID-19 survivors were assessed, who had returned to work. The control group included 33 healthy individuals. EEG was recorded using a 128-channel system with an average reference. The data obtained were subjected to the EEG microstate segmentation and converted using the algorithm for solving the inverse EEG problem implemented in the sLORETA software package. In individuals with no history of COVID-19 being in a state of relaxed wakefulness, the component of rhythmic activity within Brodmann area 47, responsible for perception and realization of music, was found in all classes of EEG microstates ($0.01 < p < 0.05$; χ^2 -test). Auditory-speech load was characterized by rhythmic activity within areas 22, 23, 37, 39, 40, 44, 45, and 47. In individuals having a history of novel coronavirus infection being in a state of relaxed wakefulness, rhythmic activity within areas 22, 37, 39, 40 was detected. Under auditory-speech load, there was rhythmic activity within areas 37, 39, and 41 ($p < 0.05$; χ^2 -test). Thus, alterations in realization of speech function in the form of the disordered sequence of switching on the main language centers were revealed in COVID-19 survivors.

Keywords: novel coronavirus infection, EEG, inverse problem solution

Author contribution: Gulyaev SA — data analysis, manuscript writing, editing; Voronkova YuA, Abramova TA — data acquisition; Kovrazhkina EA — editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Federal Center for Brain and Neurotechnologies of FMBA (protocol № 148-1 dated June 15, 2021). All the subjects took part in the experiment on a voluntary basis with no extra benefit. The experiment was studied by employees of the Federal Center for Brain and Neurotechnologies of FMBA within the limits of scientific work conducted by the institution with no third party funding.

✉ **Correspondence should be addressed:** Sergey A. Gulyaev
Ostrovitianova, 1, str. 10, Moscow, 117997, Russia; sergruss@yandex.ru

Received: 24.03.2022 **Accepted:** 04.05.2022 **Published online:** 25.05.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.016

Установление связи между данными объективных исследований и мыслительным процессом — одна из наиболее важных проблем современной нейрофизиологии. В настоящее время активность невральных структур головного мозга изучают с помощью методов функциональной визуализации, таких как функциональная магнитно-резонансная томография (фМРТ) и позитронэмиссионная томография (ПЭТ), а также нейрофизиологических методик, в

основе которых лежат электроэнцефалографическое/магнитоэнцефалографическое (ЭЭГ/МЭГ) исследования в различных модальностях (непрерывной или дискретной ЭЭГ-записи). Все эти методы имеют недостатки, приводящие к трудностям интерпретации получаемых данных. Так, методы функциональной визуализации фиксируют общие изменения процессов нейрональной активности за довольно продолжительный промежуток

времени. Непрерывная ЭЭГ/МЭГ-запись несмотря на практически прямую временную связь с мозговой активностью настолько суммарна и многообразна, что не может дать точного ответа на вопрос о том, какие невральные структуры ответственны за ее формирование. Что касается дискретной записи, активно используемой в технологии исследования реакций невральных структур на внешний раздражитель (метод вызванных потенциалов, или ВП), то эта методика дает информацию о непосредственной реакции нервной ткани на выбранный раздражитель, что не позволяет исследовать мозговую функцию в целом даже при использовании технологии регистрации длиннolatентных ВП, результат которых также сводится к определению узнавания конкретного стимула [1].

Таким образом, для исследования когнитивных процессов необходим метод выделения разных вариантов непрерывной активности, который в настоящее время может быть реализован с помощью алгоритмов кластерного анализа [2] с последующим преобразованием полученных результатов посредством решения обратной задачи ЭЭГ [3–5].

Данные исследования особенно интересны у лиц, страдающих от заболеваний, вызывающих легкую степень когнитивного дефицита, трудно диагностируемую с помощью обычных клинических методов. Как пример частного случая развития данной патологии интересен постковидный синдром, наблюдаемый у лиц, перенесших новую коронавирусную инфекцию (COVID-19) даже в относительно легкой форме.

Согласно складывающимся представлениям, влияние COVID-19 на центральную нервную систему (ЦНС) не вызывает сомнений: как и другие коронавирусы, он может проникать в ЦНС двумя путями — гематогенным и нейрональным, но, быстро обезвреживается, в связи с чем клинически значимых поражений мозгового вещества и его оболочек обычно не происходит [6, 7]. В то же время описания неврологических проявлений при COVID-19 свидетельствуют, что чаще всего при новой коронавирусной инфекции имеются общемозговые симптомы, такие как головная боль и головокружение (13,1–16,8% случаев), а также аносмия и гипогевзия/агевзия — до 83% наблюдений [8]. Цереброваскулярные события регистрируются с частотой 2–17%, судороги — в 1% случаев (что не превышает их частоту в популяции). Это позволило предположить, что их вторичный генез обусловлен гипоксическими и электролитными нарушениями, а также воздействием продуктов иммунного ответа. В работе на грызунах и клеточных культурах нервных клеток человека продемонстрированы инвазия вирусной РНК в клетки и последующая массовая гибель нейронов [9]. Но клинические отчеты о прямом поражении вещества мозга в виде менингоэнцефалита единичны [10–12]. Тем не менее аутопсия погибших от COVID-19 [13–16] выявила транскрипты вирусной РНК в ткани черепно-мозговых нервов в 40% случаев, а также вирусные белки в эндотелиальных клетках обонятельной луковицы. Основные неврологические проявления COVID-19 представлены общемозговой неврологической симптоматикой и (или) поражением отдельных черепно-мозговых нервов; структурные изменения мозговой ткани даже при их наличии требуют исключения иных причин.

Не вполне понятным остается генез нейропсихологических нарушений, наблюдаемых при COVID-19 инфекции примерно у 25% больных. По

некоторым данным, в большинстве случаев имеют место расстройства тревожно-фобического (8,5–28,8%) и депрессивного (9,5–16,5%) спектра, однако при тяжелом течении COVID-19 их причинами чаще всего являются не собственно воздействие вируса, а стрессовое состояние, связанное с фактом заболевания, изоляцией, пребыванием в палате интенсивной терапии, страхом смерти или развитием разнообразных осложнений в будущем [17].

В этих обстоятельствах определенный интерес представляют диагностические методы, способные объективизировать клинические проявления, однако метаанализ, охватывающий ЭЭГ-исследования 308 пациентов с COVID-19, в подавляющем большинстве случаев показал выявление неспецифических изменений, пароксизмальная активность была выявлена в 20,3% случаев, а подтвержденные электроэнцефалографически судороги и эпилептический статус — в 2,05% наблюдений [18]. Примерно к тем же выводам пришли другие авторы, объяснившие появление специфических изменений ЭЭГ тяжестью состояния, общей ишемией — гипоксией и развитием, в связи с вышеперечисленным, вторичной неврологической патологии [19].

Такие результаты вполне ожидаемы, так как воздействие COVID-19, несмотря на наличие прямых путей проникновения в нервную ткань, характеризуют диффузные процессы без фокальной деструкции нервных клеток, что сопровождается общими изменениями биоэлектрической активности мозга, соответствующим различным нейропсихологическим синдромам. Поэтому объективизация подобных «общемозговых» изменений требует применения несколько иных методологических подходов.

Цель настоящей работы — поиск возможности объективного анализа причин развития когнитивных дисфункций у лиц, перенесших легкую форму COVID-19 с помощью технологии ЭЭГ-исследования и решения обратной нейрофизиологической задачи.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Основная группа исследования

Исследовали 38 человек, перенесших COVID-19, вернувшихся к выполнению профессиональных обязанностей. Критерии включения пациентов в исследование: все обследованные были праворукими; отсутствие в анамнезе тяжелых черепно-мозговых травм или психических заболеваний; возраст обследованных составлял $38,6 \pm 2$ лет. Критерии исключения: курение; употребление фармакологически активных веществ, вследствие хронических заболеваний.

Все участники были работающими, имеющими соответствующее специальное образование. На момент исследования работали 35 человек (92%). Большинство добровольцев проживали в семье — 37 (97%). Ограничения трудоспособности у участников исследования не было. Большинство испытуемых были правшами — 35 (92%) человек.

Нейропсихологическое тестирование проводили с помощью Монреальской когнитивной шкалы (Montreal Cognitive Assessment, или MoCA), выбор которой был обусловлен наибольшим объемом охвата разных когнитивных функций и ее большей чувствительностью по сравнению с другими шкалами для выявления легких и умеренных когнитивных нарушений [20]. Однако

Таблица 1. Сравнительная характеристика времени жизни ЭЭГ-микросостояний 1–6 классов у участников контрольной группы

	Класс 1		Класс 2		Класс 3		Класс 4		Класс 5		Класс 6	
	ср.	откл.										
Покой	0,02	0,01	0,02	0,01	0,03	0,01	0,02	0,01	0,03	0,01	0,02	0,01
Нагрузка	0,04	0,01	0,04	0,01	0,04	0,01	0,04	0,01	0,05	0,01	0,04	0,01
<i>p</i> (<i>t</i> -test)	< 0,001		< 0,001		< 0,001		< 0,001		< 0,001		< 0,001	

Примечание: ср. — среднее значение; откл. — среднеквадратичное отклонение.

результаты тестирования определили средний балл — 26 (разброс — 3, минимум — 25, максимум — 28), что подтверждало отсутствие когнитивных расстройств.

Проведенное МРТ-исследование с использованием протоколов T1- и T2- изображений, режимов с подавлением и диффузией выявило изменения только у двух участников (5% всех случаев). Обнаруженные изменения в первом случае были представлены хроническим тромбозом венных синусов, а во втором — болезнью малых сосудов. Обе находки не были связаны с перенесенной COVID-19.

Контрольная группа сравнения

Включала 33 практически здоровых человека, добровольно согласившихся на участие в эксперименте. Их возрастной диапазон составил 19–60 лет; средний возраст — 32,37 ± 9,44 лет, образование добровольцев тоже было эквивалентным образованию участников основной группы.

Общая характеристика методов

Запись ЭЭГ проводили в затемненной комнате с относительной звукоизоляцией в состоянии расслабленного бодрствования с закрытыми глазами с помощью 128-канальной системы Hydrocel-128 (Magstim; США) с усредненным референтом, объединенной с биоусилителем «EGI-GES-300» (Magstim; США). Полученный сигнал преобразовывался в цифровую форму посредством дискретизации с частотой — 500 Гц, что позволяло исключать искажение сигнала на частотах 1–250 Гц. Полоса пропускания сигнала составляла 0,5–70 Гц с включением режекторного сетевого фильтра 50 Гц, что позволяло учитывать основные диапазоны интереса. В течение первой минуты после подключения добровольца к прибору запись не производили — для исключения

двигательной артефактной активности, связанной с дезадаптацией испытуемого.

Общее сопротивление электродов нейроинтерфейса — импеданс — контролировали в пределах значений 10 кОм и постоянно проверяли в ходе всего исследования согласно рекомендациям фирмы-производителя.

Пул нагрузочных проб включал исследование ЭЭГ в состоянии пассивного расслабленного бодрствования с закрытыми глазами, рассматриваемого как состояние биоэлектрической активности покоя, и исследование в условиях слухоречевой нагрузки в виде прослушивания короткого рассказа на родном языке. Это позволяло получить условия измененной среды, определяемые активацией только одной когнитивной функции с относительно известной архитектурой коркового анализатора, согласно положениям современных двухпоточковых моделей [21].

В дальнейшем проводили последовательную обработку и анализ полученных результатов. Для минимизации артефактных сигналов выключали сторонние электрические приборы, создающие паразитные электромагнитные поля, контролировали импеданс интерфейса, регулировали температуру в помещении, минимизировали паразитные движения мышц. Полученный пул данных проходил процедуру фильтрации с помощью широкополосного фильтра 1–70 Гц, стандартизацию базового монтажа в единое электродное пространство, а также процедуру выделения независимых компонент сигнала, позволяющую очистить ЭЭГ-сигнал от различных артефактов физической и биологической природы, не устраненных на первом этапе. В дальнейшем проводили сегментацию ЭЭГ-сигнала с выделением отдельных ЭЭГ-микросостояний методом кластеризации K-средних или методом адгезии-распыления с выделением шести классов отдельных микросостояний, учитывая вариабельность 5-го и 6-го классов [22–24]. Заключительный этап исследования

Таблица 2. Сравнительная характеристика времени жизни ЭЭГ-микросостояний 1–6 классов у лиц, переболевших новой коронавирусной инфекцией

	Класс 1		Класс 2		Класс 3		Класс 4		Класс 5		Класс 6	
	ср.	откл.										
Покой	0,04	0,02	0,04	0,02	0,04	0,01	0,05	0,02	0,04	0,02	0,05	0,01
Нагрузка	0,04	0,02	0,04	0,02	0,04	0,01	0,04	0,01	0,05	0,01	0,04	0,02
<i>p</i> (<i>t</i> -test)	> 0,5		0,4		> 0,5		> 0,5		0,02		> 0,1	

Примечание: ср. — среднее значение; откл. — среднеквадратичное отклонение.

Таблица 3. Сравнительная характеристика частоты регистрации ЭЭГ-микросостояний 1–6 классов у участников контрольной группы

	Класс 1		Класс 2		Класс 3		Класс 4		Класс 5		Класс 6	
	ср.	откл.										
Покой	6,18	3,43	6,57	3,48	5,65	3,91	5,66	3,93	5,71	4,09	5,40	3,80
Нагрузка	3,88	0,00	3,88	0,00	3,88	0,00	3,88	0,00	3,87	0,01	3,88	0,00
<i>p</i> (<i>t</i> -test)	< 0,01		< 0,001		0,01		0,01		0,01		0,02	

Примечание: ср. — среднее значение; откл. — среднеквадратичное отклонение.

Таблица 4. Сравнительная характеристика частоты регистрации ЭЭГ-микросостояний 1–6 классов у лиц, переболевших COVID-19

	Класс 1		Класс 2		Класс 3		Класс 4		Класс 5		Класс 6	
	ср.	откл.										
Покой	3,88	0,00	3,88	0,01	3,88	0,00	3,88	0,00	3,88	0,00	3,88	0,01
Нагрузка	3,88	0,01	3,88	0,00	3,88	0,00	3,88	0,01	3,88	0,01	3,63	0,95
p (t -test)	> 0,5		0,4		> 0,5		> 0,5		0,4		0,2	

Примечание: ср. — среднее значение; откл. — среднеквадратичное отклонение.

включал анализ локализации источника активности каждого из выделенных классов ЭЭГ-микросостояний по методике R. Pascual-Marqui, с помощью алгоритма решения обратной задачи ЭЭГ, реализованном в пакете прикладных программ sLORETA [25, 26].

Полученные результаты представляли информацию о состоянии биоэлектрической активности мозга как в состоянии покоя, так и в состоянии нагрузки. ЭЭГ — микросостояния оценивались по шести отдельным классам с учетом следующих характеристик: 1) времени регистрации микросостояния (duration) в секундах; 2) частоты возникновения в 1 с (occurrence); 3) объема вклада ЭЭГ-микросостояния в общую структуру энергии скальпового поля (coverage). Для каждого случая последовательности классов ЭЭГ-микросостояний, для каждого из классов определяли ведущее корковое поле, согласно атласу К. Бродмана.

Статистическая обработка полученных результатов

Статистический анализ результатов проводили с помощью статистического пакета GNU-PSPP под управлением GNU OS Linux Mate 10.10 (Canonical Ltd.; Великобритания). Статистический анализ включал следующие этапы: проверку данных на достоверность и соответствие полученных результатов с помощью метода Кронбаха ($0,05 < \alpha < 0,5$), после которой использовали метод факторного анализа для выделения ведущих факторов для дальнейшего анализа. Результаты сравнивали с помощью методов t -сравнения для определения достоверности изменений в одной группе наблюдения в зависимости от воздействия выбранного фактора и метода однофакторного дисперсионного анализа

ANOVA для установления влияния отдельных факторов на различные группы сравнения. Использовали также метод согласия χ^2 Пирсона для оценки изменений в группах с результатами в виде качественных показателей. Во всех расчетах использовали одну степень свободы, уровень доказательности был принят как $\alpha > 0,05$.

Для разработки общей методики статистического анализа использовали рекомендации, опубликованные ранее [27].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнительная характеристика ЭЭГ-микросостояний, регистрируемых во время реализации речевой функции

Сравнение характеристик ЭЭГ-микросостояний во время проведения функциональной нагрузки с помощью парного t -теста показало, что у участников контрольной группы все три основных показателя: продолжительность существования, частота встречаемости и процент покрытия, — достоверно ($p < 0,05$) отличались во время прослушивания или активной речевой продукции от таковых в состоянии пассивного расслабленного бодрствования. В то же время у лиц, переболевших COVID-19, подобных различий между характеристиками биоэлектрической активности в состоянии пассивного расслабленного бодрствования и при слухоречевой нагрузке, не наблюдалось. В подавляющем количестве сравнений различия носили недостоверный характер (с величиной $p > 0,3$). Только при исследовании показателя покрытия, были зарегистрированы статистически значимые ($p = 0,02$) различия в 5 классе ЭЭГ-микросостояний (табл. 1–6).

Таблица 5. Сравнительная характеристика процента покрытия ЭЭГ-микросостояний 1–6 классов у участников контрольной группы

	Класс 1		Класс 2		Класс 3		Класс 4		Класс 5		Класс 6	
	ср.	откл.										
Покой	17%	14%	19%	13%	17%	14%	16%	15%	18%	16%	13%	12%
Нагрузка	17%	3%	17%	4%	16%	3%	17%	3%	18%	4%	16%	4%
p (t -test)	0,8		0,4		0,6		0,9		0,9		0,2	

Примечание: ср. — среднее значение; откл. — среднеквадратичное отклонение.

Таблица 6. Сравнительная характеристика процента покрытия ЭЭГ-микросостояний 1–6 классов у лиц, переболевших COVID-19

	Класс 1		Класс 2		Класс 3		Класс 4		Класс 5		Класс 6	
	ср.	откл.										
Покой	17%	7%	15%	7%	17%	6%	17%	6%	16%	6%	18%	6%
Нагрузка	15%	6%	17%	7%	17%	5%	16%	8%	20%	3%	15%	7%
p (t -test)	> 0,5		> 0,4		> 0,5		> 0,5		0,02		0,1	

Примечание: ср. — среднее значение; откл. — среднеквадратичное отклонение.

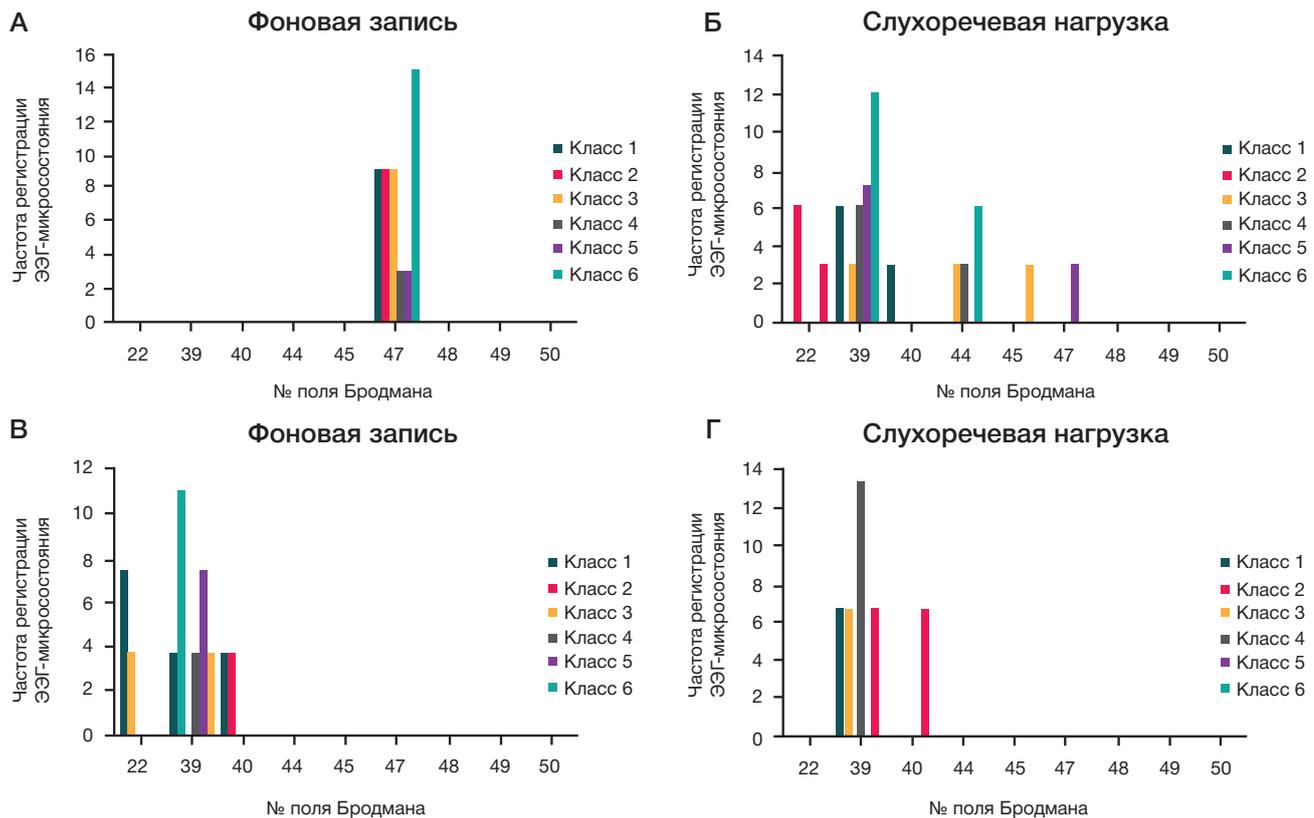


Рис. Частота регистрации ритмической активности в соответствии с номером поля Бродмана у участников контрольной группы (А, Б) и лиц, переболевших новой коронавирусной инфекцией (В, Г) в состоянии пассивного расслабленного бодрствования и при слухоречевой нагрузке; $p < 0,05$ (χ^2 -test)

Анализ источника активности микросостояний посредством решения обратной задачи ЭЭГ

Исследование источников формирования отдельных ЭЭГ-микросостояний было проведено с помощью алгоритма решения обратной задачи ЭЭГ. Однако его основу составляет выявление величины мощности скальпового потенциала, поэтому он определяет не область функционального возбуждения, а области, пребывающие в состоянии продуцирования ритмической активности, что вынуждает использовать общий термин «активность», который отражает область интереса используемого алгоритма, но не эквивалентен термину «возбуждение нервной ткани».

Тем не менее последовательный переход от возбуждения нервных центров к продукции ритмической активности позволял судить об активности отдельных нейронных полей, связанных с реализацией исследуемой функции, что помогло осуществить выделение двух основных последовательностей, характерных для корковых структур, продуцирующих ритмическую активность как для состояния пассивного расслабленного бодрствования, так и для слухоречевой нагрузки и локализовать полученные данные в соответствии с атласом корковых полей К. Бродмана (см. рисунок).

Полученные результаты показали, что у участников контрольной группы в состоянии пассивного расслабленного бодрствования ритмическая активность над основными полями Бродмана, формирующими корковое представительство речевого анализатора (39, 40 и 44, 45), не регистрируется, однако во всех классах ЭЭГ-микросостояний присутствует компонент ритмической активности 47-го поля Бродмана, ответственного за восприятие и реализацию музыки. Слухоречевая нагрузка

характеризовалась появлением ритмической активности над полями 22 (класс 2), 23 (класс 6), 37 (классы 3–6), 39, 40 (классы 3–6), 44 (классы 3, 4 и 6), 45 (класс 6) и 47 (класс 5), формирующими центры: восприятия шума, область Вернике, область Брока и центр восприятия музыки, что соответствовало принятым представлениям о реализации речевой функции через дорсальный поток двухпоточковой модели речевого анализатора.

Однако у лиц, переболевших COVID-19, наблюдалось появление иных последовательностей регистрации ритмических паттернов в составе регистрируемых классов ЭЭГ-микросостояний (см. рисунок) и уменьшение общего количества ЭЭГ-микросостояний, участвующих в реализации речевой функции.

Так, в состоянии пассивного расслабленного бодрствования не выявлена ритмическая активность над 47-м полем Бродмана, характерная для участников контрольной группы. В то же время ритмическая активность была зарегистрирована над полем 22 (классы 1, 5, 6), над полем 37 (класс 3), над полями 39, 40 (все классы ЭЭГ-микросостояний). При слухоречевой нагрузке ритмическая активность выявлена над полем 37 (классы 1 и 3) и над полями 39 (классы 4, 5, 6) и 41 (класс 6).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенное исследование биоэлектрической активности головного мозга позволило значительно расширить возможности ЭЭГ-метода и повысить точность его результатов, особенно в условиях применения многоканальной ЭЭГ-системы высокой плотности записи.

Сравнительный анализ изменений характеристик ЭЭГ-микросостояний тоже подтвердил наличие функциональных изменений биоэлектрической активности, в основе которых

лежали изменения организации последовательностей активности отдельных нейронных групп. Так, отсутствие достоверных изменений величин процента покрытия ЭЭГ-микросостояний у здоровых и лиц, переболевших COVID-19, демонстрировало сохранность объемов невральных структур, вовлеченных в функциональную реализацию, однако различия времени существования и частоты встречаемости отдельных классов ЭЭГ-микросостояний демонстрировали нарушение функциональных межнейронных связей, что, по мнению ряда авторов, отражало рассогласование совместной работы отдельных нейронных сетей [23, 24].

Особый интерес вызвала практически полная регрессия вариабельности показателя частоты регистрации ЭЭГ-микросостояний у лиц, переболевших COVID-19, определяемого во всех выделенных классах. Этот феномен был нами расценен как грубые проявления низких компенсаторных возможностей у таких людей, вызванные перенесенным заболеванием.

Однако наиболее полную характеристику биоэлектрических изменений у лиц, перенесших COVID-19, удалось продемонстрировать при решении обратной задачи ЭЭГ, позволившей установить нарушение последовательностей регистрации ритмической активности над отдельными корковыми структурами мозга в их ассоциации с атласом полей К. Бродмана.

Согласно полученным результатам, нарушение реализации речевой функции проявлялось нарушением системы вентрального информационного потока и нарушениями связи между полями центра Вернике и центра Брока (системы дорсального информационного потока), приводящими к развитию коммуникативных дисфункций в виде нарушений восприятия новой информации и затруднений в реализации решения.

Вероятно, это связано с описанными ранее в экспериментальных работах эффектами воздействия COVID-19 на нейрональные структуры, в том числе и опосредованно через иммунопатохимические процессы [19].

ВЫВОДЫ

1. У лиц, перенесших формы новой коронавирусной инфекции, вернувшихся после реконвалесценции к трудовой деятельности, имеются объективные изменения биоэлектрической активности головного мозга, связанные с пока еще не изученными механизмами развития функционального повреждения нейронных сетей, участвующих в реализации высших нервных функций.
2. Восстановление общих характеристик ЭЭГ у переболевших новой коронавирусной инфекцией происходит в течение длительного периода времени (не менее полугода), что представляет собой основу дисфункций, объединяемых общим термином постковидного синдрома.
3. Результаты решения обратной задачи ЭЭГ показали, что у лиц, переболевших COVID-19, имеются изменения реализации речевой функции, в виде дезорганизации последовательности включения основных речевых центров. Проведенное исследование показывает, что у лиц, переболевших новой коронавирусной инфекцией, длительное время (до 6 месяцев) сохраняются когнитивные нарушения, затрудняющие процессы восстановления их профессиональных навыков. Эти нарушения трудно дифференцировать только на основании клинических или нейровизуализационных методик, поэтому для регистрации и верификации этих процессов необходима разработка новых мультимодальных нейрофизиологических обследований.

Литература

1. Qi G, Zhao S, Ceder AA, Guan W, Yan X. Wielding and evaluating the removal composition of common artefacts in EEG signals for driving behaviour analysis. *Accid Anal Prev.* 2021; 159: 106223. DOI: 10.1016/j.aap.2021.106223. Epub 2021 Jun 10. PMID: 34119819.
2. Dittman Z, Munia TTK, Aviyente S. Graph Theoretic Analysis of Multilayer EEG Connectivity Networks. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc.* 2021; 2021: 475–9. DOI: 10.1109/EMBC46164.2021.9629514. PMID: 34891336
3. Pascual-Marqui RD, Michel CM, Lehmann D. Segmentation of brain electrical activity into microstates: model estimation and validation. *IEEE Trans Biomed Eng.* 1995; 42 (7): 658–65. Available from: <https://doi.org/10.1109/10.391164>.
4. Grech R, Cassar T, Muscat J, Camilleri KP, Fabri SG, Zervakis M, et al. Review on solving the inverse problem in EEG source analysis. *J Neuroeng Rehabil.* 2008; 5: 25. DOI: 10.1186/1743-0003-5-25. PMID: 18990257; PMCID: PMC2605581.
5. Hecker L, Rupperecht R, Tebartz Van Elst L, Kornmeier J. ConvDip: A Convolutional Neural Network for Better EEG Source Imaging. *Front Neurosci.* 2021; 15: 569918. DOI: 10.3389/fnins.2021.569918. PMID: 34177438; PMCID: PMC8219905.
6. Escaffre O, Borisevich V, Rockx B. Pathogenesis of Hendra and Nipah virus infection in humans. *J Infect Dev Ctries.* 2013; 7 (4): 308–11. Available from: <https://doi.org/10.3855/jidc.3648>.
7. Wang GF, Li W, Li K. Acute encephalopathy and encephalitis caused by influenza virus infection. *Curr Opin Neurol.* 2010; 23 (3): 305–11. Available from: <https://doi.org/10.1097/wco.0b013e328338f6c9>.
8. Roy D, Ghosh R, Dubey S, Dubey MJ, Benito-León J, Kanti Ray B. Can Neurological and Neuropsychiatric Impacts of COVID-19 Pandemic. *J Neurol Sci.* 2021; 48 (1): 9–24. Available from: <https://doi.org/10.1017/cjn.2020.173>
9. Song E, Zhang C, Israelow B, Lu-Culligan A, Prado AV, Skriabine S, et al. Neuroinvasion of COVID-19 in human and mouse brain. *J Exp Med.* 2021; 218 (3): e20202135. Available from: <https://doi.org/10.1084/jem.20202135>
10. Moriguchi T, Harii N, Goto J, et al. A first case of meningitis/encephalitis associated with SARS-Coronavirus-2. *Int J Infect Dis.* 2020; 94: 55–58. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.06>
11. Ye M, Ren Y, Lv T. Encephalitis as a clinical manifestation of COVID-19. *Brain Behav Immun.* 2020; S0889–1591 (20): 30465–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.04.017>.
12. Duong L, Xu P, Liu A. Meningoencephalitis without respiratory failure in a young female patient with COVID-19 infection in Downtown Los Angeles, early April 2020. *Brain Behav Immun.* 2020; 87: 33. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.04.024>.
13. Helms J, Kremer S, Merdji H, Clere-Jehl R, Schenck M, Kummerlen C, et al. Neurologic Features in Severe COVID-19 Infection. *N Engl J Med.* 2020; 382 (23): 2268–70. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMc2008597>.
14. Puelles VG, Lütgehetmann M, Lindenmeyer MT, Sperhake JP, Wong MN, Allweiss L, et al. Multiorgan and Renal Tropism of COVID-19. *N Engl J Med.* 2020; 383 (6): 590–2. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMc2011400>.
15. Solomon IH, Normandin E, Bhattacharyya S, Mukerji SS, Keller K, Ali AS, et al. Neuropathological Features of Covid-19. *N Engl J Med.* 2020; 383 (10): 989–92. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMc2019373>.

16. Troyer EA, Kohn JN, Hong S. Are we facing a crashing wave of neuropsychiatric sequelae of COVID-19? Neuropsychiatric symptoms and potential immunologic mechanisms. *Brain Behav Immun.* 2020; 87: 34–39. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.04.027>
17. Rogers JP, Chesney E, Oliver D, et al. Psychiatric and neuropsychiatric presentations associated with severe coronavirus infections: a systematic review and meta-analysis with comparison to the COVID-19 pandemic. *Lancet Psychiatry.* 2020; 7 (7): 611–27. Available from: [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(20\)30203-0](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(20)30203-0).
18. Kubota T, Gajera PK, Kuroda N. Meta-analysis of EEG findings in patients with COVID-19. *Epilepsy Behav.* 2021; 115: 107682. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.107682>.
19. Petrescu AM, Taussig D, Bouilletter V. Electroencephalogram (EEG) in COVID-19: A systematic retrospective study. *Neurophysiol Clin.* 2020; 50 (3): 155–65. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neucli.2020.06.001>.
20. Pinto TCC, Machado L, Bulgacov TM, Rodrigues-Júnior AL, Costa MLG, Ximenes RCC, et al. Is the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) screening superior to the Mini-Mental State Examination (MMSE) in the detection of mild cognitive impairment (MCI) and Alzheimer's Disease (AD) in the elderly? *Int Psychogeriatr.* 2019; 31 (4): 491–504. Available from: <https://doi.org/10.1017/S1041610218001370>.
21. Mishkin M, Ungerleider LG. Contribution of striate inputs to the visuospatial functions of parieto-preoccipital cortex in monkeys *Behav Brain Res.* 1982; 6 (1): 57–77. Available from: [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(82\)90081-x](https://doi.org/10.1016/0166-4328(82)90081-x).
22. Lehmann D, Strik WK, Henggeler B, Koenig T, Koukkou M. Brain electric microstates and momentary conscious mind states as building blocks of spontaneous thinking: I. Visual imagery and abstract thoughts. *Int J Psychophysiol.* 1998; 29 (1): 1–11. Available from: [https://doi.org/10.1016/s0167-8760\(97\)00098-6](https://doi.org/10.1016/s0167-8760(97)00098-6).
23. Michel CM, Koenig T. EEG microstates as a tool for studying the temporal dynamics of whole-brain neuronal networks: A review. *Neuroimage.* 2018; 180 (Pt B): 577–93. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.11.062>.
24. Van De Ville D, Britz J, Michel CM. EEG microstate sequences in healthy humans at rest reveal scale-free dynamics *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2010; 107 (42): 18179–84; Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.1007841107>.
25. Pascual-Marqui RD, Michel CM, Lehmann D. Segmentation of brain electrical activity into microstates: model estimation and validation. *IEEE Trans Biomed Eng.* 1995; 42 (7): 658–65. Available from: <https://doi.org/10.1109/10.391164>
26. Vitali P, et al. Integration of multimodal neuroimaging methods: a rationale for clinical applications of simultaneous EEG-fMRI *Funct Neurol.* 2015. PMID: 26214023.
27. Sarter M, Fritschy JM. Reporting statistical methods and statistical results in *EJN. Eur J Neurosci.* 2008; 28 (12): 2363–4. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06581.x>.

References

1. Qi G, Zhao S, Ceder AA, Guan W, Yan X. Wielding and evaluating the removal composition of common artefacts in EEG signals for driving behaviour analysis. *Accid Anal Prev.* 2021; 159: 106223. DOI: 10.1016/j.aap.2021.106223. Epub 2021 Jun 10. PMID: 34119819.
2. Dittman Z, Munia TTK, Aviyente S. Graph Theoretic Analysis of Multilayer EEG Connectivity Networks. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc.* 2021; 2021: 475–9. DOI: 10.1109/EMBC46164.2021.9629514. PMID: 34891336
3. Pascual-Marqui RD, Michel CM, Lehmann D. Segmentation of brain electrical activity into microstates: model estimation and validation. *IEEE Trans Biomed Eng.* 1995; 42 (7): 658–65. Available from: <https://doi.org/10.1109/10.391164>.
4. Grech R, Cassar T, Muscat J, Camilleri KP, Fabri SG, Zervakis M, et al. Review on solving the inverse problem in EEG source analysis. *J Neuroeng Rehabil.* 2008; 5: 25. DOI: 10.1186/1743-0003-5-25. PMID: 18990257; PMCID: PMC2605581.
5. Hecker L, Rupprecht R, Tebartz Van Elst L, Kornmeier J. ConvDip: A Convolutional Neural Network for Better EEG Source Imaging. *Front Neurosci.* 2021; 15: 569918. DOI: 10.3389/fnins.2021.569918. PMID: 34177438; PMCID: PMC8219905.
6. Escaffre O, Borisevich V, Rockx B. Pathogenesis of Hendra and Nipah virus infection in humans. *J Infect Dev Ctries.* 2013; 7 (4): 308–11. Available from: <https://doi.org/10.3855/jidc.3648>.
7. Wang GF, Li W, Li K. Acute encephalopathy and encephalitis caused by influenza virus infection. *Curr Opin Neurol.* 2010; 23 (3): 305–11. Available from: <https://doi.org/10.1097/wco.0b013e328338f6c9>.
8. Roy D, Ghosh R, Dubey S, Dubey MJ, Benito-León J, Kanti Ray B. Can Neurological and Neuropsychiatric Impacts of COVID-19 Pandemic. *J Neurol Sci.* 2021; 48 (1): 9–24. Available from: <https://doi.org/10.1017/cjn.2020.173>
9. Song E, Zhang C, Israelow B, Lu-Culligan A, Prado AV, Skriabine S, et al. Neuroinvasion of COVID-19 in human and mouse brain. *J Exp Med.* 2021; 218 (3): e20202135. Available from: <https://doi.org/10.1084/jem.20202135>
10. Moriguchi T, Harii N, Goto J, et al. A first case of meningitis/encephalitis associated with SARS-Coronavirus-2. *Int J Infect Dis.* 2020; 94: 55–58. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.06>
11. Ye M, Ren Y, Lv T. Encephalitis as a clinical manifestation of COVID-19. *Brain Behav Immun.* 2020; S0889–1591 (20): 30465–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.04.017>.
12. Duong L, Xu P, Liu A. Meningoencephalitis without respiratory failure in a young female patient with COVID-19 infection in Downtown Los Angeles, early April 2020. *Brain Behav Immun.* 2020; 87: 33. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.04.024>.
13. Helms J, Kremer S, Merdji H, Clere-Jehl R, Schenck M, Kummerlen C, et al. Neurologic Features in Severe COVID-19 Infection. *N Engl J Med.* 2020; 382 (23): 2268–70. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMc2008597>.
14. Puelles VG, Lütgehetmann M, Lindenmeyer MT, Sperhake JP, Wong MN, Allweiss L, et al. Multiorgan and Renal Tropism of COVID-19. *N Engl J Med.* 2020; 383 (6): 590–2. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMc2011400>.
15. Solomon IH, Normandin E, Bhattacharyya S, Mukerji SS, Keller K, Ali AS, et al. Neuropathological Features of Covid-19. *N Engl J Med.* 2020; 383 (10): 989–92. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMc2019373>.
16. Troyer EA, Kohn JN, Hong S. Are we facing a crashing wave of neuropsychiatric sequelae of COVID-19? Neuropsychiatric symptoms and potential immunologic mechanisms. *Brain Behav Immun.* 2020; 87: 34–39. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.04.027>
17. Rogers JP, Chesney E, Oliver D, et al. Psychiatric and neuropsychiatric presentations associated with severe coronavirus infections: a systematic review and meta-analysis with comparison to the COVID-19 pandemic. *Lancet Psychiatry.* 2020; 7 (7): 611–27. Available from: [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(20\)30203-0](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(20)30203-0).
18. Kubota T, Gajera PK, Kuroda N. Meta-analysis of EEG findings in patients with COVID-19. *Epilepsy Behav.* 2021; 115: 107682. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.107682>.
19. Petrescu AM, Taussig D, Bouilletter V. Electroencephalogram (EEG) in COVID-19: A systematic retrospective study. *Neurophysiol Clin.* 2020; 50 (3): 155–65. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neucli.2020.06.001>.
20. Pinto TCC, Machado L, Bulgacov TM, Rodrigues-Júnior AL, Costa MLG, Ximenes RCC, et al. Is the Montreal Cognitive Assessment (MoCA) screening superior to the Mini-Mental State Examination (MMSE) in the detection of mild cognitive impairment (MCI) and Alzheimer's Disease (AD) in the elderly? *Int Psychogeriatr.* 2019; 31 (4): 491–504. Available from: <https://doi.org/10.1017/S1041610218001370>.

- org/10.1017/S1041610218001370.
21. Mishkin M, Ungerleider LG. Contribution of striate inputs to the visuospatial functions of parieto-preoccipital cortex in monkeys Behav Brain Res. 1982; 6 (1): 57–77. Available from: [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(82\)90081-x](https://doi.org/10.1016/0166-4328(82)90081-x).
 22. Lehmann D, Strik WK, Henggeler B, Koenig T, Koukkou M. Brain electric microstates and momentary conscious mind states as building blocks of spontaneous thinking: I. Visual imagery and abstract thoughts. Int J Psychophysiol. 1998; 29 (1): 1–11. Available from: [https://doi.org/10.1016/s0167-8760\(97\)00098-6](https://doi.org/10.1016/s0167-8760(97)00098-6).
 23. Michel CM, Koenig T. EEG microstates as a tool for studying the temporal dynamics of whole-brain neuronal networks: A review. Neuroimage. 2018; 180 (Pt B): 577–93. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.11.062>.
 24. Van De Ville D, Britz J, Michel CM. EEG microstate sequences in healthy humans at rest reveal scale-free dynamics Proceedings of the National Academy of Sciences. 2010; 107 (42): 18179–84; Available from: <https://doi.org/10.1073/pnas.1007841107>.
 25. Pascual-Marqui RD, Michel CM, Lehmann D. Segmentation of brain electrical activity into microstates: model estimation and validation. IEEE Trans Biomed Eng. 1995; 42 (7): 658–65. Available from: <https://doi.org/10.1109/10.391164>
 26. Vitali P, et al. Integration of multimodal neuroimaging methods: a rationale for clinical applications of simultaneous EEG-fMRI Funct Neurol. 2015. PMID: 26214023.
 27. Sarter M, Fritschy JM. Reporting statistical methods and statistical results in EJM. Eur J Neurosci. 2008; 28 (12): 2363–4. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06581.x>.

ЦЕРЕБРАЛЬНЫЙ ЭНЕРГООБМЕН У РАБОТНИКОВ ЯДЕРНО ОПАСНЫХ ПРЕДПРИЯТИЙ И ПРОИЗВОДСТВ С НИЗКИМ УРОВНЕМ ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ АДАПТАЦИИ

З. Ф. Зверева¹✉, Ф. С. Торубаров¹, Н. П. Ванчакова², Е. А. Денисова¹

¹ Федеральный медицинский биофизический центр имени А. И. Бурназяна, Москва, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

В результате психофизиологического обследования работников 10-й АЭС России у 30% обследованных выявлен низкий уровень психофизиологической адаптации (ПФА). Изучение функциональной активности (ФА) головного мозга с помощью ЭЭГ установило ее снижение у лиц с низким уровнем ПФА. Одним из факторов снижения функционального состояния головного мозга может быть нарушение церебрального энергообмена. Целью работы было изучить особенности церебрального энергообмена у работников ядерно опасных предприятий и производств с низким уровнем ПФА. Исследовали 159 ЭЭГ лиц с низким уровнем ПФА ($50,8 \pm 4,6$), 152 ЭЭГ лиц с высоким уровнем ПФА ($48,8 \pm 1,5$). Энергообмен изучали при низкой ФА как мозга в целом, так и отдельных условно выделенных нами структурно-функциональных образований (СФО) ЦНС: преимущественно коры (СФО-1), корково-подкоркового взаимодействия (СФО-2), центральной регуляции сердечно-сосудистой системы (СФО-3). ЭЭГ регистрировали общепринятым способом на электроэнцефалографе. Для оценки церебрального энергообмена использовали показатель величины межполушарных различий (ВМПР) мощности биопотенциалов (БП) ЭЭГ гомологичных отведений. Получены данные об усилении при низком уровне ПФА церебрального энергообмена в передних отделах коры головного мозга. Усиление церебрального энергообмена выявлено также в СФО-1 и СФО-2, ответственных за психические и психофизиологические функции ЦНС. При этом в СФО-3, отражающем центральную регуляцию ССС, церебральный энергообмен не менялся.

Ключевые слова: работники, ядерно опасные предприятия, центральная нервная система, ЭЭГ, психофизиологическая адаптация, церебральный энергообмен, функциональное состояние

Вклад авторов: З. Ф. Зверева, Ф. С. Торубаров, Н. П. Ванчакова — обработка данных и написание статьи; Е. А. Денисова — психофизиологическое обследование.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом Федерального медицинского биофизического центра им. А. И. Бурназяна (протокол № 406 от 13 декабря 2021 г.)

✉ **Для корреспонденции:** Зоя Фёдоровна Зверева
Пестеля, д. 9, к. 146, г. Москва, 127490, Россия; zvereva01@yandex.ru

Статья получена: 15.04.2022 **Статья принята к печати:** 29.04.2022 **Опубликована онлайн:** 03.05.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.012

CEREBRAL ENERGY EXCHANGE IN EMPLOYEES OF HAZARDOUS NUCLEAR FACILITIES AND PRODUCTIONS WITH THE LOW DEGREE OF PSYCHOPHYSIOLOGICAL ADAPTATION

Zvereva ZF¹✉, Torubarov FS¹, Vanchakova NP², Denisova EA¹

¹ Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia

² Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

Psychophysiological assessment of employees of 10 Russian nuclear power plants revealed a low degree of psychophysiological adaptation (PPA) in 30% of subjects. Studying the functional activity (FA) of the brain by EEG revealed the decline in FA in individuals with the low degree of PPA. The impaired cerebral energy exchange could be one of the factors contributing to the decline in the brain functional state. The study was aimed to assess the features of the cerebral energy exchange in the employees of the hazardous nuclear facilities and productions with the low degree of PPA. A total of 159 EEG recordings acquired from individuals with the low degree of PPA (50.8 ± 4.6), and 152 EEG recordings acquired from individuals with the high degree of PPA (48.8 ± 1.5) were studied. Energy exchange was assessed in individuals with the low FA of both brain as a whole and the following conditionally distinguished structural and functional units (SFUs) of the CNS: mainly cerebral cortex (SFU-1), cortical-subcortical interactions (SFU-2), central control of the cardiovascular system (SFU-3). EEG was recorded by standard method using the electroencephalography unit. The magnitude of the hemispheric differences (HD) in the power of biopotentials (BP) between the homologous EEG leads was used to assess the cerebral energy exchange. There is evidence of the cerebral energy exchange increase in the anterior cortical areas of individuals with the low degree of PPA. The increased cerebral energy exchange has been also revealed in SFU-1 and SFU-2 responsible for the mental and psychophysiological functions of the CNS. However, cerebral energy exchange remains unchanged in the SFU-3 reflecting the central control of the CVS.

Keywords: employees, hazardous nuclear facilities and productions, central nervous system, EEG, psychophysiological adaptation, cerebral energy exchange, functional state

Author contribution: Zvereva ZF, Torubarov FS, Vanchakova NP — data processing, manuscript writing; Denisova EA — psychophysiological assessment.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the A. I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center (protocol № 406 dated December 13, 2021).

✉ **Correspondence should be addressed:** Zoya F. Zvereva
Pestelya 9, k. 146, Moscow, 127490, Russia; zvereva01@yandex.ru

Received: 15.04.2022 **Accepted:** 29.04.2022 **Published online:** 03.05.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.012

Работа оперативного персонала ядерно опасных предприятий и производств связана с большим эмоциональным напряжением и высокой ответственностью. Основные задачи работников — своевременное и правильное восприятие сложной информации, ее оценка, принятие решения и адекватные ответные действия. Все

они обеспечиваются центральной нервной системой (ЦНС). Нарушения функционального состояния (ФС) ЦНС, приводящие к снижению психофизиологической адаптации (ПФА), отражаются на надежности профессиональной деятельности и могут приводить к возрастанию риска возникновения аварийных ситуаций по вине персонала [1].

Оценить ФС ЦНС и уровень ПФА позволяет психофизиологическое обследование (ПФО), которое проходят работники ядерно опасных предприятий и производств в рамках обязательных ежегодных медицинских осмотров [2, 3]. Опыт проведения ПФО показал целесообразность применения комплексного подхода к определению уровня ПФА с использованием методик, учитывающих психическую, психофизиологическую и физиологическую сферы человека [1, 3, 4].

Разработанная нами концептуальная модель ПФО персонала объектов использования атомной энергии позволяет оценить функциональную активность (ФА) условно выделенных нами структурно-функциональных образований (СФО) ЦНС, ФС ЦНС в целом и уровень ПФА [5]. В качестве СФО ЦНС мы рассматриваем следующие: преимущественно кора (СФО-1); корково-подкорковое взаимодействие (СФО-2); центральная регуляция сердечно-сосудистой системы (СФО-3).

Функциональная активность структурно-функциональных образований ЦНС оценивается следующим образом:

- СФО-1 с помощью психологических методик, которые отражают психическую сферу: личностные особенности, психическое состояние человека, черты его характера, уровень интеллекта, уровень интернальности-экстернальности (степень готовности человека брать на себя ответственность за происходящее с ним и вокруг него), за что в наибольшей степени отвечает кора головного мозга [6];

- СФО-2 с помощью психофизиологических методик, которые отражают динамику скорости нервных процессов, их переключения, уровень зрительно-моторной координации, общий уровень работоспособности и активности ЦНС, что формируется при доминирующей роли корково-подкорковых взаимоотношений [7];

- СФО-3 с помощью физиологической методики определения вариабельности сердечного ритма (ВСР), которая отражает центральную регуляцию сердечно-сосудистой системы (ССС), за что отвечают подкорковые структуры — дизэнцефальные отделы ствола головного мозга [8].

Показатели ФА СФО ЦНС определяют как высокие, средние, низкие. Это позволяет определить уровень ПФА как интегрального показателя — тоже как высокий, средний, низкий [2, 3, 4]. ПФО проводят с помощью аппаратно-программного комплекса (АПК) «ПФС-Контроль» [2, 4].

Проведенное ранее ПФО оперативных работников 10 АЭС России показало, что 30% из них имели низкий уровень ПФА [9, 10]. При оценке ФС ЦНС у этих работников с помощью ЭЭГ при низком уровне ПФА статистически значимо чаще, чем при высоком, выявляли показатели, рассматриваемые как аномальные [11, 12]. Это свидетельствовало об ухудшении ФС ЦНС. Наибольшее число аномальных показателей выявили при низкой ФА СФО, отражающего центральную регуляцию ССС [9–12].

В вопросах адаптации человека к условиям жизнедеятельности, включая напряженную и ответственную профессиональную деятельность, важное значение придается изучению энергетического метаболизма головного мозга [13], лежащего в основе функциональной пластичности мозга [14]. В исследованиях с использованием нейроэргометрии, оценивающей церебральный энергообмен путем регистрации уровня постоянного потенциала (УПП) головного мозга [15], были установлены изменения, возникающие в условиях напряженной жизнедеятельности в ЦНС при

развитии адаптивных реакций. Показано, что в сложных природно-климатических условиях Арктической зоны Российской Федерации (РФ) у проживающих постоянно и у мигрантов наблюдаются изменения адаптивных реакций в виде усиления церебрального энергообмена [16]. У жителей Арктической зоны РФ отмечена тесная связь между световым режимом, состоянием церебрального энергообмена и тревожностью. Сезонные изменения церебрального энергообмена в виде его усиления в светлые периоды года у людей с высоким уровнем тревоги протекают с более выраженным усилением энергообмена, чем у лиц с низким уровнем тревожности [17]. При изучении взаимосвязи деятельности мозга с энергетическим метаболизмом было показано, что интенсивную интеллектуальную нагрузку сопровождает более значительное усиление церебрального энергообмена, чем менее интенсивную [13]. Выявлены также различия в усилении церебрального энергообмена в разных зонах коры при умственной нагрузке разного типа [18].

Вопросы энергетического метаболизма головного мозга при адаптивных реакциях человека, несмотря на значимость, практически не изучены у работников ядерно опасных предприятий и производств. Не изучен церебральный энергообмен у работников атомной отрасли при низком уровне ПФА.

В электроэнцефалографии, широко используемой при изучении механизмов перестроек ФС ЦНС в норме и патологии, для оценки церебрального энергообмена разработан показатель — величина межполушарных различий (ВМПР) мощности биопотенциалов (БП) ЭЭГ гомологичных отведений [19], который был применен в настоящем исследовании. Сопоставление данного показателя с используемым в нейроэргометрии показателем УПП, выявившее их сходство при оценке изменений ФС ЦНС [20], подтверждает обоснованность применения ВМПР мощности БП ЭЭГ гомологичных отведений для анализа церебрального энергообмена у лиц с низким уровнем ПФА.

Целью работы было изучить особенности церебрального энергообмена у работников ядерно опасных предприятий и производств с низким уровнем ПФА.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования были архивные ЭЭГ, записанные у работников ядерно опасных предприятий и производств при прохождении ПФО во время медосмотра. Критерии включения: ЭЭГ лиц, не имевших противопоказаний к продолжению работы по результатам медосмотра и ПФО. Выделено 311 ЭЭГ, из них 159 ЭЭГ лиц с низким уровнем ПФА ($50,8 \pm 4,6$ лет; 146 мужчин, 13 женщин), 152 ЭЭГ лиц с высоким уровнем ПФА ($48,8 \pm 1,5$ лет; 140 мужчин, 12 женщин). В связи с небольшим количеством женщин группы рассматривали как однородные.

ПФО проводили на АПК «ПФС-КОНТРОЛЬ» [2–4]. Использовали следующие психологические методики:

- методику многостороннего исследования личности (ММИЛ; адаптированный вариант ММПР [2, 3, 21, 22]);
- 16-факторный личностный опросник Рэймонда Кеттелла (16-ФЛО, форма А) [2, 3, 23];
- «прогрессивные матрицы» Джона Равенна [2, 3, 24];
- «уровень субъективного контроля» (УСК) [2, 3, 25]; на основании методик выделяли СФО-1.

Психофизиологические методики:

- простая зрительно-моторная реакция (ПЗМР),

сложная зрительно-моторная реакция (СЗМР), реакция на движущийся объект (РДО); на основании методик выделяли СФО-2.

Физиологическая методика: ВСР; на основании методики выделяли СФО-3.

Для оценки церебрального энергообмена были сформированы две группы в зависимости от уровня ПФА:

- 1-я группа с низким уровнем ПФА ($n = 159$);
- 2-я группа с высоким уровнем ПФА (группа сравнения; $n = 152$).

Сформированы также две подгруппы в зависимости от ФА СФО ЦНС:

- 1-я подгруппа с низкой ФА — СФО-1 ($n = 48$), СФО-2 ($n = 53$), СФО-3 ($n = 110$);
- 2-я подгруппа с высокой ФА — СФО-1 ($n = 117$), СФО-2 ($n = 71$), СФО-3 ($n = 87$).

ЭЭГ регистрировали на аппарате ЭЭГА-21/26 «Энцефалан-131-03» («МЕДИКОМ МТД»; Россия) по стандартной схеме «10–20%» в состоянии пассивного бодрствования. Электроды помещали в зонах коры: Fp1, Fp2, F3, F4, F7, F8, T3, T4, T5, T6, C3, C4, P3, P4, O1, O2. Отведение монополярное, индифферентные электроды помещали на мочки ушей. Оцифровка сигналов — 1024, скорость развертки — 30 мм/с. Регистрировали диапазоны: 0–3,5 Гц — δ ; 4,0–7,0 Гц — θ ; 8,0–13,0 — α ; 14–24 Гц — β_1 ; 25–35 Гц — β_2 .

Для вычисления показателя церебрального энергообмена:

- безартефактные отрезки фоновой записи (1,5–2 мин) обрабатывали по программам ЭЭГА-21/26 «Энцефалан-131-03» и получали цифровые значения 10-ти фрагментов спектральной мощности БП ЭЭГ в каждом из отведений гемисфер;

- для расчета разницы между двумя величинами от условной средней в % по формуле $(A-B)/(A+B) \times 100\%$, где А — мощность БП ЭЭГ в отведении левого полушария, В — мощность БП ЭЭГ в гомологичном отведении правого полушария) вычисляли значения ВМГР мощности БП ЭЭГ гомологичных отведений;

- абсолютные значения ВМГР мощности БП ЭЭГ гомологичных отведений усредняли во всех диапазонах (α , δ , θ , β_1 , β_2) для каждой пары отведений; полученные значения являлись показателями церебрального энергообмена в условных единицах (усл. ед.);

- вычисляли усредненные показатели церебрального энергообмена отдельно для передних отделов коры (Fp1, Fp2, F3, F4, F7, F8, T3, T4, T5, T6) и задних отделов коры (C3, C4, P3, P4, O1, O2) [19].

Статистическую обработку данных проводили с помощью программ STATISTICA 6 для Windows (StatSoft Inc.; США) и Biostat (AnalystSoft; США). Обработка массива данных по программе STATISTICA 6 включала расчет средних арифметических величин (M) и ошибок (m). Достоверность различий средних значений оценивали с

использованием критерия Стьюдента. Различия в группах сравнения считали значимыми при $p < 0,05$. Обработка массива данных по программе Biostat включала расчет критерия χ^2 , уровень значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В табл. 1 представлены показатели ВМГР мощности БП ЭЭГ гомологичных отведений в передних и задних отделах коры при низком и высоком уровнях ПФА.

Как при низком, так и при высоком уровнях ПФА значения показателей в передних отделах коры были больше, чем в задних. В передних отделах коры церебральный энергообмен был выше, чем в задних. Это соответствует аналогичным соотношениям в норме у здоровых людей [19].

При низком уровне ПФА показатели ВМГР мощности БП ЭЭГ гомологичных отведений в передних отделах коры увеличились (относительно высокого уровня). В задних отделах коры значения показателей ВМГР мощности БП ЭЭГ гомологичных отведений при низком и высоком уровнях ПФА не различались.

Из приведенных данных следует, что при низком уровне ПФА церебральный энергообмен усиливался в передних отделах коры и не изменялся в задних.

В табл. 2 представлены показатели ВМГР мощности БП ЭЭГ гомологичных отведений в передних и задних отделах коры при низкой и высокой ФА СФО ЦНС.

В СФО-1 при низкой ФА показатели ВМГР мощности БП ЭЭГ гомологичных отведений увеличились (относительно высокой ФА) в передних отделах коры и не изменились в задних.

Аналогично в СФО-2 при низкой ФА показатели ВМГР мощности БП ЭЭГ гомологичных отведений увеличились (относительно высокой ФА) в передних отделах коры и не изменились в задних.

Из данных следует, что в СФО-1 и СФО-2 при низкой ФА церебральный энергообмен усиливался в передних отделах коры и не изменялся в задних.

При низкой ФА СФО-3 показатели ВМГР мощности БП ЭЭГ гомологичных отведений в передних и задних отделах коры не отличались от аналогичных показателей при высокой ФА. Церебральный энергообмен в передних и задних отделах коры не изменялся.

Таким образом, при низком уровне ПФА и низкой ФА СФО-1, СФО-2 церебральный энергообмен усиливался в передних отделах коры и не изменялся в задних. При низкой ФА СФО-3 церебральный энергообмен в передних и задних отделах коры не изменялся.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Из результатов работы следует, что церебральный энергообмен при низком уровне ПФА усиливался. В

Таблица 1. Показатели ВМГР мощности БП ЭЭГ гомологичных отведений в передних и задних отделах коры при низком и высоком уровнях ПФА

Уровень ПФА	ВМГР мощности БП ЭЭГ гомологичных отведений (усл. ед.)		Критерий / p
	Отделы коры		
	передние	задние	
Низкий $n = 159$	18,1 ± 0,09**	15,9 ± 0,04*	$t / 0,0089^*$ $t / 0,0034^*$
Высокий $n = 152$	17,3 ± 0,05**	15,7 ± 0,02*	$t / 0,0056^*$

Примечание: * — статистически значимые различия между передними и задними отделами коры; ** — статистически значимые различия между низким и высоким уровнями ПФА.

Таблица 2. Показатели ВМГР мощности БП ЭЭГ гомологичных отделений в передних и задних отделах коры при низкой и высокой ФА СФО ЦНС

СФО ЦНС	ФА	Показатели ВМГР мощности БП ЭЭГ гомологичных отделений (усл. ед.)		Критерий / <i>p</i>
		Отделы коры		
		передние	задние	
СФО-1	низкая <i>n</i> = 48	18,8 ± 0,07**	16,1 ± 0,08*	<i>t</i> / 0,0062* <i>t</i> / 0,0030**
	высокая <i>n</i> = 117	17,2 ± 0,02**	15,5 ± 0,05*	<i>t</i> / 0,0050*
СФО-2	низкая <i>n</i> = 53	18,2 ± 0,06**	15,9 ± 0,04*	<i>t</i> / 0,0058* χ^2 / 0,046**
	высокая <i>n</i> = 71	17,0 ± 0,02**	15,7 ± 0,05*	<i>t</i> / 0,0062*
СФО-3	низкая <i>n</i> = 110	17,9 ± 0,04*	15,9 ± 0,06*	<i>t</i> / 0,0052*
	высокая <i>n</i> = 87	17,2 ± 0,03*	15,7 ± 0,09*	<i>t</i> / 0,016*

Примечание: * — статистически значимые различия между передними и задними отделами коры; ** — статистически значимые различия между низкой и высокой ФА СФО.

ранее проведенных электроэнцефалографических исследованиях работников АЭС было установлено, что при низком уровне ПФА в ЭЭГ выявляются признаки ухудшения ФС ЦНС в виде увеличения показателей, рассматриваемых как аномальные [9–12]. По данным литературы, при низкой адаптации в ЭЭГ приблизительно в 80% наблюдений фиксируются формы активности, существенно отличающиеся от нормы и свидетельствующие об ухудшении ФС ЦНС [9–12]. Можно предположить, основываясь на приведенных данных, что усиление церебрального энергообмена у работников ядерно опасных предприятий и производств с низким уровнем ПФА свидетельствовало об ухудшении ФС ЦНС.

ПФА представляет системный ответ организма на действие внешних и внутренних факторов, который направлен на достижение приспособительного результата [1, 4, 21, 26]. В качестве основного ее механизма рассматривают стресс [27, 28]. Показано, что при стрессе, возникающем как неспецифическая реакция организма на значительные воздействия внешних и внутренних факторов [27, 28], закономерно снижаются уровень адаптации, ухудшается ФС ЦНС и усиливается энергетический метаболизм головного мозга [15]. Эти данные подтверждены в исследованиях церебрального энергообмена у проживающих в неблагоприятных климатических условиях арктической зоны РФ [16], а также у проживающих в условиях арктической зоны и имеющих высокий уровень тревожности [17]. Можно предположить, что усиление церебрального энергообмена при низком уровне ПФА, выявленное в нашем исследовании, явилось следствием стрессовых реакций, развившихся у работников атомной отрасли в ответ на значительные воздействия внешних и внутренних факторов при осуществлении напряженной и ответственной профессиональной деятельности.

Повышение церебрального энергообмена указывает, вероятно, на включение дополнительных психофизиологических механизмов, которые позволяют лицам с низким уровнем ПФА справляться с нагрузками. Однако такой компенсаторный механизм не оптимален, истощает и требует дополнительного восстановления. Поэтому возникновение подобных изменений следует расценивать как критическое для персонала ядерно опасных предприятий и производств.

По результатам работы церебральный энергообмен усиливался при низкой ФА СФО-1 и СФО-2, которые отражают психическую и психофизиологическую сферы человека, и не изменялся при низкой ФА СФО-3, отражающей физиологическую сферу.

В соответствии с концептуальной моделью ПФО СФО-1 рассматривают как преимущественно корковое, СФО-2 — как корково-подкорковое взаимодействие, СФО-3 — как центральную регуляцию сердечно-сосудистой системы [5]. За функции, осуществляющиеся при участии СФО-1, в наибольшей степени отвечает кора головного мозга [6]. Функции, осуществляющиеся при участии СФО-2, формируются при доминирующей роли корково-подкорковых взаимоотношений [7]. За функции, осуществляющиеся при участии СФО-3, в наибольшей степени отвечают подкорковые структуры — диэнцефальные отделы ствола головного мозга [8]. ПФА, в соответствии с существующими представлениями, рассматривают как системный процесс, основанный на переработке информации [29]. Можно предположить, основываясь на приведенных представлениях, что процессы церебрального энергообмена в наибольшей степени вовлечены в переработку информации при осуществлении функций, за которые преимущественно отвечает кора головного мозга (СФО-1), а также при осуществлении функций, которые формируются при доминирующей роли корково-подкорковых взаимоотношений (СФО-2). В меньшей степени процессы церебрального энергообмена вовлечены в переработку информации при осуществлении функций, за которые в наибольшей степени отвечают подкорковые структуры — диэнцефальные отделы ствола головного мозга (СФО-3).

Можно также предположить, что усиление церебрального энергообмена является компенсаторным нейробиохимическим процессом, направленным на повышение ФА наиболее важных СФО ГМ.

Усиление церебрального энергообмена в передних отделах коры ГМ как при низком уровне ПФА, так и при низкой ФА СФО ЦНС, участвующих в психических и психофизиологических функциях, связано с их большей динамичностью в условиях повышенных нагрузок по сравнению с физиологическими функциями. СФО, связанное с регуляцией сердечно-сосудистой системы,

отличаются автономностью, и в поддержании его ФА участвуют, по-видимому, другие механизмы.

ВЫВОДЫ

У работников ядерно опасных предприятий и производств при низком уровне психофизиологической адаптации церебральный энергообмен усиливается в передних отделах коры и не изменяется в задних. При низкой функциональной активности структурно-функциональных образований, отражающих психическую и психофизиологическую сферы, церебральный

энергообмен усиливается в передних отделах коры и не изменяется в задних. При низкой функциональной активности структурно-функционального образования, отражающего центральную регуляцию сердечно-сосудистой системы, церебральный энергообмен в передних и задних отделах коры не изменяется. Для установления причин отсутствия изменений церебрального энергообмена в этом СФО необходимо проведение специальных исследований.

Результаты исследования важны не только для нейронауки, но и для практического применения в медицинских целях.

Литература

- Самойлов А. С., Бушманов А. Ю., Бобров А. Ф., Щепланов В. Ю., Седин В. И., Калинина М. Ю. Психофизиологические аспекты обеспечения надежности профессиональной деятельности работников организаций атомной отрасли. В сборнике: Материалы III отраслевой научно-практической конференции. АНО ДПО «Техническая академия Росатома». М., 2018; с. 62–76.
- Организация и проведение психофизиологических обследований работников организаций, эксплуатирующих особо радиационно опасные и ядерно опасные производства и объекты в области использования атомной энергии, при прохождении работниками медицинских осмотров в медицинских организациях ФМБА России. Методические рекомендации Р ФМБА России 2.2.9.84 - 2015. Москва, 2015.
- Руководство по оценке и интерпретации результатов мониторинга психофизиологического состояния работников организаций, эксплуатирующих особо радиационно опасные и ядерно опасные производства и объекты в области использования атомной энергии. ФМБА России 2.2.9. 2014; 40 с.
- Бобров А. Ф., Бушманов А. Ю., Седин В. И., Щепланов В. Ю. Системная оценка результатов психофизиологических обследований. Медицина экстремальных ситуаций. 2015; (3): 13–9.
- Торубаров Ф. С., Бушманов А. Ю., Зверева З. Ф., Кретов А. С., Лукьянова С. Н., Денисова Е. А. Концепция психофизиологического обследования персонала объектов использования атомной энергии в медицинских организациях. Медицина экстремальных ситуаций. 2021; 23 (1): 13–8.
- Лурия А. Р. Высшие корковые функции человека и их нарушение при локальных поражениях мозга. М.: Академ. проект, 2000; 433 с.
- Лоскутова Т. Д. Оценка функционального состояния центральной нервной системы человека по параметрам простой двигательной реакции. Физиологический журнал СССР. 1975; 61 (1): 3–12.
- Баевский Р. М. Концепция физиологической нормы и критерии здоровья. Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. 2003; (4): 473–87.
- Исаева Н. А., Торубаров Ф. С., Зверева З. Ф., Лукьянова С. Н., Денисова Е. А. Биоэлектрическая активность головного мозга у работников Нововоронежской и Белоярской АЭС с разным уровнем адаптации к условиям их трудовой деятельности. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2016; 61 (5): 5–12.
- Торубаров Ф. С., Зверева З. Ф., Лукьянова С. Н. ЭЭГ показатели состояния центральной нервной системы у лиц с различными уровнями психофизиологической адаптации. Саратовский научно-медицинский журнал. Приложение октябрь-декабрь. 2019; 15 (4): 965–7.
- Торубаров Ф. С., Зверева З. Ф., Лукьянова С. Н. Биоэлектрическая активность головного мозга у оперативного персонала АЭС России с низким уровнем психофизиологической адаптации. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2021; 66 (2): 23–35.
- Зверева З. Ф., Торубаров Ф. С., Денисова Е. А., Мирошник Е. Прогностические критерии психофизиологической адаптации по данным сравнительной характеристики визуального анализа и показателей мощности биопотенциалов ЭЭГ у работников ядерно опасных предприятий и производств. Медицина труда и промышленная экология. 2021; 61 (9): 588–94.
- Кирсанов В. М. Оценка степени адаптации индивида на основе показателей энергетического потенциала головного мозга и психодиагностического обследования. Инновации в науке. 2012; (8): 64–8.
- Foster C, Steventon JJ, Helme D, Tomassini V, Wise RG. Cerebral Metabolic Changes During Visuomotor Adaptation Assessed Using Quantitative fMRI. Front Physiol. 2020 May 8; 11: 428.
- Фокин В. Ф., Пономарева Н. В. Энергетическая физиология мозга. Москва: «Антидор», 2003; 288 с.
- Грибанов А. В., Аникина Н. Ю., Гудков А. Б. Церебральный энергообмен как маркер адаптивных реакций человека в природно-климатических условиях Арктической зоны Российской Федерации. Экология человека. 2018; (8): 32–40.
- Грибанов А. В., Котцова О. Н., Аникина Н. Ю., Панков М. Н., Корельская И. Е. Сезонные изменения церебрального энергообмена при разном уровне тревожности у молодых людей в арктической зоне российской федерации. Человек. Спорт. Медицина. 2021; 21 (4): 73–80.
- Trimmel M, Strässler F, Knerer K. Brain DC potential changes of computerized tasks and paper/pencil tasks. Int J Psychophysiol. 2001; 40 (3): 187–94.
- Зверева З. Ф. Характер межполушарного распределения мощности биопотенциалов головного мозга в норме и при его латерализованном поражении [диссертация]. М., 2004.
- Мирошник Е. В., Зверева З. Ф., Бобров А. Ф., Баскаков И. С., Ванчакова Н. П., Еланская О. В. Сопоставление показателей биоэлектрической активности головного мозга и энергетических процессов в ткани мозга (Величины межполушарных различий гомологичных отведений и уровня постоянного потенциала головного мозга). Медицина экстремальных ситуаций. 2017; 60 (2): 49–59.
- Березин Ф. Б. Психическая и психофизиологическая адаптация человека. Л.: Наука, 1988; 270 с.
- Березин Ф. Б., Мирошников М. П., Соколова Е. Д., Методика многостороннего исследования личности (ММИЛ): структура, основы интерпретации, некоторые области применения. М.: Изд-во «Березин Феликс Борисович», 2011; 320 с.
- Cattell RB, Eber HW. Handbook for the Sixteen Personality factor Questionnaire. Illinois, 1964.
- Raven JC. A manual for Raven's progressive matrices and vocabulary tests. London: H.K. Levis @ Go. Ltd, 1988.
- Секоян И. Э. «Локус контроля» Джулиана Роттера с позиций психометрии. Независимый психиатрический журнал. 2008; 3: 18–25.
- Анохин П. К. Очерки по физиологии функциональных систем. М.: Наука, 1975; 447 с.
- Селье Г. Стресс без дистресса. М.: Прогресс, 1979; 124 с.

28. Юнусова С. Г., Розенталь А. Н., Балтина Т. В. Стресс. Биологический и психологический аспекты. Ученые записки Казанского университета. сер. гуманитарные науки. 2008; (3): 139–150.
29. Судаков К. В. Информация в деятельности функциональных систем организма. Вестник Челябинского государственного университета. Философия. Социология. Культурология. 2009; 149 (11): 35–46.

References

1. Samojlov AS, Bushmanov AYu, Bobrov AF, Shheblanov VYu, Sedin VI, Kalinina MYu. Psixofiziologicheskie aspekty obespecheniya nadezhnosti professional'noj deyatel'nosti rabotnikov organizacij atomnoj otrasli. V sbornike: Materialy III otraslevoj nauchno-prakticheskoy konferencii. ANO DPO «Texnicheskaya akademiya Rosatoma». M., 2018; s. 62–76. Russian.
2. Organizaciya i provedenie psixofiziologicheskix obsledovanij rabotnikov organizacij, ehkspluatiruyushhix osobo radiacionno opasnye i yaderno opasnye proizvodstva i ob"ekty v oblasti ispol'zovaniya atomnoj ehnergii, pri proxozhdenii rabotnikami medicinskix osmotrov v medicinskix organizacijax FMBA Rossii. Metodicheskie rekomendacii R FMBA Rossii 2.2.9.84–2015. Moskva, 2015. Russian.
3. Rukovodstvo po ocenke i interpretacii rezul'tatov monitoringa psixofiziologicheskogo sostoyaniya rabotnikov organizacij, ehkspluatiruyushhix osobo radiacionno opasnye i yaderno opasnye proizvodstva i ob"ekty v oblasti ispol'zovaniya atomnoj ehnergii. FMBA Rossii 2.2.9. 2014; 40 s. Russian.
4. Bobrov AF, Bushmanov AYu, Sedin VI, Shheblanov Vyu. Sistemnaya ocenka rezul'tatov psixofiziologicheskix obsledovanij. Medicina ehkstremaal'nyx situacij. 2015; (3): 13–9. Russian.
5. Torubarov FS, Bushmanov AYu, Zvereva ZF, Kretov AS, Lukyanova SN, Denisova EA. Konceptiya psixofiziologicheskogo obsledovaniya personala ob"ektov ispol'zovaniya atomnoj ehnergii v medicinskix organizacijax. Medicina ehkstremaal'nyx situacij. 2021; 23 (1): 13–8. Russian.
6. Luriya AR. Vysshie korkovye funkcii cheloveka i ix narushenie pri lokal'nyx porazheniyax mozga. M.: Akadem. proekt, 2000; 433 s. Russian.
7. Loskutova TD. Ocenka funkcional'nogo sostoyaniya central'noj nervnoj sistemy cheloveka po parametram prostoj dvigatel'noj reakcii. Fiziologicheskij zhurnal SSSR. 1975; 61 (1): 3–12. Russian.
8. Baevskij RM. Konceptiya fiziologicheskoy normy i kriterii zdorov'ya. Rossijskij fiziologicheskij zhurnal im. I. M. Sechenova. 2003; (4): 473–87. Russian.
9. Isaeva NA, Torubarov FS, Zvereva ZF, Lukyanova SN, Denisova EA. Bioelektricheskaya aktivnost' golovnog mozga u rabotnikov Novovoronezhskoj i Beloyarskoj AEHS s raznym urovnem adaptacii k usloviyam ix trudovoj deyatel'nosti. Medicinskaya radiologiya i radiacionnaya bezopasnost'. 2016; 61 (5): 5–12. Russian.
10. Torubarov FS, Zvereva ZF, Lukyanova SN. EhEhG pokazateli sostoyaniya central'noj nervnoj sistemy u lic s razlichnymi urovnymi psixofiziologicheskoy adaptacii. Saratovskij nauchno-meditsinskij zhurnal. Prilozhenie oktyabr'-dekabr'. 2019; 15 (4): 965–7. Russian.
11. Torubarov FS, Zvereva ZF, Lukyanova SN. Bioelektricheskaya aktivnost' golovnog mozga u operativnogo personala AEHS Rossii c nizkim urovnem psixofiziologicheskoy adaptacii. Medicinskaya radiologiya i radiacionnaya bezopasnost'. 2021; 66 (2): 23–35. Russian.
12. Zvereva ZF, Torubarov FS, Denisova EA, Miroshnik E. Prognosticheskie kriterii psixofiziologicheskoy adaptacii po dannym sravnitel'noj karakteristiki vizual'nogo analiza i pokazatelej moshhnosti biopotencialov EhEhG u rabotnikov yaderno opasnyx predpriyatij i proizvodstv. Medicina truda i promyshlennaya ehkologiya. 2021; 61 (9): 588–94. Russian.
13. Kirsanov VM. Ocenka stepeni adaptacii individa na osnove pokazatelej ehnergeticheskogo potenciala golovnog mozga i psixodiagnosticheskogo obsledovaniya. Innovacii v nauke. 2012. (8): 64–8. Russian.
14. Foster C, Steventon JJ, Helme D, Tomassini V, Wise RG. Cerebral Metabolic Changes During Visuomotor Adaptation Assessed Using Quantitative fMRI. Front Physiol. 2020 May 8; 11: 428.
15. Fokin VF, Ponomareva NV. Ehnergeticheskaya fiziologiya mozga. Moskva: «Antidor», 2003; 288 s. Russian.
16. Gribanov AV, Anikina NYu, Gudkov AB. Cerebral'nyj ehnergoobmen kak marker adaptivnyx reakcij cheloveka v prirodno-klimaticheskix usloviyax Arkticheskoy zony Rossijskoj Federacii. Ehkologiya cheloveka. 2018; (8): 32–40. Russian.
17. Gribanov AV, Kotcova ON, Anikina NYu, Pankov MN, Korelskaya IE. Sezonnye izmeneniya cerebral'nogo ehnergoobmena pri raznom urovne trevozhnosti u molodyx lyudej v arkticheskoy zone rossijskoj federacii. Chelovek. Sport. Medicina. 2021; 21 (4): 73–80. Russian.
18. Trimmel M, Strässler F, Knerer K. Brain DC potential changes of computerized tasks and paper/pencil tasks. Int J Psychophysiol. 2001; 40 (3): 187–94.
19. Zvereva Z. F. Xarakter mezhpolusharnogo raspredeleniya moshhnosti biopotencialov golovnog mozga v norme i pri ego lateralizovannom porazhenii [dissertaciya]. M., 2004. Russian.
20. Miroshnik EV, Zvereva ZF, Bobrov AF, Baskakov IS, Vanchakova NP, Elanskaya OV. Sopotavlenie pokazatelej bioelektricheskoy aktivnosti golovnog mozga i ehnergeticheskix processov v tkani mozga (Velichiny mezhpolusharnyx razlichij gomologichnyx otvedenij i urovnya postoyannogo potenciala golovnog mozga). Medicina ehkstremaal'nyx situacij. 2017; 60 (2): 49–59. Russian.
21. Berezin FB. Psixicheskaya i psixofiziologicheskaya adaptaciya cheloveka. L.: Nauka, 1988; 270 s. Russian.
22. Berezin FB, Miroshnikov MP, Sokolova ED, Metodika mnogostoronnego issledovaniya lichnosti (MMIL): struktura, osnovy interpretacii, nekotorye oblasti primeneniya. M.: Izd-vo «Berezin Feliks Borisovich», 2011; 320 s. Russian.
23. Cattell RB, Eber HW. Handbook for the Sixteen Personality factor Questionnaire. Illinois, 1964.
24. Raven JC. A manual for Raven's progressive matrices and vocabulary tests. London: H.K. Levis @ Go. Ltd, 1988.
25. Sekoyan I. Eh. «Lokus kontrolya» Dzhuliana Rottera s pozicij psixometrii. Nezavisimyj psixiatricheskij zhurnal. 2008; 3: 18–25. Russian.
26. Anoxin PK. Ocherki po fiziologii funkcional'nyx sistem. M.: Nauka, 1975; 447 s. Russian.
27. Sele G. Stress bez distressa. M.: Progress, 1979; 124 s. Russian.
28. Yunusova SG, Rozental AN, Baltina TV. Stress. Biologicheskij i psixologicheskij aspekty. Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta. ser. gumanitarnye nauki. 2008; (3): 139–150. Russian.
29. Sudakov KV. Informaciya v deyatel'nosti funkcional'nyx sistem organizma. Vestnik Chelyabinskogo gosudarstvennogo universiteta. Filosofiya. Sociologiya. Kul'turologiya. 2009; 149 (11): 35–46. Russian.

ДИНАМИКА ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА К SARS-COV-2 В ПРОФЕССИОНАЛЬНО ОДНОРОДНОЙ ГРУППЕ ЛЮДЕЙ ЗА ДВУХЛЕТНИЙ ЭПИДЕМИЧЕСКИЙ ПЕРИОД COVID-19

В. Г. Помелова [✉], Т. А. Быченкова, Н. И. Бекман, Н. С. Осин, Ю. Н. Ишков, К. К. Стяжкин

Государственный научно-исследовательский институт биологического приборостроения Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Для оперативного мониторинга состояния системы иммунитета при COVID-19 важно контролировать уровень специфических IgG к SARS-CoV-2. Однако неясно, какой уровень антител и насколько долго может обеспечить защиту от нового заражения. Целью работы было оценить в двухлетнем контролируемом обследовании динамику уровней IgG к SARS-CoV-2. В исследовании участвовали здоровые лица ($n = 70$), переболевшие COVID-19 ($n = 42$) и вакцинированные «Спутником V» ($n = 43$). Период наблюдения: апрель 2020 г. — апрель 2022 г. IgG выявляли в сыворотке крови ($n = 312$) на иммуночипе и в коммерческом тесте. Достоверность различий оценивали по критерию Манна-Уитни для $p \leq 0,05$. Уровни IgG у переболевших (медиана 97,1; 95% ДИ: 80–162 BAU/мл) и вакцинированных (103,1; 78–139 BAU/мл) были достоверно выше, чем у здоровых людей (4,3; 4,1–4,5 BAU/мл). Напряженность иммунного ответа значительно возрастала после вакцинации переболевших (до 1023; 657–1191 BAU/мл) или введения бустера вакцинированным (413; 213–545 BAU/мл). У реконвалесцентов старшего возраста (60+) уровень IgG достоверно выше, у вакцинированных — достоверно ниже, чем у людей моложе 60. IgG у вакцинированных снижались быстрее (через 3–4 месяца), чем у переболевших, а через 5–9 месяцев стабилизировались на уровне <100 BAU/мл у 60% обследованных. Таким образом, показатели напряженности и продолжительности иммунного ответа у переболевших COVID-19 и вакцинированных людей сильно варьируют в зависимости от возраста, срока наблюдения, дополнительной вакцинации / ревакцинации. За весь период наблюдений отмечено три случая заболевания после полного цикла вакцинации, в том числе у ранее переболевшего (а затем вакцинированного) человека.

Ключевые слова: COVID-19, IgG, SARS-CoV-2, динамика иммунного ответа, пациенты, возраст, вакцина «Спутник V», иммуночип

Благодарности: сотрудникам ФГУП «ГосНИИБП» Т. А. Канаевой — за постановку анализа на иммуночипе; А. С. Балабану — за печать антигенов на наноплоттере и подготовку иммуночипа к работе; О. Б. Стаднику — за организацию сбора и тестирования образцов сывороток в коммерческом тесте.

Вклад авторов: В. Г. Помелова — идея, дизайн экспериментов, подготовка рукописи; Т. А. Быченкова — руководство проведением иммунохимических исследований на иммуночипе, обработка результатов; Н. И. Бекман — статистический анализ, подготовка иллюстративного материала; Н. С. Осин — организация технической части исследований, анализ и обсуждение результатов, корректировка рукописи; Ю. Н. Ишков, К. К. Стяжкин — анализ и обсуждение результатов, корректировка рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим отделом ФГУП «ГосНИИБП» (протокол № 4 от 09 июня 2021 г.). Все участники подписали добровольное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Вера Гавриловна Помелова
Волоколамское шоссе, д. 75, корпус 1, г. Москва, 125424, Россия; v.pomelova@immunoscreen.ru

Статья получена: 19.05.2022 **Статья принята к печати:** 04.06.2022 **Опубликована онлайн:** 16.06.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.020

DYNAMICS OF HUMORAL IMMUNITY TO SARS-COV-2 IN THE PROFESSIONALLY HOMOGENEOUS GROUP OF PEOPLE OVER A TWO-YEAR PERIOD OF COVID-19 OUTBREAK

Pomelova VG [✉], Bychenkova TA, Bekman NI, Osin NS, Ishkov YuN, Styazhkin KK

State Research Institute of Biological Instrumentation of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

It is important to control the levels of specific IgG against SARS-CoV-2 to ensure the timely monitoring of immunity in patients with COVID-19. Yet it is unclear what antibody levels protect against new infection and how long the protection is maintained. The study was aimed to assess the dynamic changes in the levels of IgG against SARS-CoV-2 by the two-year controlled observation. Healthy individuals ($n = 70$), COVID-19 survivors ($n = 42$), and people vaccinated with Sputnik V ($n = 43$) were enrolled. They were followed-up from April 2020 to April 2022. Serum IgG levels were defined ($n = 312$) using immuno chip and the commercially available test system. Significance of differences was estimated using the Mann-Whitney U test for $p \leq 0.05$. IgG levels in the disease survivors (median 97.1; 95% CI: 80–162 BAU/mL) and vaccinated individuals (103.1; 78–139 BAU/mL) were significantly higher than in healthy people (4.3; 4.1–4.5 BAU/mL). Intensity of immune response significantly increased after vaccination of the disease survivors (up to 1023; 657–1191 BAU/mL) or administration of booster dose to vaccinated individuals (413; 213–545 BAU/mL). In elderly convalescents (60+), IgG levels were significantly higher, and in vaccinated people these were significantly lower, than in people under the age of 60. IgG levels decreased faster in vaccinated individuals (after 3–4 months), than in the disease survivors, and stabilized at <100 BAU/mL in 60% of subjects within 5–9 months. Thus, intensity and duration of immune response in COVID-19 survivors and vaccinated people vary significantly depending on age, observation period, and additional vaccinations/revaccinations. Three cases of infection after full vaccination were reported over the entire follow-up period, including infection in a patient having a history of the disease and subsequent vaccination.

Keywords: COVID-19, IgG, SARS-CoV-2, dynamics of immune response, patients, age, Sputnik V vaccine, immuno chip

Acknowledgements: we would like to thank staff members of the State Research Institute of Biological Instrumentation: Kanaeva TA for carrying out immuno chip-based analysis, Balaban AS for antigen printing with nanoplotter and immuno chip preparation for analysis, Stadnik OB for management of the serum samples acquisition and testing using commercially available immuno assay kit.

Author contribution: Pomelova VG — concept, experimental design, manuscript writing; Bychenkova TA — management of immuno chip-based immunochemistry studies, data processing; Bekman NI — statistical analysis, preparation of illustrations; Osin NS — providing technical assistance, data analysis and discussion, manuscript editing; Ishkov YuN, Styazhkin KK — data analysis and discussion, manuscript editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the State Research Institute of Biological Instrumentation (protocol № 4 dated June 09, 2021). The informed consent was submitted by all subjects.

✉ **Correspondence should be addressed:** Vera G. Pomelova
Volokolamskoe shosse, 75, corp. 1, Moscow, 125424, Russia; v.pomelova@immunoscreen.ru

Received: 19.05.2022 **Accepted:** 04.06.2022 **Published online:** 16.06.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.020

Пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19), объявленная ВОЗ в марте 2020 г., потребовала серьезных усилий со стороны органов здравоохранения разных стран, в том числе России, по организации надзора за заболеваемостью и принятию мер по снижению риска заражения. С эпидемиологических позиций наиболее надежную защиту обеспечивает формирование коллективного иммунитета, который формируется либо естественным путем за счет возрастания в популяции доли невосприимчивых лиц, перенесших инфекцию в той или иной форме, либо благодаря вакцинации.

Для оперативного мониторинга состояния системы иммунитета целесообразно контролировать уровень циркулирующих антител класса IgG [1, 2]. Для этой цели необходимо использовать зарегистрированные тест-системы, позволяющие количественно определить уровень антител против разных антигенов коронавируса (S, S1, RBD, N). Считается, что уровень антител к рецепторсвязывающему домену (RBD) S1-субъединицы шипового белка S наилучшим образом коррелирует с титром вируснейтрализующих антител, измеренных в реакции биологической нейтрализации [3].

Вместе с тем, до настоящего времени неясно, какой уровень антител может обеспечить достаточную защиту при встрече пациента с тем же, и, особенно, с новым вариантом коронавируса SARS-CoV-2, и как долго сохраняется необходимый уровень защиты после перенесенной инфекции или в результате вакцинации [4]. Показатели напряженности и длительности иммунитета сильно варьируют у пациентов [5] и в значительной степени зависят от пола, возраста, тяжести течения COVID-19 [6–9].

Изучение динамики гуморального иммунного ответа ограничивается, в основном, 6–8 месяцами после начала заболевания или вакцинации [5, 8, 9]. В связи с этим необходимы более продолжительные наблюдения для оценки индивидуальных особенностей формирования протективного иммунитета как основы для прогнозирования будущих тенденций в развитии пандемии [10], разработки персонализированных протоколов вакцинации [8] и лечения.

Представляется актуальным получить сведения о формировании и поддержании уровня IgG-антител к вирусу SARS-CoV-2 за наиболее продолжительный из описанных в литературе двухлетний период наблюдений.

Цель работы — оценить динамику уровней IgG к SARS-CoV-2 в двухлетнем контролируемом наблюдении сотрудников Государственного научно-исследовательского института биологического приборостроения и установить факторы, влияющие на напряженность и продолжительность гуморального иммунного ответа.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Пациенты

Работа выполнена в лаборатории молекулярной диагностики ФГУП «ГосНИИБП» в период с апреля 2020 г. по апрель 2022 г. В обследование включены 77 сотрудников института и 8 членов их семей, заболевших COVID-19 или прошедших вакцинацию в указанный период. Включение «семейных» случаев было обосновано возможностью расширения возрастного диапазона (16–88 лет) при оценке уровня и динамики IgG у переболевших и вакцинированных людей, а также установлении вероятных особенностей течения заболевания между совместно проживающими

родственниками. Критерии включения: документально подтвержденный факт заболевания COVID-19 или вакцинации / ревакцинации (выписка из истории болезни, сертификата о профилактических прививках). Критерии исключения: неполная информация о пациенте; ошибки в маркировке или неадекватный вид образцов сыворотки (гемолиз, высыхание, микробный прирост).

Обследуемых (всего 155 человек) разделили на три группы (табл. 1): контрольная группа З — условно здоровые доноры (70 человек, сыворотки от которых были получены до начала пандемии для выполнения другого проекта [11]); группа Б — реконвалесценты (переболели COVID-19, не были вакцинированы до начала заболевания); группа В — вакцинированные (не болели COVID-19 до вакцинации, вакцинированы двумя дозами вакцины «Спутник V»).

В группе Б 24 из 42 (57,1%) переболевших прошли полный цикл вакцинации «Спутником V» через 6–22 (в среднем 13,5) месяца после начала заболевания; из них 3 человека позже были вакцинированы дополнительно «Спутником Лайт» (подгруппа Б + В).

В группе В 14 из 43 (32,6%) человек были ревакцинированы (РВ) бустерными дозами одной из вакцин (через 6–9 месяцев после введения первой дозы вакцины «Спутник V»): «Спутник V» — две дозы (8 человек), «Спутник Лайт» (4 человека) или «Ковивак» — две дозы (2 человека) (подгруппа В + РВ).

Все перечисленные выше вакцины: «Спутник V», «Спутник Лайт» (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи», Россия), Ковивак (ФГАНУ ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова; Россия) зарегистрированы и разрешены к применению на территории Российской Федерации. Вакцинацию проводил медицинский работник в соответствии с инструкциями производителя.

Выделенные группы не различались статистически значимо по полу (всего 71 мужчина и 84 женщины) и возрасту (в среднем 52 года, диапазон от 16 до 88 лет).

От каждого участника получено от 1 до 12 порций сывороток крови, в том числе до начала заболевания (или вакцинации) и на разных сроках после начала заболевания (или введения первой дозы вакцины); всего 312 сывороток (табл. 1). До исследования аликвоты сыворотки хранили при –20 °С.

Согласно истории болезни (с учетом продолжительности госпитализации и степени поражения легких по результатам компьютерной томографии) среднетяжелое и тяжелое течение COVID-19 установлено у 11 из 42 (26,2%) заболевших группы Б; остальные перенесли заболевание в легкой форме.

Определение IgG к SARS-CoV-2

В 99 из 312 (31,7%) сывороток содержание IgG измерено иммунохемилюминесцентным методом на иммунохимическом анализаторе ARCHITECT i1000sr («Эббот лабораториз»; США) с помощью Набора «SARS-CoV-2 IgG II Quant Reagent Kit» («Эббот Ирландия Диагностическое подразделение»; Ирландия). Анализ был выполнен в компании INVITRO (Москва).

В 312 (100%) образцах сыворотки содержание IgG измерено на экспериментальном иммуночипе (ФГУП «ГосНИИБП»), разработанном на основе отечественной патентнозащищенной технологии фосфоресцентного анализа ФОСФАН, предназначенной для выявления маркеров инфекционных и соматических заболеваний [11–13]. Иммуноанализ проводили в лунках стандартных

Таблица 1. Общая характеристика участников обследования

Группа (число) обследованных	Шифр группы	Период заболевания или вакцинации	Число		Средний возраст (диапазон), лет	Число исследованных образцов сыворотки
			мужчин	женщин		
Условно здоровые (70)	З	Нет	30	40	50 (20–64)	70
Перенесшие COVID-19 (42) Из них вакцинированы «Спутником V» через 6–22 мес после начала заболевания (24)**	Б	04.2020 – 10.2021	22	20	50 (16–78)*	132
	Б + В	02.2021 – 11.2021	12	12	49 (21–78)*	32
Вакцинированные (43) Из них ревакцинированы (14)***	В	12.2020 – 09.2021	19	24	55 (26–88)*	110
	В + РВ	07.2021 – 01.2022	8	6	61 (38–76)*	14
Всего (155)		04.2020 – 01.2022	71	84	52 (16–88)*	312

Примечания: * — крайние точки возрастного диапазона (16, 76, 78, 88 лет) принадлежат членам семей сотрудников Института; ** — в том числе 3 человека были ревакцинированы «Спутником Лайт» примерно через 6 месяцев после введения первой дозы вакцины «Спутник V»; *** — введен бустер: «Спутник V», 2 дозы (8 человек), «Спутник Лайт» (4 человека) или «Ковивак», 2 дозы (2 человека) через 6–9 месяцев после введения первой дозы вакцины «Спутник V».

полистироловых микропланшетов аналогично методу твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). В отличие от ИФА, на дне каждой лунки напечатаны восемь микрозон (диаметром 0,5 мм каждая), по четыре микрозоны на каждый из двух антигенов: рекомбинантный SARS-CoV-2 белок S-RBD: «уханьский» вариант (кат. № ATMP02479COV; AtaGenix, Китай) и рекомбинантный SARS-CoV-2 белок S-RBD (L452R, T478K): вариант B.1.617.2, Дельта (код: YP-009724390.1, кат. № ATMP02527COV; AtaGenix, Китай).

Образцы сыворотки в разведении 1 : 100 вносили по 50 мкл в лунки микропланшета. После инкубации в течение 1,5 ч вносили по 50 мкл моноклональных антител против IgG человека («СОРБЕНТ»; Россия), биотинилированных (100 нг/50 мкл, инкубация 1 ч) и по 40 мкл конъюгата стрептавидина (Sigma-Aldrich; США) с платинакопропорфирином (13 нг/40 мкл, инкубация 30 мин). Все стадии выполняли при комнатной температуре и встряхивании на шейкере. Между стадиями проводили трехкратную промывку микропланшета буферным раствором, а на финальной стадии — дополнительную трехкратную промывку дистиллированной водой. Микропланшет высушивали и измеряли интенсивность флуоресценции на приборе-индикаторе ИФИ-05 («Иммуноскрин», Россия; РУ № РЗН от 21 января 2022 г.) путем сканирования дна лунок в режиме временного разрешения.

Концентрацию IgG рассчитывали (в ВАУ/мл) по калибровочным кривым для каждого из двух антигенов иммуночипа. Калибровочные пробы были аттестованы относительно первого международного стандарта ВОЗ. Диапазон измерений: 0–10000 ВАУ/мл. Качество измерений контролировали с использованием положительной контрольной сыворотки (от переболевшего COVID-19 человека) с уровнем IgG примерно 500 ВАУ/мл и отрицательной контрольной сыворотки (приготовлена на основе сыворотки, полученной от условно здорового донора до начала пандемии; по данным тестирования в коммерческом тесте не содержит IgG к SARS-CoV-2), которые включали в каждую постановку анализа. Результат исследования пробы считали положительным (антитела выявлены) при содержании IgG $\geq 10,0$ ВАУ /мл.

Статистическая обработка

Статистическую обработку результатов проводили с помощью стандартных программ Microsoft Office Professional Plus Excel 2013 версии 15.0.4727.1000 (Microsoft; США) и MedCalc версии 10 (MedCalc Software; Бельгия) с использованием параметрических и непараметрических методов анализа данных. Степень корреляции результатов оценивали по методу Пирсона, а

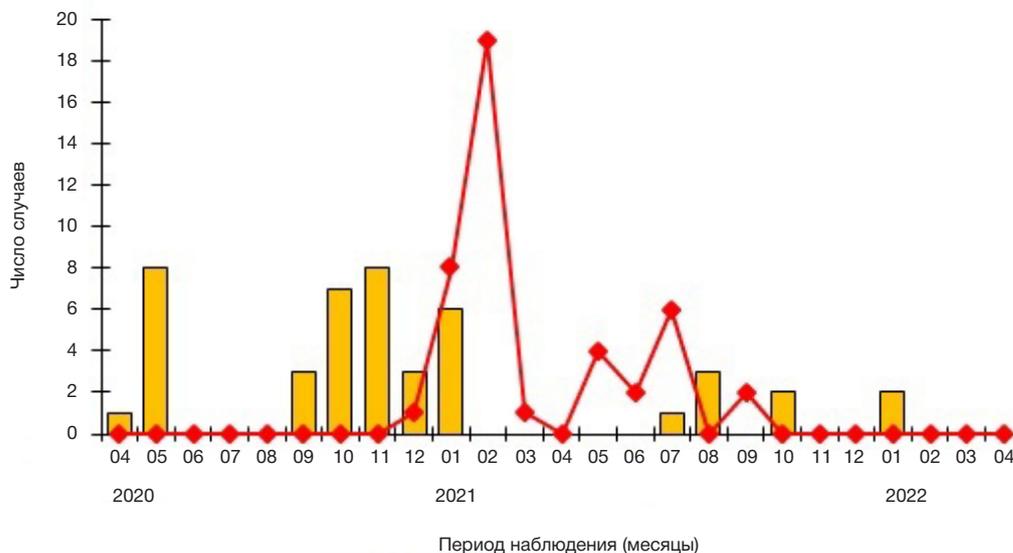


Рис. 1. Распределение числа заболевших COVID-19 (гистограммы) и вакцинированных «Спутником V» (график) по месяцам в течение двухлетнего периода наблюдений

Таблица 2. Уровень IgG к SARS-CoV-2 в сыворотке в зависимости от пола и возраста участников обследования

Группа	Показатель	Число проб	Медиана [95% ДИ] уровня IgG, ВАУ/мл	Значение <i>p</i>
Б: перенесшие COVID-19	Пол: мужской женский	44 39	83,1 [56,5–106,7] 160,1 [85,9–225,7]	0,2099
	Возраст, лет: ≥ 60 < 60	26 57	162,8 [95,9–241,2]* 84,4 [55,6–128,5]*	0,0268
В: вакцинированные	Пол: мужской женский	19 33	79,7 [35,7–143,4] 117,7 [86,6–224,5]	0,1104
	Возраст, лет: ≥ 60 < 60	22 30	77,4 [25,9–99,6]* 137,0 [101,8–228,1]*	0,0191

Примечания: ДИ — доверительный интервал; * — различия между группами статистически значимы.

достоверность различий — по критерию Манна–Уитни для уровня значимости $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установлена высокая степень корреляции между уровнями IgG, измеренными в коммерческом тесте и на иммуночипе с «уханским» вариантом SARS-CoV-2 ($r = 0,928544$; $N = 99$) или вариантом Дельта ($r = 0,933363$; $N = 99$); коэффициент корреляции результатов между двумя вариантами вируса составил 0,978057 ($N = 312$). С учетом этого результаты выявления IgG представлены только для иммуночипа с «уханским» вариантом вируса.

Распределение случаев заболевания COVID-19 среди участников обследования представлено на рис. 1. Первые случаи зарегистрированы в апреле 2020 г. с максимальным

числом заболевших в мае того же года. С сентября 2020 г. по январь 2021 г. отмечена вторая волна подъема заболеваемости: заболели 27 из 42 (64,3%) человек группы Б. С июля по октябрь 2021 г. заболели шесть человек; из них пятеро не были вакцинированы, тогда как один ранее переболел COVID-19 и был вакцинирован «Спутником V» через 10 месяцев после выздоровления.

Вакцинация стартовала с конца декабря 2020 г. Уже к апрелю 2021 г. полный цикл вакцинации «Спутником V» прошли 30 из 43 (69,8%), а к октябрю того же года — 100% участников группы В. Два человека этой группы заболели в январе 2022 г. через шесть месяцев после введения первой дозы вакцины (рис. 1).

У людей старшего возраста (60+), перенесших COVID-19, уровень IgG был статистически значимо выше ($p = 0,0268$), чем у людей моложе 60 лет. Наоборот, после

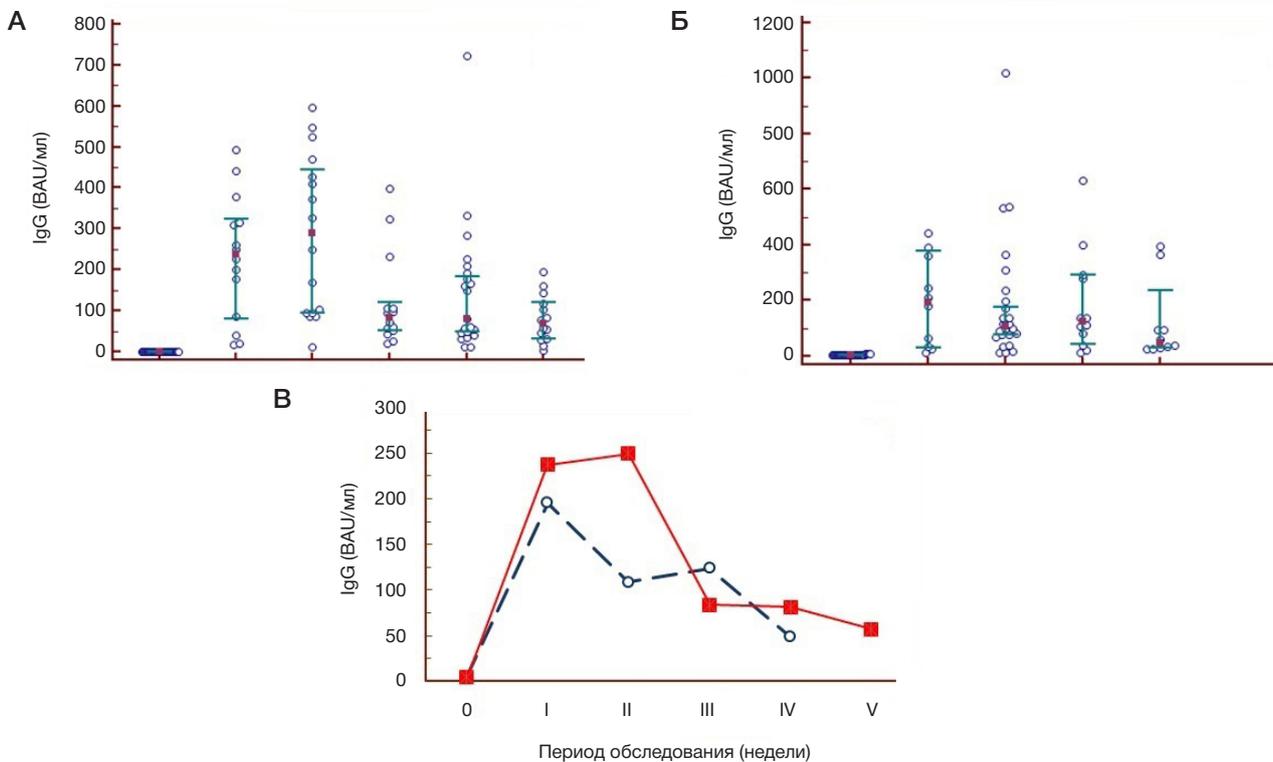


Рис. 2. А. Распределение уровней антител к SARS-CoV-2 в сыворотке крови перенесших COVID-19. 0 — до начала заболевания ($n = 16$); I — 2–8 ($n = 14$); II — 9–16 ($n = 17$); III — 17–24 ($n = 14$); IV — 25–36 ($n = 22$); V — 37–68 ($n = 15$). Б. Распределение уровней антител к SARS-CoV-2 в сыворотке крови вакцинированных «Спутником V» людей. 0 — до начала вакцинации ($n = 38$); I — 6–8 ($n = 10$); II — 9–16 ($n = 24$); III — 17–24 ($n = 12$); IV — 25–36 ($n = 12$). Для А и Б значения медианы (красная точка) даны с указанием 95%-го ДИ. В. Медианные значения IgG за период обследования. 0 — до начала заболевания или вакцинации; I — 2–8 (для переболевших) или 6–8 (для вакцинированных); II — 9–16; III — 17–24; IV — 25–36; V — 37–68. Даны значения медианы уровней IgG у перенесших заболевание (красная линия) и вакцинированных людей (синяя пунктирная линия)

полного цикла вакцинации неболевших людей выявлена статистически значимая отрицательная корреляция с возрастом ($p = 0,0191$). Пол пациента не оказывал статистически значимого влияния на уровень антител (табл. 2).

Большинство заболевших (73,8%) перенесли заболевание в легкой форме. Среднетяжелое и тяжелое течение отмечено у 11 (26,2%) человек. Эти случаи были равномерно распределены по месяцам в течение периода наблюдений. Мужчины тяжело болели чаще (восемь из 22 или 36,4%), чем женщины (три из 20 или 15%); различия, однако, статистически незначимы из-за малого объема выборки. Возраст заболевших с тяжелым течением COVID-19 составил 35–77 лет (в среднем 58 лет). Из восьми тяжело болевших мужчин лишь трое были старшего возраста (70–77 лет), тогда как возраст остальных не превышал 53 лет.

Отмечена высокая гетерогенность уровней антител как у переболевших COVID-19 (рис. 2А), так и у вакцинированных двумя дозами «Спутника V» людей (рис. 2Б), особенно на ранних сроках после начала болезни или введения первой дозы вакцины (рис. 2А, Б).

У вакцинированных уровень IgG снижался постепенно (рис. 2В). Максимальное значение (медиана 195,3; 95% ДИ: 45,5–403,2 ВАУ/мл) отмечено на 37–55-й день после введения первой дозы вакцины. К 3–4 месяцу уровень антител снизился в два раза (медиана 108,7; 95% ДИ: 75,1–147,2 ВАУ/мл), а к 7–9 месяцу — в четыре раза (медиана 48,7; 95% ДИ: 29,8–145,7 ВАУ/мл). У реконвалесцентов отмечен схожий характер снижения IgG (рис. 2В). Исключение составил уровень антител к третьему–четвертому месяцу от начала заболевания. Его значение (медиана 249,8; 95% ДИ: 94,9–427,5 ВАУ/мл) было статистически значимо выше ($p = 0,029$) по сравнению с вакцинированными на аналогичном сроке после введения первой дозы вакцины. Через 5–9 месяцев содержание антител стабилизировалось на уровне менее 100 ВАУ/мл (рис. 2В) примерно у 60% обследованных.

В целом, измеренные уровни антител у реконвалесцентов группы Б (медиана 97,1; 95% ДИ: 80–162 ВАУ/мл) и вакцинированных группы В (медиана 103,1; 95% ДИ: 78–139 ВАУ/мл) были сопоставимы и статистически значимо выше ($p < 0,0001$), чем у условно здоровых доноров (медиана 4,3; 95% ДИ: 4,1–4,5 ВАУ/мл). Вакцинация переболевших (подгруппа Б + В) или введение бустера вакцинированным (подгруппа В + РВ) приводили к статистически значимому ($p < 0,0001$) повышению напряженности иммунного ответа: до значений медианы 1023 ВАУ/мл (95% ДИ: 657–1191) и 413 ВАУ/мл (95% ДИ: 213–545 ВАУ/мл) соответственно (рис. 3).

За весь период наблюдений выявлено три «новых» случая заболевания COVID-19 (рис. 1, табл. 3), подтвержденных положительным результатом ПЦР. Заболели три женщины в возрасте 40–43 года. Из них двое ранее не болели COVID-19, одна переболела примерно за 16 месяцев до нового заболевания. Все заболели после полного цикла вакцинации «Спутником V» примерно через шесть месяцев после введения первой дозы вакцины; у всех отмечено легкое течение заболевания.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Определено достоверное влияние возраста на уровень IgG (табл. 2). У реконвалесцентов старшего возраста (60+) уровень антител был статистически значимо выше, чем у людей моложе 60 лет. Наоборот, у людей не болевших,

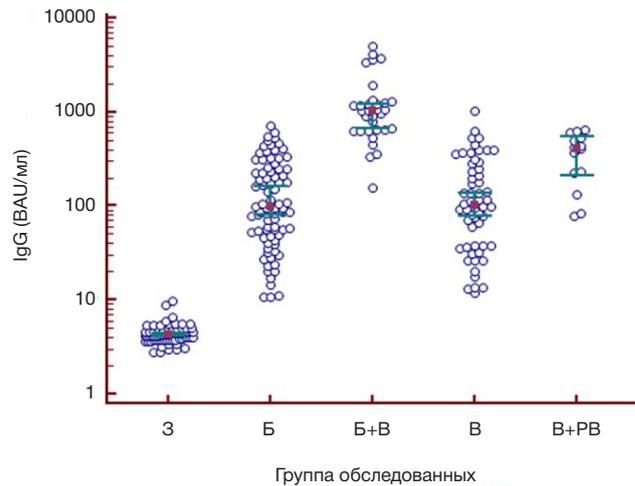


Рис. 3. Распределение уровней IgG к SARS-CoV-2 в сыворотке крови участников обследования групп 3 ($n = 70$), Б ($n = 84$), Б + В ($n = 32$), В ($n = 58$) и В + РВ ($n = 14$). Представлены значения медианы (красная точка) с указанием 95%-го ДИ

но прошедших полный цикл вакцинации, отмечена отрицательная корреляция с возрастом. Аналогичные закономерности выявлены и в других работах [6, 7].

Статистически значимое влияние пола на уровень антител при COVID-19 выявить не удалось вследствие ограниченного объема выборки. Вместе с тем, очевидно, что гормональный фон, обусловленный биологическими различиями между мужчинами и женщинами, может влиять на характер иммунного ответа. По нашим данным, уровень антител у мужчин был почти в два раза ниже, чем у женщин (табл. 2), при этом мужчины в два раза чаще, чем женщины, болели COVID-19 в среднетяжелой и тяжелой форме.

Эти наблюдения согласуются с результатами исследований репрезентативных выборок пациентов [6, 14, 15]. По некоторым данным, у мужчин отмечен сниженный уровень CD4⁺-Т-клеток и CD19⁺-В-клеток, играющих ключевую роль в формировании гуморального и клеточного иммунитета в защите от COVID-19 [6]. Это может обусловить замедленное формирование протективных антител к рецепторсвязывающему домену белка S1 коронавируса. У женщин уровень IgG резко возрастал и достигал пика на четвертой неделе после появления клинических симптомов, тогда как у мужчин уровень антител повышался постепенно с пиком на седьмой неделе [6, 14]. Факт замедленного формирования антител в сочетании с комплексом других клинических и биохимических данных позволил рассматривать мужской пол пациента как фактор риска более тяжелого течения COVID-19 и смерти [6, 9].

Нам не удалось проследить влияние тяжести заболевания на уровень и динамику протективного иммунитета, хотя сведения о наличии такой связи имеются [7]. К сожалению, мы располагали только «поздними» образцами, собранными, в основном, не ранее 7–12 месяцев от начала заболевания в связи с отказом сотрудников, перенесших COVID-19 в среднетяжелой и тяжелой форме, предоставить образцы вскоре после выздоровления.

Анализ «семейных» случаев заболевания у трех сотрудников Института не выявил каких-то закономерностей в характере течения COVID-19 у совместно проживающих с ними родственников (всего шесть человек), заболевших с интервалом в 2–3 дня. Двое

Таблица 3. Характеристика «новых» случаев заболевания COVID-19 у ранее переболевших и вакцинированных сотрудников

ФИО (группа)	Пол	Возраст	Дата предшествующего заболевания COVID-19	Дата вакцинации и вид (доза) вакцины	Уровень IgG, BAU/мл	Дата нового заболевания COVID-19
РАА (В)	Ж	43	нет	«Спутник V»: 02.05.2021 (1) 23.05.2021 (2)	360,5*	15.10.2021
ЖОА (Б + В)	Ж	40	15.10.2020	«Спутник V»: 18.07.2021 (1) 08.08.2021 (2)	617,2**	31.01.2022
ЗЮН (В)	Ж	43	нет	«Спутник V»: 23.07.2021 (1) 07.08.2021 (2)	37,2***	26.01.2022

Примечания: * — уровень IgG на 42-й день от введения первой дозы вакцины; ** — уровень IgG на 90-й день от введения первой дозы вакцины; *** — уровень IgG на момент начала заболевания.

сотрудников (женщина 63 лет и мужчина 58 лет) перенесли заболевание в легкой форме; из числа их родственников (три человека в возрасте 26–78 лет и два человека 16 и 42 лет, соответственно) только один (78 лет) был госпитализирован в состоянии средней тяжести. Третья сотрудница (62 лет) болела в критически тяжелой форме, однако ее муж (65 лет) перенес заболевание легко.

Напряженность гуморального иммунитета зависела от срока после начала заболевания или введения первой дозы вакцины. Уровень IgG у вакцинированных быстро снижался уже к 3–4 месяцу наблюдений (рис. 2Б), что согласуется с данными литературы [8]. Уровень антител у реконвалесцентов на 3–4 месяце наблюдений был статистически значимо выше ($p = 0,029$), чем у вакцинированных (рис. 2Б). Это обусловлено вкладом сывороток с высоким уровнем антител от пациентов старшего возраста обоих полов, прежде всего мужчин, уровень антител у которых достиг максимальных значений на данном сроке (данные не представлены). Полученные результаты подтверждают вывод о положительной корреляции между возрастом и уровнем IgG у переболевших COVID-19 (табл. 2) и, по-видимому, косвенно свидетельствуют о замедленном формировании протективного иммунитета у мужчин, что было отмечено ранее [6].

В целом, к 5–9 месяцу содержание антител снижалось, стабилизируясь на уровне менее 100 BAU/мл (рис. 2Б) примерно у 60% обследованных, что отмечено и другими [10]. Вместе с тем, выявлены значительные индивидуальные различия в динамике гуморального иммунного ответа между участниками обследования, от которых удалось получить не менее двух порций сывороток. Если у каждого из вакцинированных уровень IgG постепенно снижался, как было отмечено ранее для интегрального показателя по данной группе (рис. 2Б, 2В), то у некоторых пациентов, перенесших COVID-19, уровень протективного иммунитета оставался неизменным до конца периода наблюдений (данные не представлены).

За весь период наблюдений выявлено лишь три «новых» случая заболевания после полного цикла вакцинации «Спутником V» (рис. 1, табл. 3). Люди заболели в легкой форме в октябре 2021 г. и в январе 2022 г., то есть в период доминирования в Москве высококонтагиозных вариантов «Дельта» и «Омикрон» коронавируса с ежедневным приростом заболевших до 9000 и 26 000 человек соответственно [16, 17]. Вместе с общим числом (табл. 1) вакцинированных неболевших (43 человека) и вакцинированных переболевших людей (24) частота заболевания COVID-19 среди вакцинированных составила 4,5%. Эти данные согласуются с известными сведениями

о том, что вакцина «Спутник V» не обеспечивает 100% защиты [18, 19], однако способствует более легкому течению COVID-19 у вакцинированных [20].

Следует отметить, что у одной из трех заболевших после вакцинации пациенток уровень IgG на момент начала заболевания был низким (37,2 BAU/мл). У двух других содержание антител составило 360,5 и 617,2 BAU/мл на 42-й или 90-й день от введения первой дозы вакцины, соответственно (табл. 3), т. е. за 3–4,5 месяца до начала заболевания; этот уровень, однако, мог снизиться в два раза и более к моменту нового заражения, если учитывать динамику IgG у вакцинированных (рис. 2Б). Хотя до настоящего времени неясно, какой уровень антител может обеспечить достаточную защиту при встрече пациента с тем же, и, особенно, с новым вариантом коронавируса SARS-CoV-2 [4], наличие антител, безусловно, не единственный фактор защиты от COVID-19 [9]. Отсутствие новых случаев заболеваний у 95,5% обследованных, среди которых значительная часть была с уровнем циркулирующих антител ниже 100 BAU/мл (рис. 2Б), позволяет согласиться с мнением о том, что длительный протективный иммунитет в значительной степени обеспечивается за счет комплексного взаимодействия факторов гуморального и клеточного иммунитета [5].

Важная особенность работы состоит в использовании иммуночипа, позволяющего оценить уровень антител к рецепторсвязывающим доменам одновременно двух вариантов SARS-CoV-2 («уханьского» и «Дельта»). Результаты приведены для первого варианта, поскольку экспериментальные совпадали ($r = 0,978057$). Это позволяет предположить, что иммунный ответ у переболевших COVID-19 и вакцинированных «Спутником V» обеспечивает эффективную защиту от обоих вариантов, что было отмечено ранее [21]. Вместе с тем, такое совпадение установлено только для сывороток пациентов, заболевших с апреля 2020 г. по январь 2021 г., т. е. в первые две волны подъема заболеваемости среди сотрудников (рис. 1), когда заболевания COVID-19 были в значительной мере обусловлены «уханьским» (референсным) и местными российскими вариантами вируса [22, 23]. У заболевших с июля по октябрь 2021 г. (третья волна заболеваемости на рис. 1) отмечен не менее чем в два раза более высокий уровень антител к варианту Дельта, который в тот период доминировал в популяции [17, 23].

Повышение мультиплексности анализа и, как следствие, его информативности — это общемировая тенденция, связанная с возможностью объединения нескольких тестов в едином формате за счет миниатюризации и создания микроэррев высокой плотности. Сложные мультиплексные

технологии на основе методов хемилюминесценции и проточной цитофлуориметрии (например, тесты компаний Мерк, Люминекс и др.) обеспечивают возможность одновременного выявления до 100 различных маркеров и наиболее хорошо подходят для оценки комплексного ответа иммунной системы при изучении различных аспектов COVID-19 [24, 25]. Вместе с тем, такие тесты дорогостоящие, требуют сложного оборудования и высокой квалификации оператора.

На наш взгляд, для целей мониторинга преимущества имеют более простые и экономичные тесты, такие как ФОСФАН. Действительно, совокупность полученных данных (высокая степень корреляции с коммерческим тестом, выявление особенностей связывания специфических антител с рецепторсвязывающими доменами двух вариантов нового коронавируса) с учетом принципиальной возможности построения мультиплексных тестов различного дизайна в зависимости от задач исследования (например, использование в составе иммуночипа более широкого спектра диагностически значимых антигенов, внутренних положительных и отрицательных контролей) подтверждает предположение о том, что технологическая платформа ФОСФАН может иметь хорошие перспективы для целей мониторинга уровня циркулирующих антител у перенесших COVID-19 и вакцинированных людей. Возможно, разработанный иммуночип позволит не только выявлять специфические антитела, но и дифференцировать варианты вируса на основе статистически значимых различий в титрах антител, по крайней мере, у ранее не болевших

COVID-19 и не вакцинированных пациентов. Подробный разбор этой ситуации выходит за рамки настоящего исследования и будет представлен позже.

ВЫВОДЫ

1. Показатели напряженности и продолжительности иммунного ответа у переболевших COVID-19 и вакцинированных людей сильно варьируют в зависимости от возраста, срока наблюдения, дополнительной вакцинации / ревакцинации.
2. Уровень IgG был статистически значимо выше: у людей старшего возраста (60+), переболевших COVID-19, по сравнению с людьми моложе 60 лет; у переболевших COVID-19 и вакцинированных «Спутником V» по сравнению с неболевшими и невакцинированными людьми; у переболевших после последующей вакцинации и у вакцинированных после введения бустера.
3. Уровень IgG был статистически значимо ниже у вакцинированных старшего возраста (60+) по сравнению с людьми моложе 60 лет.
4. Уровень IgG у вакцинированных снижался быстрее (через 3–4 месяца), чем у переболевших COVID-19, а через 5–9 месяцев стабилизировался на уровне менее 100 ВАУ/мл примерно у 60% обследованных.
5. Частота заболевания COVID-19 среди вакцинированных составила 4,5% (трое заболевших из 67 вакцинированных человек).
6. Мультиплексный анализ с использованием иммуночипа — перспективный подход к количественному определению уровня антител одновременно к двум и, возможно, более вариантам нового коронавируса SARS-CoV-2.

Литература

1. Попова А. Ю., Ежлова Е. Б., Мельникова А. А., Андреева Е. Е., Комбарова С. Ю., Лялина Л. В. и др. Коллективный иммунитет к SARS-CoV-2 жителей Москвы в эпидемический период COVID-19. *Инфекционные болезни*. 2020; 18(4): 8–16. DOI: 10.20953/1729-9225-2020-4-8-16.
2. Ahmed ZB, Razu MH, Akter F, Rabby RI, Karmaker P, Kha M. Seropositivity of SARS-CoV-2 IgG Antibody among People in Dhaka City during the Prevacination Period. *Hindawi BioMed Research International*. 2022; 2022: 6. Available from: <https://doi.org/10.1155/2022/4451144>.
3. Santiago L, Uranga-Murillo I, Arias M, González-Ramírez AM, Macías-León J, Moreo E, et al. Determination of the Concentration of IgG against the Spike Receptor-Binding Domain That Predicts the Viral Neutralizing Activity of Convalescent Plasma and Serum against SARS-CoV-2. *Biology*. 2021; 10: 208. Available from: <https://doi.org/10.3390/biology10030208>.
4. Кармишин А. М., Носов Н. Ю., Поступайло В. Б., Жигарловский Б. А., Круглов А. А., Петухов А. Н. Метод количественной оценки напряженности и длительности иммунитета к SARS-CoV-2 и динамики изменения титров антител. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2021; 2 (23): 5–12. DOI: 10.47183/mes.2021.019.
5. Dan JM, Mateus J, Kato Yu, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 2021; 371: eabf4063 (2021). DOI: 10.1126/science.abf4063.
6. Huang B, Cai Yu, Li N, Li K, Wang Z, Li L, et al. Sex-based clinical and immunological differences in COVID-19. *BMC Infectious Diseases*. 2021; 21: 647. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06313-2>.
7. Schlickeiser S, Schwarz T, Steiner S, Wittke K, Al Beshar N, Meyer O, et al. Disease severity, fever, age, and sex correlate with SARS-CoV-2 neutralizing antibody responses. *Front Immunol*. 2021; 11: 628971. DOI: 10.3389/fimmu.2020.628971.
8. Naaber P, Tserel L, Kangro K, Sepp E, Jürjenson V, Adamson A, et al. Dynamics of antibody response to BNT162b2 vaccine after six months: a longitudinal prospective study. *The Lancet Regional Health — Europe*. 2021; 10: 1–10. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2021.100208>.
9. Markewitz R, Torge A, Wandinger K-P, Pauli D, Franke A, Bujanda L, et al. Clinical correlates of anti SARS CoV 2 antibody profiles in Spanish COVID 19 patients from a high incidence region. *Scientific Reports*. 2021; 11: 4363. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83969-5>.
10. Li C, Yu D, Wu X, Liang H, Zhou Z, Xie Y, et al. Twelve-month specific IgG response to SARS-CoV-2 receptor-binding domain among COVID-19 convalescent plasma donors in Wuhan. *Nature Communications*. 2021; 12: 4846. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25109-1> | www.nature.com/naturecommunications.
11. Pomelova VG, Korenberg EI, Kuznetsova TI, Bychenkova TA, Bekman NI, Osin NS. C6 Peptide-Based Multiplex Phosphorescence Analysis (PHOSPHAN) for Serologic Confirmation of Lyme Borreliosis. *PLoS ONE*. 2015; 10 (7): e0130048. DOI: 10.1371/journal.pone.0130048.
12. Бекман Н. И., Помелова В. Г., Осин Н. С. Мультиплексный анализ наркотических средств на основе технологии иммуночипов ФОСФАН. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63 (3): 178–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-3-178-183>.
13. Бекман Н. И., Ларичева С. Ю., Быченкова Т. А., Помелова В. Г., Осин Н. С. Одновременное определение тиреотропного гормона и свободного тироксина в сухих пятнах крови человека с использованием фосфоресцентных наночастиц. *Биоорганическая химия*. 2020; 46 (2): 170–9. DOI: 10.31857/s0132341320020074.

14. Markmann AJ, Giallourou N, Bhowmik DR, Hou YJ, Lerner A, Martinez DR. et al. Sex disparities and neutralizing-antibody durability to SARS-CoV-2 infection in convalescent individuals. *mSphere*. 2021; 6: e00275-21. Available from: <https://doi.org/10.1128/mSphere.00275-21>.
15. Zeng F, Dai C, Cai P, Wang J, Xu L, Li J, et al. A comparison study of SARS-CoV-2 IgG antibody between male and female COVID-19 patients: A possible reason underlying different outcome between sex. *J Med Virol*. 2020; 1–5. DOI: 10.1002/jmv.25989.
16. Статистика коронавируса в Москве. Доступно по ссылке: <http://russian-trade.com/coronavirus-russia/Moskva>.
17. Кнорре Д. Д., Набиева Е., Гарушанц С. К. Российский консорциум по секвенированию геномов коронавирусов (CORGI). Доступно по ссылке: <http://taxameter.ru>.
18. Logunov DY, Dolzhikova IV, Zubkova OV, Tuchvatullin AI, Shcheblyakov DV, Dzharullaeva AS, et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase — studies from Russia. *The Lancet*. 2020; 396 (10255): 887–97. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31866-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31866-3).
19. Logunov DY, Dolzhikova IV, Shcheblyakov DV, Tuchvatullin AI, Zubkova OV, Dzharullaeva AS, et al. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *The Lancet*. 2021; 397 (10275): 671. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00234-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00234-8).
20. Колобухина Л. В., Бурасова О. А., Кружкова И. С., Бакалин В. В., Генералова Л. В., Шагаев А. В. и др. Оценка клинического течения COVID-19 у пациентов, вакцинированных «Спутник V», изменчивости RBD-домена S-белка SARS-COV-2 и вируснейтрализующих свойств сыворотки. *Вестник РГМУ*. 2021; 5: 66–75. DOI: 10.24075/vrgmu.2021.046.
21. Gushchin VA, Dolzhikova IV, Shchetinin AM, Odintsova AS, Siniavin AE, Nikiforova MA, et al. Neutralizing activity of sera from Sputnik V-vaccinated people against variants of concern (VOC: B.1.1.7, B.1.351, P.1, B.1.617.2, B.1.617.3) and Moscow endemic SARS-CoV-2 variants. *Vaccines*. 2021; 9: 779. Available from: <https://doi.org/10.3390/vaccines9070779>.
22. Гарафутдинов Р. Р., Мавзютов А. Р., Никоноров Ю. М., Чубукова О. В., Матниязов Р. Т., Баймиев Ан. Х. и др. Бетакоронавирус SARS-CoV-2, его геном, разнообразие генотипов и молекулярно-биологические меры борьбы с ним. *Биомика*. 2020; 12 (2): 242–71. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-15.
23. Борисова Н. И., Котов И. А., Колесников А. А., Каптелова В. В., Сперанская А. С., Кондрашева Л. Ю. и др. Мониторинг распространения вариантов SARS-CoV-2 (Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus; Sarbecovirus) на территории Московского региона с помощью таргетного высокопроизводительного секвенирования. *Вопросы вирусологии*. 2021; 66 (4): 269–78. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-72>.
24. Wu J, Tang L, Ma Y, Zhang D, Li Q, Mei H, Hu Y. Immunological profiling of COVID-19 patients with pulmonary sequelae. 2021; *mBio* 12: e01599-21. Available from: <https://doi.org/10.1128/mBio.01599-21>.
25. Grossberg AN, Koza LA, Ledreux A, Prusmack C, Krishnamurthy HK, Jayaraman V, et al. A multiplex chemiluminescent immunoassay for serological profiling of COVID-19-positive symptomatic and asymptomatic patients. *Nature Communications*. 2021; 12: 740. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21040-7>.

References

1. Popova AYU, Ezhlova EB, Melnikova AA, Andreeva EE, Kombarova SYU, Lyalina LV, i dr. Kollektivnyj immunitet k SARS-CoV-2 zhitel'ej Moskvy v ehpidemicheskij period COVID-19. *Infekcionnye bolezni*. 2020; 18 (4): 8–16. DOI: 10.20953/1729-9225-2020-4-8-16. Russian.
2. Ahmed ZB, Razu MH, Akter F, Rabby RI, Karmaker P, Kha M. Seropositivity of SARS-CoV-2 IgG Antibody among People in Dhaka City during the Prevaccination Period. *Hindawi BioMed Research International*. 2022; 2022: 6. Available from: <https://doi.org/10.1155/2022/4451144>.
3. Santiago L, Uranga-Murillo I, Arias M, González-Ramírez AM, Macías-León J, Moreo E, et al. Determination of the Concentration of IgG against the Spike Receptor-Binding Domain That Predicts the Viral Neutralizing Activity of Convalescent Plasma and Serum against SARS-CoV-2. *Biology*. 2021; 10: 208. Available from: <https://doi.org/10.3390/biology10030208>.
4. Karmishin AM., Nosov NYu, Postupajlo VB, Zhigarlovskij BA, Kruglov AA, Petuxov AN. Method for quantitative assessment of protective immunity against SARS-COV-2, its duration and antibody dynamics. *Extreme Medicine*. 2021; 2 (23): 5–12. DOI: 10.47183/mes.2021.019. Russian.
5. Dan JM, Mateus J, Kato Yu, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 2021; 371: eabf4063 (2021). DOI: 10.1126/science.abf4063.
6. Huang B, Cai Yu, Li N, Li K, Wang Z, Li L, et al. Sex-based clinical and immunological differences in COVID-19. *BMC Infectious Diseases*. 2021; 21: 647. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06313-2>.
7. Schlickeiser S, Schwarz T, Steiner S, Wittke K, Al Beshar N, Meyer O, et al. Disease severity, fever, age, and sex correlate with SARS-CoV-2 neutralizing antibody responses. *Front Immunol*. 2021; 11: 628971. DOI: 10.3389/fimmu.2020.628971.
8. Naaber P, Tserel L, Kangro K, Sepp E, Jürjenson V, Adamson A, et al. Dynamics of antibody response to BNT162b2 vaccine after six months: a longitudinal prospective study. *The Lancet Regional Health — Europe*. 2021; 10: 1–10. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2021.100208>.
9. Markewitz R, Torge A, Wandinger K-P, Pauli D, Franke A, Bujanda L, et al. Clinical correlates of anti SARS CoV 2 antibody profiles in Spanish COVID 19 patients from a high incidence region. *Scientific Reports*. 2021; 11: 4363. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83969-5>.
10. Li C, Yu D, Wu X, Liang H, Zhou Z, Xie Y, et al. Twelve-month specific IgG response to SARS-CoV-2 receptor-binding domain among COVID-19 convalescent plasma donors in Wuhan. *Nature Communications*. 2021; 12: 4846. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25109-1> | www.nature.com/naturecommunications.
11. Pomelova VG, Korenberg EI, Kuznetsova TI, Bychenkova TA, Bekman NI, Osin NS. C6 Peptide-Based Multiplex Phosphorescence Analysis (PHOSPHAN) for Serologic Confirmation of Lyme Borreliosis. *PLoS ONE*. 2015; 10 (7): e0130048. DOI: 10.1371/journal.pone.0130048.
12. Bekman NI, Pomelova VG, Osin NS. Mul'tipleksnyj analiz narkoticheskix sredstv na osnove tehnologii immunochipov FOSFAN. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2018; 63 (3): 178–83. Available from: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-3-178-183>. Russian.
13. Bekman NI, Laricheva SYu, Bychenkova TA, Pomelova VG, Osin NS. Odnovremennoe opredelenie tireotropnogo gormona i svobodnogo tiroksina v suxix pyatnax krovi cheloveka s ispol'zovaniem fosforescentnyx nanochastic. *Bioorganicheskaya ximiya*. 2020; 46 (2): 170–9. DOI: 10.31857/s0132341320020074. Russian.
14. Markmann AJ, Giallourou N, Bhowmik DR, Hou YJ, Lerner A, Martinez DR. et al. Sex disparities and neutralizing-antibody durability to SARS-CoV-2 infection in convalescent individuals. *mSphere*. 2021; 6: e00275-21. Available from: <https://doi.org/10.1128/mSphere.00275-21>.
15. Zeng F, Dai C, Cai P, Wang J, Xu L, Li J, et al. A comparison study of SARS-CoV-2 IgG antibody between male and female COVID-19 patients: A possible reason underlying different outcome between sex. *J Med Virol*. 2020; 1–5. DOI: 10.1002/jmv.25989.
16. Статистика коронавируса в Москве. Доступно по ссылке: <http://russian-trade.com/coronavirus-russia/Moskva>.

17. Knorre DD, Nabieva E, Garushyanc SK. Rossijskij konsorcium po sekvenirovaniyu genomov koronavirusov (CORGI). Dostupno po ssylke: <http://taxameter.ru>. Russian.
18. Logunov DY, Dolzhikova IV, Zubkova OV, Tuchvatullin AI, Shcheblyakov DV, Dzharullaeva AS, et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase — studies from Russia. *The Lancet*. 2020; 396 (10255): 887–97. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31866-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31866-3).
19. Logunov DY, Dolzhikova IV, Shcheblyakov DV, Tuchvatullin AI, Zubkova OV, Dzharullaeva AS, et al. Safety and efficacy of an RAD26 and RAD5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *The Lancet*. 2021; 397 (10275): 671. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00234-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00234-8).
20. Kolobuxina LV, Burgasova OA, Kruzhkova IS, Bakalin VV, Generalova LV, Shagaev AV, i dr. Ocenka klinicheskogo techeniya COVID-19 u pacientov, vakcinirovannyx «Sputnik V», izmenchivosti RBD-domena S-belka SARS-COV-2 i virusnejtralizuyushhix svojstv syvorotki. *Vestnik RGMU*. 2021; 5: 66–75. DOI: 10.24075/vrgmu.2021.046. Russian.
21. Gushchin VA, Dolzhikova IV, Shchetinin AM, Odintsova AS, Siniavin AE, Nikiforova MA, et al. Neutralizing activity of sera from Sputnik V-vaccinated people against variants of concern (VOC: B.1.1.7, B.1.351, P.1, B.1.617.2, B.1.617.3) and Moscow endemic SARS-CoV-2 variants. *Vaccines*. 2021; 9: 779. Available from: <https://doi.org/10.3390/vaccines9070779>.
22. Garafutdinov RR, Mavzyutov AR, Nikonorov YuM, Chubukova OV, Matniyazov RT, Bajmiev AnX, i dr. Betakoronavirus SARS-CoV-2, ego genom, raznoobrazie genotipov i molekulyarno-biologicheskie mery bor'by s nim. *Biomika*. 2020; 12 (2): 242–71. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-15. Russian.
23. Borisova NI, Kotov IA, Kolesnikov AA, Kaptelova VV, Speranskaya AS, Kondrasheva L.u, i dr. Monitoring rasprostraneniya variantov SARS-CoV-2 (Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus; Sarbecovirus) na territorii Moskovskogo regiona s pomoshh'yu targetnogo vysokoproizvoditel'nogo sekvenirovaniya. *Voprosy virusologii*. 2021; 66 (4): 269–78. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-72>. Russian.
24. Wu J, Tang L, Ma Y, Zhang D, Li Q, Mei H, Hu Y. Immunological profiling of COVID-19 patients with pulmonary sequelae. 2021; *mBio* 12: e01599-21. Available from: <https://doi.org/10.1128/mBio.01599-21>.
25. Grossberg AN, Koza LA, Ledreux A, Prusmack C, Krishnamurthy HK, Jayaraman V, et al. A multiplex chemiluminescent immunoassay for serological profiling of COVID-19-positive symptomatic and asymptomatic patients. *Nature Communications*. 2021; 12: 740. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21040-7>.

СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ Т-ХЕЛПЕРОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ХРОНИЧЕСКИ ОБЛУЧЕННЫХ ЛИЦ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ

А. И. Котикова^{1,2} ✉, Е. А. Блинова^{1,2}, А. В. Аклев^{1,2}¹ Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства, Челябинск, Россия² Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

К настоящему времени убедительно показано, что воздействие ионизирующего излучения (ИИ) вызывает долгосрочное изменение Т-клеточного иммунитета. Однако количественных исследований влияния хронического радиационного воздействия на различные субпопуляции Т-хелперов в доступной литературе найдено не было. Поэтому целью работы было исследовать количественные характеристики различных субпопуляций Т-хелперов в периферической крови лиц, подвергшихся хроническому низкоинтенсивному радиационному воздействию, в отдаленные сроки после начала облучения. В исследовании приняло участие 102 хронически облученных жителя прибрежных сел реки Течи (Россия) в возрасте 60–87 лет, которые были подразделены на облученных лиц (средняя накопленная доза облучения красного костного мозга составила 567 ± 73 мГр) и группу сравнения (доза облучения не превышала 70 мГр). Методом проточной цитометрии определяли количественные характеристики субпопуляций Т-хелперов в периферической крови на разной стадии их дифференцировки, а также различные субпопуляции Т-хелперов центральной и эффекторной памяти. В ходе исследования не выявлено статистически значимых различий в субпопуляционном составе Т-хелперов в сравниваемых группах. Отмечено статистически значимое повышение содержания субпопуляции «double positive» фолликулярных Т-хелперов 17 в популяции Т-хелперов центральной памяти с увеличением дозы облучения ККМ ($p = 0,04$; $S = 0,19$), а также тимуса и периферических лимфоидных органов ($p = 0,03$; $S = 0,22$). В группе облученных лиц зарегистрировано снижение количества наивных Т-хелперов ($p = 0,009$) и «double positive» фолликулярных Т-хелперов 17 в составе субпопуляции T_{EM} ($p = 0,04$) и увеличение количества Т-хелперов эффекторной памяти ($p = 0,04$) с увеличением возраста, чего не наблюдалось в группе сравнения.

Ключевые слова: Т-хелперы, фолликулярные Т-хелперы, иммунитет, хроническое облучение**Финансирование:** работа выполнена в рамках государственного задания «Состояние клеточного иммунитета человека в период реализации отдаленных эффектов хронического радиационного воздействия» (код 27.002.20.800).**Вклад авторов:** А. И. Котикова — разработка методики, лабораторные исследования, статистическая обработка, написание статьи; Е. А. Блинова — разработка методики, написание статьи; А. В. Аклев — концепция исследования, научное руководство, написание статьи.**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом УНПЦ РМ (протокол № 1 от 14 апреля 2022 г.). Все участники подписывали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.✉ **Для корреспонденции:** Алиса Игоревна Котикова
ул. Воровского, д. 68, корп. А, г. Челябинск, 454141, Россия; kotikovaalisa@gmail.com**Статья получена:** 15.04.2022 **Статья принята к печати:** 12.05.2022 **Опубликована онлайн:** 04.06.2022**DOI:** 10.47183/mes.2022.018

SUBPOPULATION COMPOSITION OF T-HELPERS IN THE PERIPHERAL BLOOD OF PERSONS CHRONICALLY EXPOSED TO RADIATION IN THE LONG TERM

Kotikova AI^{1,2} ✉, Blinova EA^{1,2}, Akleyev AV^{1,2}¹ Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia² Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

Earlier, it has been convincingly established that exposure to ionizing radiation (IR) alters the T cell-mediated immunity in the long term. However, a search for papers describing the effect chronic exposure to radiation has on various subpopulations of T-helpers yielded no results. Therefore, we designed this study seeking to investigate the quantitative characteristics of various subpopulations of T-helpers in the peripheral blood of individuals chronically exposed to low-level radiation for a long period of time. The study involved 102 chronically exposed Techa Riverside residents (Russia) aged 60–87 years. The participants were divided into two groups, one comprised of exposed individuals with the average red bone marrow (RBM) irradiation dose of 567 ± 73 mGy, another, the control group, comprised of people with the irradiation dose below 70 mGy. With the help of flow cytometry, we identified the quantitative characteristics of T-helper subpopulations in the peripheral blood at various stages of their differentiation, as well as various T-helper subpopulations of central and effector memory. The study revealed no significant differences in the composition of T-helper subpopulations in the compared groups. We discovered a significant growth of the double positive follicular T-helper 17 subpopulation in the population of central memory T-helpers, which is associated with the increase of RBM ($p = 0.04$; $S = 0.19$), thymus and peripheral lymphoid organs ($p = 0.03$; $S = 0.22$) irradiation dose. In the group of exposed individuals, the number of naive T-helpers ($p = 0.009$) and double positive follicular T-helpers 17 in the T_{EM} subpopulation ($p = 0.04$) was decreasing as the age of participants increased, and the number of effector memory T-helpers, on the contrary, increased with age ($p = 0.04$). We have not registered similar phenomena in the comparison group.

Keywords: T-helpers, follicular T-helpers, immunity, chronic exposure**Funding:** the work was carried out as part of the "State of human cellular immunity against manifestation of the long-term effects of chronic exposure to radiation" State Task (code 27.002.20.800).**Author contribution:** Kotikova AI — methodology development, laboratory research, statistical processing, article authoring; Blinova EA — methodology development, article authoring; Akleyev AV — development of the research concept, scientific supervision, article authoring.**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of the Urals Research Center for Radiation Medicine (Minutes #1 of April 14, 2022). All participants signed a voluntary informed consent to participate in the study.✉ **Correspondence should be addressed:** Alisa I. Kotikova
Vorovskogo, 68, str. A, Chelyabinsk, 454141, Russia; kotikovaalisa@gmail.com**Received:** 15.04.2022 **Accepted:** 12.05.2022 **Published online:** 04.06.2022**DOI:** 10.47183/mes.2022.018

К настоящему времени убедительно показано, что воздействие ионизирующего излучения (ИИ) вызывает долгосрочное изменение Т-клеточного иммунитета. В ряде исследований отмечен повышенный уровень мутаций в генах Т-клеточного рецептора (TCR-мутаций) у облученных лиц, включая жителей прибрежных сел реки Течи. Углубленный анализ иммунного статуса у облученных людей позволил установить особую роль цитотоксических CD3⁺CD16⁺CD56⁺-лимфоцитов в элиминации TCR-мутантных клеток [1].

В контексте влияния ИИ на популяции Т-клеток существует ряд данных об изменениях показателей Т-хелперов в периферической крови. Так, спустя 20 лет после облучения у переживших атомную бомбардировку Хиросимы и Нагасаки было показано снижение количества наивных Т-хелперов с фенотипом CD4⁺CD45RA⁺ у лиц, облученных в дозе свыше 1 Гр [2]. Схожие данные были получены для лиц, пострадавших при аварии на ЧАЭС: сниженное содержание Т-хелперов в периферической крови наблюдали у лиц, получивших высокие дозы облучения [3]. Исследование работников производственного объединения «Маяк» показало линейное дозозависимое снижение количества Т-хелперов периферической крови [4]. При исследовании влияния низкодозового профессионального облучения на работников болгарской АЭС «Козлодуй» было сделано предположение о возможном смещении иммунного ответа от Th₁ в сторону Th₂ [5]. При этом количественных исследований влияния хронического радиационного воздействия на различные субпопуляции Т-хелперов, в том числе Т-хелперов 17-го типа, Т-хелперов 22-го типа, Т-хелперов 9-го типа и т. д. в доступной литературе найдено не было.

Целью данной работы было исследовать количественные характеристики различных субпопуляций Т-хелперов в периферической крови лиц, подвергшихся хроническому низкоинтенсивному радиационному воздействию, в отдаленные сроки после начала облучения.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование субпопуляций Т-хелперов проводили у 102 человек, условия и характер радиационного облучения которых были подробно описаны ранее [6]. Облучение жителей прибрежных сел реки Течи было обусловлено как внешним гамма-излучением, так и внутренним облучением (преимущественно за счет ⁹⁰Sr и ¹³⁷Cs) вследствие

сбросов жидких радиоактивных отходов ПО «Маяк» в реку Течу. Наибольшие дозы пришлось на красный костный мозг (ККМ) и были сформированы за счет ⁹⁰Sr в 1950–1960 гг. Люди, подвергшиеся хроническому радиационному воздействию, были разделены на две группы: группу облученных лиц (*n* = 54) и группу сравнения (*n* = 48). Важно отметить, что в настоящее время среди жителей прибрежных сел реки Течи зарегистрирован повышенный уровень заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований, включая лейкозы, для лиц с накопленной дозой облучения свыше 100 мГр на желудок и ККМ соответственно [6].

Критерии включения облученных лиц в исследование: постоянное проживание в одном из 41 сел, расположенных на побережье реки Течи, в период с 01.01.1950 по 31.12.1960; наличие рассчитанных индивидуальных накопленных доз облучения красного костного мозга (ККМ), тимуса и периферических лимфоидных органов на основе дозиметрической системы TRDST 2016 [7]; отсутствие аутоиммунных, онкологических, острых или хронических (период обострения) воспалительных заболеваний, гемобластозов, почечной или печеночной недостаточности, острого нарушения мозгового кровообращения в течение последних трех месяцев; отсутствие приема антибиотиков, глюкокортикоидов и цитостатиков в течение последних шести месяцев; отсутствие рентгенологического обследования в течение последних шести месяцев.

В группу сравнения были включены люди, проживающие в схожих социально-экономических условиях, с дозой облучения ККМ менее 70 мГр, накопленной за весь период своей жизни [8] (табл. 1).

Для исследования у пациентов натошак отбирали кров в вакуумную пробирку с наполнителем К3-EDTA (Greiner Bio-One; Австрия) в объеме 9 мл. Методом проточной цитометрии оценивали относительное количество субпопуляций Т-хелперов по уровню экспрессии CD45RA (маркер «наивных» Т-хелперов), CD62L (маркер направленной миграции клеток в периферические лимфоидные органы), а также CCR4, CCR6, CXCR3 и CXCR5. В одну пробирку для проточного цитометра (Beckman Coulter; США) добавляли 100 мкл исследуемого образца, по 5 мкл моноклональных антител CD3 и CD4 (Beckman Coulter, США; конъюгированы с Krome Orange и Pacific Blue соответственно), по 20 мкл моноклональных антител CD45RA и CD62L (Beckman Coulter, США; конъюгированы с PE и FITC соответственно), по 5 мкл

Таблица 1. Характеристика исследуемых групп

Характеристика группы		Облученные лица	Группа сравнения
		<i>n</i> = 54	<i>n</i> = 48
Возраст на момент обследования, лет, M ± SE (min–max)		73,26 ± 0,58 (67–84)	68,73 ± 0,96 (60–87)
Пол, человек (%)	мужчины	22 (40,7)	17 (35,4)
	женщины	32 (59,3)	31 (64,6)
Этническая принадлежность, человек (%)	славяне	17 (31,5)	21 (43,8)
	тюрки	35 (64,8)	26 (54,2)
	не определено	2 (3,7)	1 (2)
Накопленная доза облучения ККМ, мГр, M ± SE (min–max)		567 ± 73 (80,20–2930)	17,20 ± 2,25 (1,89–55)
Накопленная доза облучения тимуса и периферических лимфоидных органов, мГр, M ± SE (min–max)		79,80 ± 10,70 (4,63–355)	7,35 ± 1,29 (0,21–39,5)

Примечания: *n* — число исследуемых; M ± SE — среднее ± ошибка среднего.

Таблица 2. Характеристика фенотипов исследуемых субпопуляций Т-хелперов в периферической крови облученных лиц

Фенотип клеток	Название популяции
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁻ CCR6 ⁻ CCR4 ⁺	Т-хелперы 2 (Th ₂)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁻ CCR6 ⁺ CCR4 ⁻	Т-хелперы 17 (Th ₁₇)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁻ CCR6 ⁺ CCR4 ⁺	Т-хелперы 17 и Т-хелперы 22 (Th ₁₇ и Th ₂₂)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁻ CCR4 ⁻	Т-хелперы 1 и Т-хелперы 9 (Th ₁ и Th ₉)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁻ CCR4 ⁻	«Неклассические» Th ₁₇ (Th ₁₇ /Th ₁₇)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁻ CCR6 ⁻ CCR4 ⁻	Фолликулярные Т-хелперы 2 (Tfh ₂)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁻ CCR6 ⁻ CCR4 ⁺	Фолликулярные Т-хелперы 2 (Tfh ₂)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁻ CCR6 ⁻ CCR4 ⁻	Фолликулярные Т-хелперы 17 «double negative» («double negative» Tfh ₁₇)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁻ CCR6 ⁺ CCR4 ⁺	Фолликулярные Т-хелперы 17 (Tfh ₁₇)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁻ CCR4 ⁻	Фолликулярные Т-хелперы 1 (Tfh ₁)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁺ CCR6 ⁻ CCR4 ⁺	Фолликулярные Т-хелперы 17 «double positive» («double positive» Tfh ₁₇)

моноклональных антител CCR4, CCR6, CXCR3 и CXCR5 (Beckman Coulter, США; конъюгированы с APC, Per-CP-eFluor™710, PE-Cy5.7 и PE-eFluor®610 соответственно). Инкубацию образца проводили 20 мин в темном месте при комнатной температуре. Затем к образцу добавляли 1 мл лизирующего буфера VersaLyse (Beckman Coulter; США) для удаления эритроцитов, повторную инкубацию проводили 10 мин в тех же условиях. После инкубации образец анализировали на проточном цитометре Navios (Beckman Coulter; США).

Для анализа субпопуляций Т-хелперов применяли следующую тактику гейтирования: Т-хелперы выявляли по наличию на поверхности клеток CD3⁺ и CD4⁺-маркеров. Далее популяцию CD3⁺CD4⁺-клеток разделяли на субпопуляции Т-хелперов на разной стадии дифференцировки по наличию поверхностных маркеров CD45RA и CD62L, а именно наивных Т-хелперов с фенотипом CD3⁺CD4⁺CD45RA⁺CD62L⁺ (T_{Naive}), Т-хелперов центральной памяти с фенотипом CD3⁺CD4⁺CD45RA⁻CD62L⁺ (T_{CM}), Т-хелперов эффекторной памяти с фенотипом CD3⁺CD4⁺CD45RA⁻CD62L⁻ (T_{EM}) и терминально дифференцированных Т-хелперов с фенотипом CD3⁺CD4⁺CD45RA⁺CD62L⁻ (TEMRA). В популяциях T_{CM} и T_{EM} определяли субпопуляции различных Т-хелперов по наличию маркеров CCR4, CCR6, CXCR3 и CXCR5 [9–11] (табл. 2).

Статистическую обработку данных проводили в программе SigmaPlot (SYSTAT Software; США). Проверку нормальности распределения показателей — с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Массивы непараметрических данных сравнивали при помощи

U-критерия Манна–Уитни. В первую очередь выше указанные параметры оценивали для Т-хелперов, находящихся на разных уровнях дифференцировки, затем статистическую обработку проводили для субпопуляций Т-хелперов центральной и эффекторной памяти.

Наличие зависимостей оценивали путем расчета коэффициентов ранговой корреляции по Спирмену и линейной корреляции по Пирсону, а также линейной регрессии. При оценке достоверности результатов был принят 5% уровень значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На сегодняшний день на основе экспрессии CD-маркеров выделяют Т-хелперы, находящиеся на разной стадии дифференцировки. В литературе хорошо описана способность T_{Naive}, не прошедших антигензависимую дифференцировку во вторичных лимфоидных органах, давать начало Т-клеткам памяти и эффекторным клеткам. T_{CM} несут на себе адгезионную молекулу CD62L, которая определяет их способность преимущественно локализоваться во вторичных лимфоидных органах. T_{EM} не способны проникать в периферические лимфоидные органы, однако несут на своей поверхности большой спектр различных адгезионных и хемокиновых молекул, способствующих их миграции в ткани и органы. Способность T_{EM} к пролиферации и дифференцировке снижена, а входящие в эту популяцию клетки являются основными продуцентами эффекторных цитокинов, таких как IFN γ и ИЛ-4. Эффекторные клетки TEMRA считают

Таблица 3. Количество Т-хелперов различных субпопуляций в сравниваемых группах

Показатель	Облученные лица	Группа сравнения
	Me (Q ₁ –Q ₂)	
Лимфоциты, абс.	2,17 (1,49–2,76)	2,07 (1,62–2,55)
Лимфоциты, %	32,00 (22,00–36,80)	31,10 (26,00–38,75)
CD3 ⁺ CD4 ⁺ -клетки, %	36,34 (31,83–41,54)	39,50 (33,15–45,22)
T _{Naive} , %	26,04 (14,89–39,66)	27,79 (17,46–36,77)
T _{CM} , %	36,83 (30,23–42,65)	36,74 (31,87–43,48)
T _{EM} , %	27,85 (20,35–38,58)	30,63 (23,24–38,09)
TEMRA, %	2,37 (1,15–4,18)	1,83 (1,22–5,72)

Таблица 4. Относительное количество (%) Т-хелперов в популяции T_{CM} в исследуемых группах

Показатель, %	Облученные лица	Группа сравнения
	Me (Q ₁ -Q ₂)	
Th ₂	2,51 (0,99-5,16)	4,33 (2,54-6,63)
Th ₁₇	2,43 (0,92-3,64)	2,58 (1,38-4,19)
Th ₁₇ и Th ₂₂	0,23 (0,07-0,75)	0,40 (0,07-0,97)
Th ₁ и Th ₉	32,79 (24,65-37,70)	33,03 (25,03-37,43)
Th ₁ /Th ₁₇	1,28 (0,58-2,61)	1,41 (0,36-3,05)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁻ CCR6 ⁻ CCR4 ⁻ , Tfh ₂	8,46 (5,69-11,11)	8,03 (5,29-10,68)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁻ CCR6 ⁻ CCR4 ⁺ , Tfh ₂	0,13 (0,05-0,39)	0,13 (0,06-0,31)
«double negative» Tfh ₁₇	5,98 (3,26-9,67)	7,56 (4,29-11,32)
Tfh ₁₇	0,14 (0,04-0,34)	0,21 (0,05-0,53)
Tfh ₁	6,11 (4,07-8,92)	6,54 (4,98-8,14)
«double positive» Tfh ₁₇	0,05 (0,00-0,16)	0,04 (0,00-0,08)
Соотношение Th ₁ /Th ₂	11,70 (6,24-32,08)	7,73 (3,60-15,97)
Соотношение Th ₁ /Th ₁₇	13,43 (7,65-38,59)	11,63 (7,51-22,32)

финальной стадией дифференцировки Т-лимфоцитов, обнаруживаемой в периферической крови. Эффекторное свойство TEMRA не нуждается в стимуляции и проявляется под действием цитокинов, продуцируемых воспаленной тканью [12].

На первом этапе работы на основе экспрессии поверхностного маркера CD45RA и маркера направленной миграции клеток в периферические лимфоидные органы CD62L было исследовано относительное количество Т-хелперов, находящихся на разной стадии дифференцировки: T_{Naive}, T_{CM}, T_{EM} и TEMRA (табл. 3).

Не было выявлено статистически значимых различий количественных показателей лимфоцитов и Т-хелперов на разной стадии дифференцировки у облученных лиц, по сравнению с группой сравнения (табл. 3).

На основе экспрессии хемокиновых рецепторов CCR4, CCR6, CXCR3 и CXCR5 было оценено количество популяций Т-хелперов в субпопуляциях T_{CM} и T_{EM}. Преимущественно в составе популяций клеток T_{CM} и T_{EM} обнаруживаются такие субпопуляции, как Th1, Th2, Th17 и Th22, Th9, а также фолликулярные Т-хелперы. Все эти клетки обладают уникальными путями развития и регуляции и играют разные роли в иммунитете и иммуноопосредованных патологиях [13].

Результаты оценки представленности различных субпопуляций Т-хелперов в популяциях T_{CM} и T_{EM}, а также соотношение Th₁/Th₂ и Th₁/Th₁₇ у облученных лиц представлены в табл. 4 и 5.

Статистически значимых различий субпопуляций Т-хелперов в популяции T_{CM} между группой облученных и группой сравнения обнаружено не было.

В популяции T_{EM} также не было выявлено статистически значимых различий между показателями субпопуляций Т-хелперов в группе облученных и группе сравнения.

Для определения зависимости количества различных субпопуляций Т-хелперов на разных стадиях дифференцировки в периферической крови облученных лиц в отдаленном периоде от дозы облучения ККМ, тимуса и периферических лимфоидных органов был проведен корреляционный анализ по методу Спирмена и по методу Пирсона, анализ проводили в объединенной группе исследования.

В результате корреляционного анализа не было выявлено достоверных ассоциаций количества Т-хелперов на разной стадии дифференцировки в периферической крови облученных лиц с дозой облучения ККМ, тимуса и периферических лимфоидных органов.

При исследовании зависимости содержания различных субпопуляций Т-хелперов в популяции T_{CM} от дозы

Таблица 5. Относительное количество (%) Т-хелперов в популяции T_{EM} в исследуемых группах

Показатель, %	Облученные лица	Группа сравнения
	Me (Q ₁ -Q ₂)	
Th ₂	0,67 (0,26-1,52)	0,94 (0,34-2,30)
Th ₁₇	4,29 (2,37-6,80)	5,22 (3,17-6,82)
Th ₁₇ и Th ₂₂	0,23 (0,03-0,52)	0,17 (0,05-0,59)
Th ₁ и Th ₉	45,96 (39,49-57,57)	51,51 (36,74-56,46)
Th ₁ /Th ₁₇	2,52 (1,08-5,52)	3,34 (1,35-7,23)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁻ CCR6 ⁻ CCR4 ⁻ , Tfh ₂	2,29 (1,59-3,33)	2,22 (1,18-7,23)
CXCR5 ⁺ CXCR3 ⁻ CCR6 ⁻ CCR4 ⁺ , Tfh ₂	0,02 (0-0,09)	0 (0-0,04)
«double negative» Tfh ₁₇	2,11 (1,24-3,45)	2,75 (1,55-4,35)
Tfh ₁₇	0,02 (0-0,10)	0,04 (0-0,15)
Tfh ₁	2,48 (1,49-3,87)	2,42 (1,84-3,62)
«double positive» Tfh ₁₇	0 (0-0,03)	0 (0-0,02)
Соотношение Th ₁ /Th ₂	62,63 (26,95-224,95)	44,66 (20,59-111,95)
Соотношение Th ₁ /Th ₁₇	10,19 (6,13-21,56)	9,92 (6,15-15,25)

Таблица 6. Зависимость показателей различных субпопуляций Т-хелперов от достигнутого возраста на время исследования

Показатель, %	Облученные лица		Группа сравнения	
	S (p)	R (p)	S (p)	R (p)
T _{Naive}	-0,35 (0,009)	-0,34 (0,01)	-	-
T _{EM}	0,28 (0,04)	0,33 (0,02)	-	-
Т-хелперы центральной памяти				
«double positive» Tfh ₁₇	-	-	-	0,32 (0,03)
Т-хелперы эффекторной памяти				
«double positive» Tfh ₁₇	-0,28 (0,04)	-	0,37 (0,01)	0,39 (0,006)

Примечания: S (p) — коэффициент ранговой корреляции по Спирмену (уровень значимости корреляционной связи); R (p) — коэффициент линейной корреляции по Пирсону (уровень значимости корреляционной связи).

облучения ККМ и тимуса и периферических лимфоидных органов было зарегистрировано статистически значимое повышение содержания субпопуляции «double positive» Tfh₁₇ от дозы облучения тимуса и периферических лимфоидных органов (p = 0,02; S = 0,23). Однако линейный регрессионный анализ не показал достоверных дозовых зависимостей. Для остальных исследуемых субпопуляций Т-хелперов не было выявлено статистически значимых зависимостей от дозовых характеристик.

Аналогичное исследование было проведено для анализа зависимостей содержания различных субпопуляций Т-хелперов в популяции T_{EM} от дозы облучения ККМ, тимуса и периферических лимфоидных органов. Не было обнаружено статистически значимых зависимостей исследуемых показателей популяции T_{EM} от дозовых характеристик облучения.

Известно, что с возрастом у человека происходят инволюционные изменения иммунной системы: снижается количество некоторых субпопуляций Т-хелперов [14], изменяется направление дифференцировки [15], и нарушается их функционирование [16]. Поэтому было проведено исследование зависимости содержания различных субпопуляций Т-хелперов в периферической крови исследуемых лиц от достигнутого возраста на время исследования (табл. 6).

В результате корреляционного анализа было выявлено достоверное снижение количества T_{Naive}, ассоциированное с возрастом в группе облученных лиц (по методу Спирмена p = 0,009, S = -0,35; по методу Пирсона — p = 0,01, R = -0,34). В группе сравнения аналогичной зависимости не отмечено. В группе

облученных лиц было также обнаружено статистически значимое возрастное увеличение количества T_{EM} (по методу Спирмена p = 0,04, S = 0,28; по методу Пирсона — p = 0,02, R = 0,33), которое тоже отсутствовало в группе сравнения. Для данных зависимостей был проведен линейный регрессионный анализ (рис. 1; графики скользящей средней).

Обнаружена достоверная возрастная зависимость содержания «double positive» Tfh₁₇ в составе субпопуляции T_{EM} в периферической крови как облученных лиц, так и лиц из группы сравнения. Однако ассоциации носили разнонаправленный характер: у облученных лиц отмечено достоверное снижение количества данной популяции клеток (p = 0,04; S = -0,28) с возрастом, а в группе сравнения наоборот — увеличение (по методу Спирмена p = 0,003; S = 0,32; по методу Пирсона p = 0,05; R = 0,29). Кроме того, в группе сравнения выявлено возрастное увеличение «double positive» Tfh₁₇ в субпопуляции T_{CM} (p = 0,009; R = 0,38), при этом в группе облученных лиц данной зависимости зарегистрировано не было.

Линейный регрессионный анализ зависимости количества «double positive» Tfh₁₇ в составе субпопуляций T_{CM} и T_{EM} от возраста исследуемых лиц в группе облученных не выявил статистически значимых результатов, для группы сравнения результаты представлены в виде графика скользящей средней на рис. 2.

Анализ зависимости содержания различных субпопуляций Т-хелперов в периферической крови облученных лиц от достигнутого возраста на начало облучения показал следующие корреляции: количество T_{Naive} также снижалось с увеличением возраста

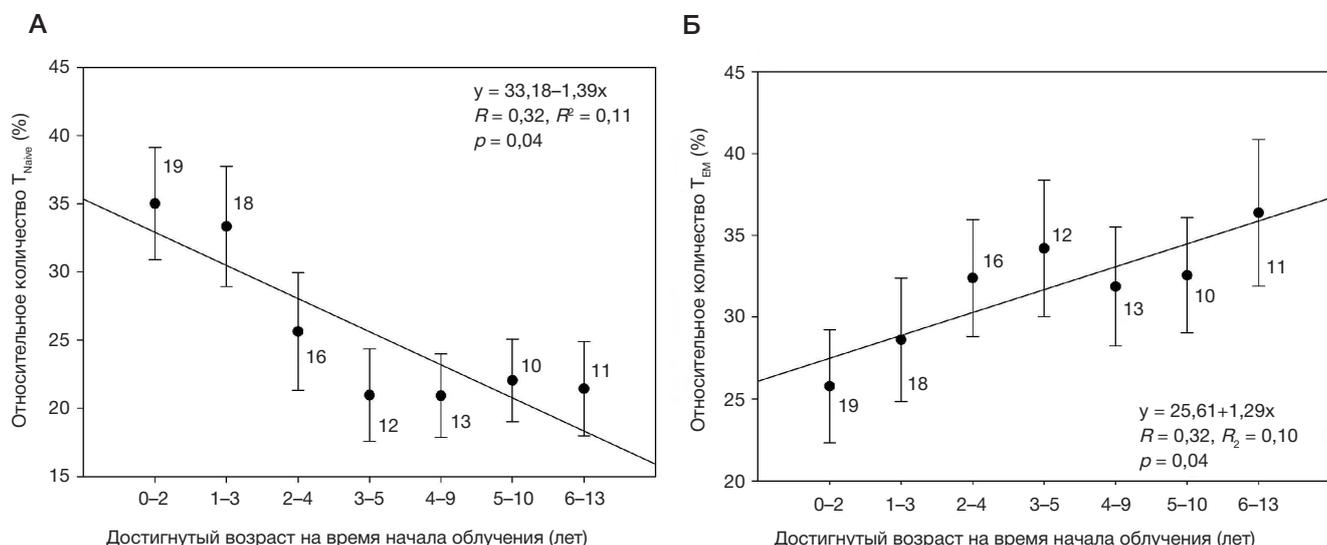


Рис. 1. Линейная регрессионная возрастная зависимость относительного количества T_{Naive} (А) и T_{EM} (Б) в периферической крови облученных лиц

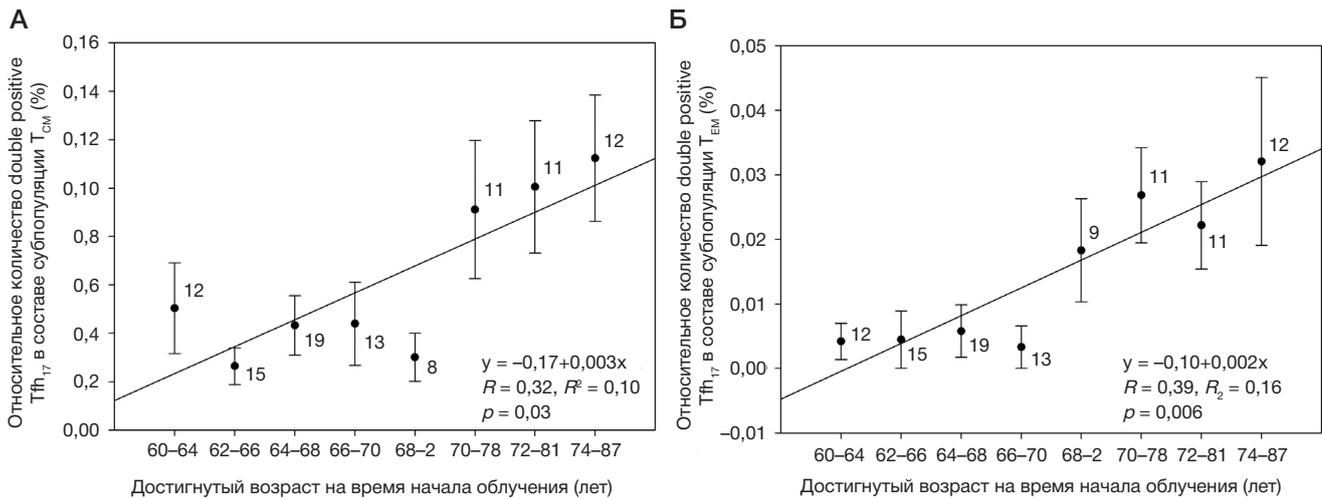


Рис. 2. Линейная регрессионная зависимость содержания «double positive» Tfh₁₇ в составе субпопуляции T_{CM} (А) и T_{EM} (Б) в периферической крови от возраста на момент исследования лиц из группы сравнения

(по методу Спирмена $p = 0,03$, $S = -0,34$; по методу Пирсона $p = 0,04$; $R = -0,32$), а количество T_{EM} увеличивалось (по методу Спирмена $p = 0,03$, $S = 0,35$; по методу Пирсона $p = 0,04$, $R = 0,32$) (рис. 3).

Для остальных популяций Т-хелперов не было выявлено статистически значимых зависимостей от достигнутого возраста на время исследования и на время начала облучения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Т-хелперы играют важнейшую роль в регуляции иммунной системы: от активации В-лимфоцитов, цитотоксических Т-лимфоцитов и других популяций клеток до подавления иммунного ответа.

Однако помимо поддержания функций адаптивного иммунитета Т-хелперы могут принимать участие и в развитии таких патологических состояний, как аутоиммунные [17, 18] и онкологические заболевания [19, 20]. Так, сообщается, что развитие хронического лимфолейкоза связано с распространением аномальных фолликулярных Т-хелперов, продуцирующих повышенные уровни цитокинов и костимулирующих факторов, способствующих пролиферации опухолевых клеток [21]. Показана также проопуховая активность Th₁₇,

выражающаяся в продукции иммуносупрессивных цитокинов и хемокинов в микроокружении опухоли, что приводит к стимуляции роста опухоли и метастазов [22, 23].

Важную роль в иммунном ответе играет баланс различных субпопуляций Т-хелперов. Например, цитокины, продуцируемые клетками Th₂, блокируют продукцию цитокинов Th₁ и естественными киллерами. Кроме того, клетки Th₁ могут ингибировать дифференцировку и пролиферацию базофилов и эозинофилов, активность которых находится под контролем синтеза цитокинов Th₂ [24]. Влияние ионизирующего излучения вызывает иммунный дисбаланс Th₁/Th₂ в направлении доминирования Th₂, и этот дисбаланс может способствовать дисфункции иммунной системы после облучения [25]. В ряде работ представлены данные о смещении баланса Th₁/Th₂ в сторону Th₂ при гематологических злокачественных новообразованиях [26–28]. В последнее время начали появляться данные и о другом соотношении иммунокомпетентных клеток, а именно Th₁/Th₁₇, дисбаланс которого участвует в развитии аутоиммунных заболеваний, в первую очередь ревматоидного артрита [29, 30].

В проведенном нами исследовании не было выявлено статистически значимых различий относительного содержания различных субпопуляций Т-хелперов, а также соотношения Th₁/Th₂ и Th₁/Th₁₇ в периферической

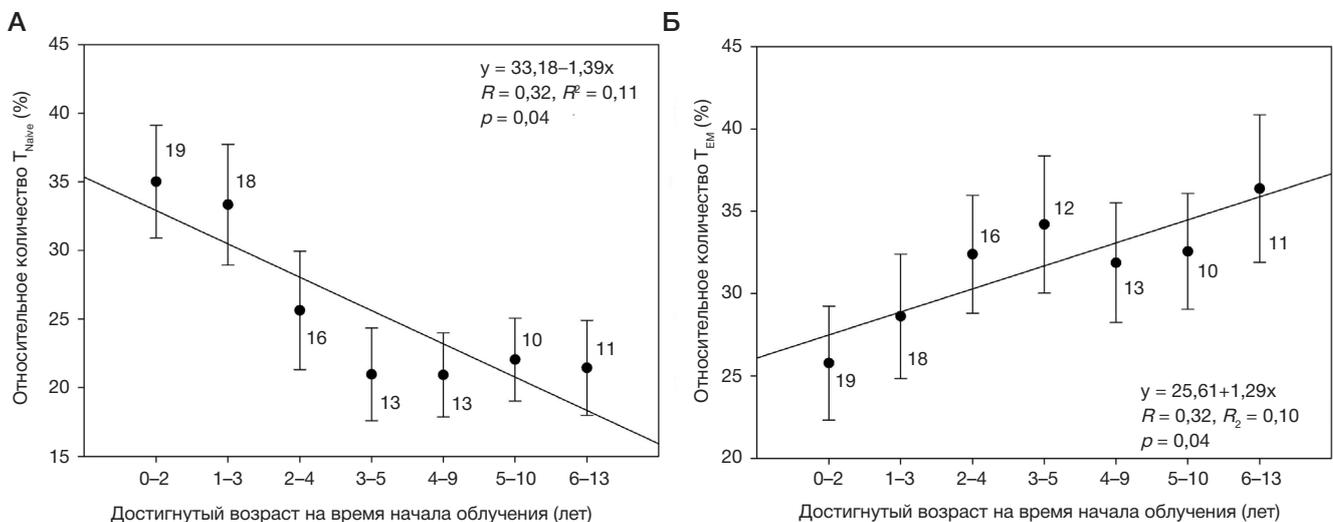


Рис. 3. Линейная регрессионная зависимость относительного количества T_{Naive} (А) и T_{EM} (Б) в периферической крови облученных лиц от достигнутого возраста на начало облучения

крови между группой облученных лиц и группой сравнения в отдаленные сроки после начала облучения. Однако у облученных людей были отмечены некоторые различия зависимости отдельных популяций Т-хелперов периферической крови в исследуемых группах от дозы облучения тимуса, периферических лимфоидных органов и достигнутого возраста.

У облученных лиц было обнаружено дозозависимое повышение количества «double positive» Tfh17, входящих в состав популяции T_{CM} , в периферической крови в зависимости от дозы облучения тимуса и периферических лимфоидных органов. Дозозависимые изменения количества Т-хелперов, а также их функциональных характеристик наблюдались и в исследованиях других популяций облученных лиц. У переживших атомную бомбардировку Хиросимы и Нагасаки было зарегистрировано дозозависимое снижение количества $CD4^+$ -Т-клеток в периферической крови [3], повышение мутации Т-клеточного рецептора в основном в популяции $CD4^+$ -Т-клеток [31], а также дозозависимое укорочение длины теломер Т-хелперов при дозах свыше 0,5 Гр [32]. У работников ПО «Маяк», подвергшихся хроническому радиационному воздействию, также выявлены изменения в Т-звене иммунной системы: с увеличением дозы внешнего облучения (2–4 Гр) снижалось количество $CD4^+$ -клеток [33], изменялись концентрации ряда цитокинов и хемокинов. Полученные результаты позволили сделать вывод, что выявленные изменения иммунных показателей у обследованных лиц способствовали поддержанию хронического воспалительного статуса и могли способствовать развитию поздних радиационно-обусловленных патологий, таких как сердечно-сосудистые и злокачественные заболевания [5, 34].

Помимо дозовых зависимостей, в обследованных группах обнаружены и возрастные изменения. Нами было выявлено возрастное снижение количества T_{Naive} в периферической крови облученных лиц, а также увеличение с возрастом количества T_{EM} , способных к миграции через эндотелий сосудов и тканей в очаги воспаления и развитию быстрого иммунного ответа с синтезом преимущественно эффекторных цитокинов [12]. Полученные результаты согласуются с литературными данными, описывающими феномен снижения количества наивных Т-хелперов с возрастом у лиц старше 70–75 лет [14]. Кроме того, в пожилом возрасте наивные Т-клетки приобретают склонность к эффекторной дифференцировке [35]. Стоит заметить, что в группе сравнения подобных корреляций выявлено не было; для этой группы

обследованных лиц отмечено увеличение с возрастом количества «double positive» Tfh17 в субпопуляциях T_{CM} и T_{EM} . При этом содержание «double positive» Tfh17 в субпопуляции T_{EM} у облученных лиц наоборот очень слабо снижалось с возрастом. Фолликулярные Т-хелперы экспрессируют хемокиновый рецептор CXCR5, что позволяет им мигрировать к его лиганду CXCL13 В-клеточного фолликула. Нормальные фолликулярные Т-хелперы продуцируют уникальный спектр цитокинов и хемокинов, необходимых для поддержания выживания и пролиферации В-клеток в зародышевых центрах [9, 21, 36, 37]. Так, Tfh17 продуцируют ИЛ-21 и ИЛ-17, участвующие в усилении взаимодействия Т- и В-клеток и необходимые для образования зародышевых центров [38].

Таким образом, у облученных лиц в отдаленном периоде после хронического радиационного воздействия наблюдаются некоторые изменения в Т-хелперном звене, которые зависят как от дозы облучения, так и от достигнутого возраста на момент исследования, однако в связи с небольшим количеством лиц, вошедших в обследованные группы, однозначные выводы на данном этапе работы невозможно сделать, и требуется дальнейшее продолжение исследований.

ВЫВОДЫ

1. В отдаленные сроки после хронического радиационного воздействия с преимущественным облучением ККМ (средняя накопленная доза облучения ККМ 567 ± 73 мГр) у жителей прибрежных сел реки Течи в возрастном диапазоне 67–84 года не установлено изменения относительного содержания различных субпопуляций Т-хелперов в периферической крови.
2. Относительное количество «double positive» Tfh17, содержащихся в популяции TCM в периферической крови облученных лиц, положительно коррелировало с дозой облучения тимуса и периферических лимфоидных органов ($p = 0,02$), однако линейной регрессионной зависимости зарегистрировано не было.
3. Полученные данные косвенно свидетельствуют об интенсификации инволюционных процессов у облученных лиц за счет снижения с возрастом количества T_{Naive} и увеличения T_{EM} . У облученных лиц в отдаленном периоде регистрируются следующие возрастные зависимости: снижение относительного количества T_{Naive} ($p = 0,009$) и «double positive» Tfh17 в составе субпопуляции T_{EM} ($p = 0,04$), а также увеличение относительного содержания T_{EM} ($p = 0,04$) в периферической крови. Однако в группе сравнения аналогичных зависимостей не отмечено.

Литература

1. Аклеев А. А., Блинова Е. А., Долгушин И. И. TCR-мутации в лимфоцитах периферической крови и иммунный статус у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, в отдаленные сроки. Российский иммунологический журнал. 2019; 13 (22,1): 13–23. DOI: 10.31857/S102872210005016-2.
2. Nalbant A. IL17, IL21, and IL22 Cytokines of T Helper 17 Cells in Cancer. J Interferon Cytokine Res. 2019; 39 (1): 56–60. DOI: 10.1089/jir.2018.0057.
3. Akiyama M, Late effects of radiation on the human immune system: an overview of immune response among the atomic-bomb survivors. Int J Radiat Biol. 1995; 68: 497–508.
4. Heylmann D, Rödel F, Kindler T, Kaina B. Radiation sensitivity of human and murine peripheral blood lymphocytes, stem and progenitor cells. Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Reviews on Cancer. 2014; 1846 (1): 121–29. DOI: 10.1016/j.bbcan.2014.04.009.
5. Rybkina VL, Bannikova MV, Adamova GV, Dörr H, Scherthan H, Azizova TV. Immunological markers of chronic occupational radiation exposure. Health Phys. 2018; 115 (1): 108–13. DOI:10.1097/HP.0000000000000855.
6. Аклеев А. В., редактор. Последствия радиоактивного загрязнения реки Течи. Челябинск: Книга, 2016; 390 с.
7. Дегтева М. О., Напье Б. А., Толстых Е. И., Шишкина Е. А., Бугров Н. Г., Крестинина Л. Ю., Аклеев А. В. Распределение индивидуальных доз в когорте людей, облученных в результате радиоактивного загрязнения реки Течи. Медицинская

- радиология и радиационная безопасность. 2019; 64 (3): 46–53. DOI: 10.12737/article_5cfc2364cb49523.98590475.
8. СанПин 2.6.1.2523-09 «Нормы радиационной безопасности (НРБ - 99/2009)». М., 2009; 225 с.
 9. Зурочка А. В., Хайдуков С. В., Кудрявцев И. В., Черешнев В. А. Проточная цитометрия в биомедицинских исследованиях. Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2018; 720 с.
 10. Кудрявцев И. В., Серебрякова М. К., Тотолян А. А. Значения нормы субпопуляций Т-хелперов различного уровня дифференцировки в периферической крови. Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61 (3): 179–84. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-3-179-184.
 11. Кудрявцев И. В., Борисов А. Г., Кробинец И. И., Савченко А. А., Серебрякова М. К., Тотолян А. А. Хемокиновые рецепторы на Т-хелперах различного уровня дифференцировки: основные субпопуляции. Медицинская иммунология. 2016; 18 (3): 239–50. DOI: 10.15789/1563-0625-2016-3-239-250.
 12. Кудрявцев И. В. Т-клетки памяти: основные популяции и стадии дифференцировки. Российский иммунологический журнал. 2014; 8 (17): 947–64.
 13. Dong C. Cytokine Regulation and Function in T Cells. *Annu Rev Immunol*. 2021; 39: 51–76. DOI: 10.1146/annurev-immunol-061020-053702.
 14. Goronzy JJ, Lee WW, Weyand CM. Aging and T-cell diversity. *Exp Gerontol*. 2007; 42 (5): 400–6. DOI: 10.1016/j.exger.2006.11.016.
 15. Lefebvre JS, Lorenzo EC, Masters AR, et al. Vaccine efficacy and T helper cell differentiation change with aging. *Oncotarget*. 2016; 7 (23): 33581–94. DOI: 10.18632/oncotarget.9254.
 16. Haynes L, Lefebvre JS. Age-related Deficiencies in Antigen-Specific CD4 T cell Responses: Lessons from Mouse Models. *Aging Dis*. 2011; 2 (5): 374–81.
 17. Huang J, Xu X, Yang J. miRNAs Alter T Helper 17 Cell Fate in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases. *Front Immunol*. 2021; 12: 593473. DOI: 10.3389/fimmu.2021.593473.
 18. Takeuchi Y, Hirota K, Sakaguchi S. Impaired T cell receptor signaling and development of T cell-mediated autoimmune arthritis. *Immunol Rev*. 2020; 294 (1): 164–76. DOI: 10.1111/imr.12841.
 19. Shao F, Zheng P, Yu D, Zhou Z, Jia L. Follicular helper T cells in type 1 diabetes. *FASEB J*. 2020; 34 (1): 30–40. DOI: 10.1096/fj.201901637R.
 20. Chang SH. T helper 17 (Th17) cells and interleukin-17 (IL17) in cancer. *Arch Pharm Res*. 2019; 42 (7): 549–59. DOI: 10.1007/s12272-019-01146-9.
 21. Wu X, Fajardo-Despaigne JE, Zhang C, et al. Altered T Follicular Helper Cell Subsets and Function in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Front Oncol*. 2021; 11: 674492. DOI: 10.3389/fonc.2021.674492.
 22. Dahal LN. The dichotomy of T helper 17 cells in cancer. *Nat Rev Immunol*. 2017; 17 (9): 592. DOI: 10.1038/nri.2017.93.
 23. Marshall EA, Ng KW, Kung SH, et al. Emerging roles of T helper 17 and regulatory T cells in lung cancer progression and metastasis. *Mol Cancer*. 2016; 15 (1): 67. DOI: 10.1186/s12943-016-0551-1.
 24. Mazzarella G, Bianco A, Catena E, De Palma R, Abbate GF. Th1/Th2 lymphocyte polarization in asthma. *Allergy*. 2000; 55 (Suppl 61): 6–9. DOI: 10.1034/j.1398-9995.2000.00511.x.
 25. Chen R, Wang YW, Fornace AJ Jr, Li HH. Impairment of the Intrinsic Capability of Th1 Polarization in Irradiated Mice: A Close Look at the Imbalanced Th1/Th2 Response after Irradiation. *Radiat Res*. 2016; 186 (6): 559–67. DOI: 10.1667/RR14401.1.
 26. Zhang X-L, Komada Y, Chipeta J, Li Q-S, Inaba H, Azuma E, Yamamoto H, Sakurai M. Intracellular cytokine profile of T cells from children with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Immunol Immunother*. 2000; 49: 165–72.
 27. Yatnda P, Mintz P, Grigoriadou K, Lemonnier F, Vilmer E, Langlade-Demoyen P. Analysis of T-cell defects in the specific immune response against acute lymphoblastic leukemia cells. *Exp Hematol*. 1999; 27: 1375–83.
 28. De Toter D, Reato G, Mauro F, et al. IL-4 production and increased CD30 expression by a unique CD8 — T-cell subset in B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 1999; 104: 589–99.
 29. Pan B, Zeng L, Cheng H, et al. Altered balance between Th1 and Th17 cells in circulation is an indicator for the severity of murine acute GVHD. *Immunol Lett*. 2012; 142 (1–2): 48–54. DOI: 10.1016/j.imlet.2011.12.005.
 30. Bazzazi H, Aghaei M, Memarian A, Asgarian-Omran H., Behnampour N, Yazdani Y. Th1–Th17 ratio as a new insight in rheumatoid arthritis disease. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2018; 17 (1): 68–77.
 31. Kusunoki Y, Yamaoka M, Kasagi F, Hayashi T, MacPhee DG, Kyoizumi S. Long-lasting changes in the T-cell receptor V beta repertoires of CD4 memory T-cell populations in the peripheral blood of radiation-exposed people. *Br J Haematol*. 2003; 122: 975–84. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2003.04520.x.
 32. Yoshida K, Misumi M, Kubo Y, Yamaoka M, Kyoizumi S, Ohishi W, et al. Long-term effects of radiation exposure and metabolic status on telomere length of peripheral blood T cells in atomic bomb survivors. *Radiat Res*. 2016; 186: 367–76. DOI: 10.1667/RR14389.1.
 33. Kiselev SM, Sokolnikov ME, Lyss LV, Ilyina NI. Immunological monitoring of the personnel at radiation hazardous facilities. *Radiation Protection Dosimetry*. 2016; 173 (1–3): 124–30. DOI: 10.1093/rpd/ncw346.
 34. Rybkina VL, Azizova TV, Scherthan H, Meineke V, Doerr H, Adamova GV, et al. Expression of blood serum proteins and lymphocyte differentiation clusters after chronic occupational exposure to ionizing radiation. *Radiat Environ Biophys*. 2014; 53 (4): 659–70. DOI: 10.1007/s00411-014-0556-3.
 35. Zhang H, Weyand CM, Goronzy JJ. Hallmarks of the aging T-cell system. *FEBS J*. 2021; 288 (24): 7123–142. DOI: 10.1111/febs.15770.
 36. Benteibibel SE, Lopez S, Obermoser G, et al. Induction of ICOS+CXCR3+CXCR5+ TH cells correlates with antibody responses to influenza vaccination. *Sci Transl Med*. 2013; 5 (176): 176ra32. DOI: 10.1126/scitranslmed.3005191.
 37. Brenna E, Davydov AN, Ladell K, et al. CD4+ T Follicular Helper Cells in Human Tonsils and Blood Are Clonally Convergent but Divergent from Non-Tfh CD4+ Cells. *Cell Rep*. 2020; 30 (1): 137–52. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.12.016.
 38. Olatunde AC, Hale JS, Lamb TJ. Cytokine-skewed Tfh cells: functional consequences for B cell help. *Trends Immunol*. 2021; 42 (6): 536–50. DOI: 10.1016/j.it.2021.04.006.

References

1. Akleev AA, Blinova EA, Dolgushin II. TCR-mutacii v limfocitax perifericheskoj krovi i immunnyj status u lic, podverghshixsya xronicheskomu radiacionnomu vozdejstviyu, v otdalennye sroki. *Rossijskij immunologicheskij zhurnal*. 2019; 13 (22,1): 13–23. DOI: 10.31857/S102872210005016-2. Russian.
2. Nalbant A. IL17, IL21, and IL22 Cytokines of T Helper 17 Cells in Cancer. *J Interferon Cytokine Res*. 2019; 39 (1): 56–60. DOI: 10.1089/jir.2018.0057.
3. Akiyama M. Late effects of radiation on the human immune system: an overview of immune response among the atomic-bomb survivors. *Int J Radiat Biol*. 1995; 68: 497–508.
4. Heylmann D, Rödel F, Kindler T, Kaina B. Radiation sensitivity of human and murine peripheral blood lymphocytes, stem and progenitor cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Reviews on Cancer*. 2014; 1846 (1): 121–29. DOI: 10.1016/j.bbcan.2014.04.009.
5. Rybkina VL, Bannikova MV, Adamova GV, Dörr H, Scherthan H, Azizova TV. Immunological markers of chronic occupational radiation exposure. *Health Phys*. 2018; 115 (1): 108–13. DOI: 10.1097/HP.0000000000000855.
6. Akleev AV, redaktor. *Posledstviya radioaktivnogo zagryazneniya reki Techii*. Chelyabinsk: Kniga, 2016; 390 s. Russian.
7. Degteva MO, Napier BA, Tolstikh EI, Shishkina EA, Bougrov NG, Krestinina LYu, et al. *Raspredelenie individual'nyx doz v kogorte*

- lyudej, obluchennyx v rezul'tate radioaktivnogo zagryazneniya reki Tchi. Medicinskaya radiologiya i radiacionnaya bezopasnost'. 2019; 64 (3): 46–53. DOI: 10.12737/article_5cf2364cb49523.98590475. Russian.
8. SanPin 2.6.1.2523-09 «Normy radiacionnoj bezopasnosti (NRB - 99/2009)». M., 2009; 225 s. Russian.
 9. Zurochka AV, Khaidukov SV, Kudryavtsev IV, Chereshnev VA. Protochnaya citometriya v biomedicinskix issledovaniyax. Ekaterinburg: RIO UrO RAN, 2018; 720 s. Russian.
 10. Kudryavtsev IV, Serebryakova MK, Totolyan AA. Znacheniya normy subpopulyacij T-xelperov razlichnogo urovnya differencirovki v perifericheskoj krvi. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 2016; 61 (3): 179–84. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-3-179-184. Russian.
 11. Kudryavtsev IV, Borisov AG, Krobinets II, Savchenko AA, Serebryakova MK, Totolyan AA. Xemokinovye receptory na T-xelperax razlichnogo urovnya differencirovki: osnovnye subpopulyacii. Medicinskaya immunologiya. 2016; 18 (3): 239–50. DOI: 10.15789/1563-0625-2016-3-239-250. Russian.
 12. Kudryavtsev IV. T-kletki pamyati: osnovnye populyacii i stadii differencirovki. Rossijskij immunologicheskij zhurnal. 2014; 8 (17): 947–64. Russian.
 13. Dong C. Cytokine Regulation and Function in T Cells. Annu Rev Immunol. 2021; 39: 51–76. DOI: 10.1146/annurev-immunol-061020-053702.
 14. Goronzy JJ, Lee WW, Weyand CM. Aging and T-cell diversity. Exp Gerontol. 2007; 42 (5): 400–6. DOI: 10.1016/j.exger.2006.11.016.
 15. Lefebvre JS, Lorenzo EC, Masters AR, et al. Vaccine efficacy and T helper cell differentiation change with aging. Oncotarget. 2016; 7 (23): 33581–94. DOI: 10.18632/oncotarget.9254.
 16. Haynes L, Lefebvre JS. Age-related Deficiencies in Antigen-Specific CD4 T cell Responses: Lessons from Mouse Models. Aging Dis. 2011; 2 (5): 374–81.
 17. Huang J, Xu X, Yang J. miRNAs Alter T Helper 17 Cell Fate in the Pathogenesis of Autoimmune Diseases. Front Immunol. 2021; 12: 593473. DOI: 10.3389/fimmu.2021.593473.
 18. Takeuchi Y, Hirota K, Sakaguchi S. Impaired T cell receptor signaling and development of T cell-mediated autoimmune arthritis. Immunol Rev. 2020; 294 (1): 164–76. DOI: 10.1111/imr.12841.
 19. Shao F, Zheng P, Yu D, Zhou Z, Jia L. Follicular helper T cells in type 1 diabetes. FASEB J. 2020; 34 (1): 30–40. DOI: 10.1096/fj.201901637R.
 20. Chang SH. T helper 17 (Th17) cells and interleukin-17 (IL17) in cancer. Arch Pharm Res. 2019; 42 (7): 549–59. DOI: 10.1007/s12272-019-01146-9.
 21. Wu X, Fajardo-Despaigne JE, Zhang C, et al. Altered T Follicular Helper Cell Subsets and Function in Chronic Lymphocytic Leukemia. Front Oncol. 2021; 11: 674492. DOI: 10.3389/fonc.2021.674492.
 22. Dahal LN. The dichotomy of T helper 17 cells in cancer. Nat Rev Immunol. 2017; 17 (9): 592. DOI: 10.1038/nri.2017.93.
 23. Marshall EA, Ng KW, Kung SH, et al. Emerging roles of T helper 17 and regulatory T cells in lung cancer progression and metastasis. Mol Cancer. 2016; 15 (1): 67. DOI: 10.1186/s12943-016-0551-1.
 24. Mazzarella G, Bianco A, Catena E, De Palma R, Abbate GF. Th1/Th2 lymphocyte polarization in asthma. Allergy. 2000; 55 (Suppl 61): 6–9. DOI: 10.1034/j.1398-9995.2000.00511.x.
 25. Chen R, Wang YW, Fornace AJ Jr, Li HH. Impairment of the Intrinsic Capability of Th1 Polarization in Irradiated Mice: A Close Look at the Imbalanced Th1/Th2 Response after Irradiation. Radiat Res. 2016; 186 (6): 559–67. DOI: 10.1667/RR14401.1.
 26. Zhang X-L, Komada Y, Chipeta J, Li Q-S, Inaba H, Azuma E, Yamamoto H, Sakurai M. Intracellular cytokine profile of T cells from children with acute lymphoblastic leukemia. Cancer Immunol Immunother. 2000; 49: 165–72.
 27. Yatnda P, Mintz P, Grigoriadou K, Lemonnier F, Vilmer E, Langlade-Demoyen P. Analysis of T-cell defects in the specific immune response against acute lymphoblastic leukemia cells. Exp Hematol. 1999; 27: 1375–83.
 28. De Totero D, Reato G, Mauro F, et al. IL-4 production and increased CD30 expression by a unique CD8⁺ T-cell subset in B-cell chronic lymphocytic leukaemia. Br J Haematol. 1999; 104: 589–99.
 29. Pan B, Zeng L, Cheng H, et al. Altered balance between Th1 and Th17 cells in circulation is an indicator for the severity of murine acute GVHD. Immunol Lett. 2012; 142 (1–2): 48–54. DOI: 10.1016/j.imlet.2011.12.005.
 30. Bazzazi H, Aghaei M, Memarian A, Asgarian-Omran H., Behnampour N, Yazdani Y. Th1–Th17 ratio as a new insight in rheumatoid arthritis disease. Iran J Allergy Asthma Immunol. 2018; 17 (1): 68–77.
 31. Kusunoki Y, Yamaoka M, Kasagi F, Hayashi T, MacPhee DG, Kyoizumi S. Long-lasting changes in the T-cell receptor V beta repertoires of CD4 memory T-cell populations in the peripheral blood of radiation-exposed people. Br J Haematol. 2003; 122: 975–84. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2003.04520.x.
 32. Yoshida K, Misumi M, Kubo Y, Yamaoka M, Kyoizumi S, Ohishi W, et al. Long-term effects of radiation exposure and metabolic status on telomere length of peripheral blood T cells in atomic bomb survivors. Radiat Res. 2016; 186: 367–76. DOI: 10.1667/RR14389.1.
 33. Kiselev SM, Sokolnikov ME, Lyss LV, Ilyina NI. Immunological monitoring of the personnel at radiation hazardous facilities. Radiation Protection Dosimetry. 2016; 173 (1–3): 124–30. DOI: 10.1093/rpd/ncw346.
 34. Rybkina VL, Azizova TV, Scherthan H, Meineke V, Doerr H, Adamova GV, et al. Expression of blood serum proteins and lymphocyte differentiation clusters after chronic occupational exposure to ionizing radiation. Radiat Environ Biophys. 2014; 53 (4): 659–70. DOI: 10.1007/s00411-014-0556-3.
 35. Zhang H, Weyand CM, Goronzy JJ. Hallmarks of the aging T-cell system. FEBS J. 2021; 288 (24): 7123–142. DOI: 10.1111/febs.15770.
 36. Bentebibel SE, Lopez S, Obermoser G, et al. Induction of ICOS+CXCR3+CXCR5+ TH cells correlates with antibody responses to influenza vaccination. Sci Transl Med. 2013; 5 (176): 176ra32. DOI: 10.1126/scitranslmed.3005191.
 37. Brenna E, Davydov AN, Ladell K, et al. CD4⁺ T Follicular Helper Cells in Human Tonsils and Blood Are Clonally Convergent but Divergent from Non-Tfh CD4⁺ Cells. Cell Rep. 2020; 30 (1): 137–52. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.12.016.
 38. Olatunde AC, Hale JS, Lamb TJ. Cytokine-skewed Tfh cells: functional consequences for B cell help. Trends Immunol. 2021; 42 (6): 536–50. DOI: 10.1016/j.it.2021.04.006.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПАНДЕМИИ COVID-19 НА ОБЩИЙ КОЭФФИЦИЕНТ СМЕРТНОСТИ НАСЕЛЕНИЯ ОЗЕРСКОГО ГОРОДСКОГО ОКРУГА

М. В. Осипов¹✉, В. А. Соколова², А. С. Кушнир²

¹ Южно-Уральский институт биофизики Федерального медико-биологического агентства, Озёрск, Россия

² Клиническая больница «РЖД-Медицина», Челябинск, Россия

Пандемия COVID-19, объявленная Всемирной организацией здравоохранения в марте 2020 г., обусловила необходимость оценки потенциального демографического ущерба для населения. Целью работы было провести ретроспективный анализ изменения демографической ситуации в Озерском городском округе, расположенном вблизи предприятия атомной промышленности ПО «Маяк». На основе опубликованных в открытом доступе демографических данных было ретроспективно проанализировано изменение численности населения за десятилетний период. Уровень общей смертности в 2020 г. сравнивался с каждым предыдущим годом в течение исследуемого периода для оценки величины отклонения уровня смертности от его прогнозируемого значения. Оценка влияния пандемии COVID-19 на демографический статус Озерского городского округа выполнялась с использованием грубого показателя общей смертности. Показано статистически значимое повышение уровня общей смертности в 2020 г. по сравнению с его ожидаемой оценкой на 19%. Абсолютный избыток общей смертности, отнесенный к влиянию пандемии, составил 13,4%. Ожидаемое число избыточных случаев смерти в результате заболевания COVID-19 как основной причины смерти составило 60 (4,2%). Пандемия COVID-19 оказала статистически значимое негативное влияние на демографический статус Озерского городского округа, однако ее влияние на общую смертность не было преобладающим.

Ключевые слова: пандемия, коронавирусная инфекция, COVID-19, SARS-CoV-2, показатели общей смертности, Озёрск

Благодарность: авторы выражают благодарность научному сотруднику отдела эпидемиологии Южно-Уральского института биофизики, к. м. н. Ю. В. Царевой за помощь в обсуждении результатов исследования.

Вклад авторов: М. В. Осипов — идея, дизайн, координация исследования, статистический анализ и интерпретация результатов, формулирование выводов, подготовка рукописи; В. А. Соколова — анализ, планирование исследования, интерпретация данных, обсуждение результатов; А. С. Кушнир — работа с литературой, анализ и интерпретация данных, подготовка рукописи.

✉ **Для корреспонденции:** Михаил Викторович Осипов
Озёрское шоссе, д. 19/1, к. 108, г. Озёрск, 456780, Россия; osipov@subi.su

Статья получена: 10.03.2022 **Статья принята к печати:** 02.04.2022 **Опубликована онлайн:** 21.04.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.011

EVALUATION OF THE IMPACT OF COVID-19 PANDEMIC ON OVERALL MORTALITY IN OZYORSK URBAN DISTRICT

Osipov MV¹✉, Sokolova VA², Kushnir AS²

¹ Southern Urals Biophysics Institute of the Federal Medical Biological Agency, Ozyorsk, Russia

² Clinical Hospital "RZhD-Medicine", Chelyabinsk, Russia

COVID-19 pandemic announced by World Health Organization in March 2020 raised concern on potential demographic losses. This retrospective study was aimed to analyze the pandemic-related changes in the demographic status of the Ozyorsk urban district located close to the nuclear industry facility — the "Mayak" Production Association. Population changes in the Ozyorsk urban district over the last decade were analyzed based on the open-access demographic data. The impact of the COVID-19 pandemic on the demographic status of the Ozyorsk urban district was assessed using the crude overall mortality rates. Comparison of the overall mortality rates has been performed between 2020 and each previous year to assess the deviation of mortality from the forecasted value. The overall mortality rate in 2020 has been found increased significantly by 19%. Excess mortality attributed to the impact of the pandemic was 13.4%. The expected absolute number of excess deaths from COVID-19 being the main cause of death was 60 (4.2%). The COVID-19 pandemic had a significant negative impact on the demographic status of the Ozyorsk urban district; however, the role of COVID-19-associated deaths in overall mortality was not predominant.

Keywords: pandemic, coronavirus infection, COVID-19, SARS-CoV-2, population changes, mortality rate, Ozyorsk

Acknowledgements: the authors would like to express their appreciation to Yulia V. Tzareva, PhD, research fellow at the Department of Epidemiology, Southern Urals Biophysics Institute, for discussing the study results.

Author contribution: Osipov MV — concept, design, research coordination, statistical analysis and data interpretation, drawing conclusions, manuscript writing, and translation; Sokolova VA — analysis, study planning, data interpretation, discussion; Kushnir AS — literature analysis, data interpretation, manuscript writing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Mikhail V. Osipov
Ozyorskoe shosse 19/1, k. 108, Ozyorsk, 456780, Russia; osipov@subi.su

Received: 10.03.2022 **Accepted:** 02.04.2022 **Published online:** 21.04.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.011

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила 11 марта 2020 г. о новой глобальной угрозе — вспышке COVID-19, вызванного новой коронавирусной инфекцией SARS-CoV-2, распространение которой приобрело характер пандемии. Атипичный тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС) [1], склонный к прогрессированию тяжести течения у 20% инфицированных [2] и высокой

вероятностью летального исхода [3], проявляющийся при COVID-19, стал предметом интереса клиницистов и эпидемиологов по всему миру. По состоянию на 31 декабря 2020 г., общее число заболевших в результате заражения новой коронавирусной инфекцией во всем мире составило 83 200 000 случаев [4], среди которых было зафиксировано более 1 815 000 летальных исходов

от различных причин. Летальность среди пациентов с подтвержденным диагнозом заболевания COVID-19 варьировала в широких пределах от 0,3 до 5,8% [5].

Глобальное распространение новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 и связанной с ней заболеваемости и смертности является фактором, потенциально влияющим на изменение численности населения. Это влияние может быть особенно критичным для малонаселенных территорий и городов особого значения, таких как закрытое административно-территориальное объединение (ЗАТО) город Озерск [6]. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения Озерского городского округа является неотъемлемой частью выполнения Федеральной целевой программы «Обеспечение ядерной и радиационной безопасности на 2016–2020 гг. и на период до 2030 г.» [7], в связи с чем оценка потенциальных санитарных потерь в связи с объявленной пандемией приобретает характер задачи особого значения.

За время, прошедшее с момента объявления пандемии, российскими и зарубежными учеными проведено значительное число научных исследований, в том числе с целью оценки демографических последствий, связанных с COVID-19 [3–5, 8–12]. Как правило, для этого используют специфические показатели, такие как летальность среди инфицированных (*infection fatality ratio, IFR*) и летальность среди подтвержденных случаев заболевания COVID-19 (*case fatality ratio, CFR*). Однако их расчет зависит от определенных демографических и экономических условий, которые могут различаться в разных странах. Так, по данным ВОЗ, истинный уровень зараженности среди населения часто недооценен, поскольку значительная часть инфицированных не выявляется, либо потому, что они бессимптомны, либо имеют только легкие симптомы [13]. Использование же специфических показателей летальности *IFR* и *CFR* для оценки демографических потерь сопряжено с необходимостью учета всех случаев инфицирования и/или заболевания. Данная практика трудноосуществима в реальных условиях, что может привести к недооценке уровня летальности, связанной с COVID-19 [11, 12]. В то же время показатели госпитальной заболеваемости, используемые для мониторинга распространения инфекции [14] и вычисляемые среди контингента лиц, обратившихся за медицинской помощью, будут ожидаемо выше, чем среди остального населения. Последствия распространения SARS-CoV-2 в популяции, оцененные с использованием таких специфических показателей, с большой долей вероятности могут быть переоценены [15].

Полученные в разные периоды развития эпидемического процесса оценки летальности могут варьировать в широких пределах, что может приводить к ошибочной интерпретации результатов сравнения в различных популяциях и в различное время [8] и затруднять прогнозирование ожидаемых последствий [16]. Применение различных методик расчета описанных показателей в разных странах является причиной значительных расхождений в оценках летальности (0,1–25% и более) [13], что может вводить исследователей в заблуждение при сопоставлении опубликованных данных.

Один из возможных способов минимизации влияния этих неопределенностей состоит в использовании неспецифического показателя общей смертности, который, в отличие от специфических показателей, нечувствителен к различным методикам расчета, поскольку представляет собой долю умерших от всех причин в популяции. Целью исследования было оценить избыточную смертность

среди населения Озерского городского округа, связанную с пандемией COVID-19, полученную при сравнении грубых показателей смертности от всех причин.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили ретроспективно с использованием когортной методологии. Объектом наблюдения было население, проживающее на территории Озерского городского округа в период 2010–2020 гг. Для проведения исследования использовали данные официальной статистики [17]. Для расчета грубого показателя общей смертности (μ_t) использовали число умерших от всех причин в год (M_t) и численность населения (P_t) в конце календарного года (t). Показатель общей смертности вычисляли на 1000 человек по формуле:

$$\mu_t = \frac{M_t}{P_t} \times 1000. \quad (1)$$

Годовой прирост показателя общей смертности вычисляли по формуле:

$$\Delta\mu = \frac{\mu_t - \mu_{t-1}}{\mu_{t-1}} \times 100\%, \quad (2)$$

где μ_t — грубый показатель общей смертности за текущий год, μ_{t-1} — грубый показатель общей смертности за предшествующий год.

Избыточную смертность вычисляли как разность между показателем общей смертности в 2020 г. и усредненным значением показателя за период, предшествующий объявлению пандемии COVID-19, исходя из предположения о стационарности демографического тренда. Оценку линейности тренда выполняли с использованием коэффициента линейной корреляции (r) и коэффициента аппроксимации R^2 [18].

Для характеристики показателя смертности на 1000 человек (%) использовали общепринятую шкалу [19], согласно которой уровень смертности на основании годового показателя общей смертности (μ_t) определяли по следующему соотношению:

$$\begin{aligned} (\mu_t) < 10\% & \text{ — низкий,} \\ 10\% \leq (\mu_t) < 15\% & \text{ — средний,} \\ 15\% \leq (\mu_t) < 25\% & \text{ — высокий.} \end{aligned} \quad (3)$$

При помощи сравнения полученных грубых показателей общей смертности за различные годы была протестирована гипотеза о влиянии пандемии COVID-19 на смертность среди населения ОГО. Оценку статистической значимости различий между годовыми показателями смертности проводили путем частотного анализа дихотомического признака (наступления или ненаступления исхода) в таблицах сопряженности 2×2 с использованием теста Хи-квадрат Пирсона (Pearson Chi-square), реализованного в пакете программ для прикладной статистики WinPeri [20]. Результаты считали статистически значимыми при заданном уровне значимости $p < 0,01$. Проверку результатов исследования выполняли на основании оценки вероятности повторного воспроизведения (P -rep) [21], критерием которой при заданном уровне значимости $\alpha = 0,05$ считали достижение P -rep уровня 80%.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Динамика изменения численности населения ОГО в течение исследуемого периода и оценка ее тренда представлены на рис. 1.

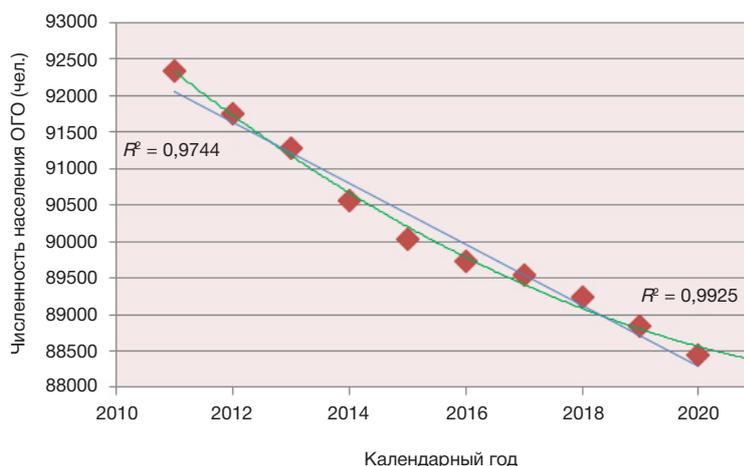


Рис. 1. Динамика изменения численности населения ОГО за 2010–2020 гг.

Динамика численности населения ОГО за десятилетний период имеет выраженный нисходящий тренд, который наиболее хорошо описывает линейно-квадратичная зависимость ($R^2 = 0,99$). Коэффициент линейной корреляции для тренда составляет 0,84 ($p < 0,05$). Линейность тренда в пределах $0,7 < r < 0,9$ (коэффициент качества аппроксимации $R^2 = 0,97$) свидетельствует о выраженном линейном компоненте.

На основании данных о численности населения и числе умерших в ОГО за период 2010–2020 гг. были вычислены годовые грубые общие показатели смертности от всех причин (μ), а также абсолютный и относительный прирост смертности за год ($\Delta\mu$, %) (табл. 1).

Годовое увеличение абсолютного числа случаев смерти в ОГО за 2020 г., по сравнению с предыдущим годом, составило 233 (или 192 случая, по сравнению со средним значением общего числа смертей за предшествующий период 2010–2019 гг.). Ожидаемое число избыточных смертей, которые можно отнести к первому году пандемии, составило 2,17 на 1000 человек, или 13,4% от общей смертности.

Прирост показателя общей смертности $\Delta\mu$ в ОГО, по сравнению с 2019 г., составил 20,12%. Отношение показателей общей смертности $\mu_{2020}/\mu_{2010-2019}$ по сравнению со значением за 10 предшествующих лет составило 1,19 (95% ДИ: 1,1–1,28; $p = 6,0 \times 10^{-6}$).

Согласно шкале оценки смертности (3), уровень смертности в ОГО за период 2010–2019 гг. характеризовался, как средний. Наблюдаемое в 2020 г. изменение показателя смертности характеризует

уровень смертности как высокий. Динамика изменения показателей общей смертности в ОГО, по сравнению с аналогичными показателями в Челябинской области за период 2010–2020 гг. представлена на рис. 2.

С 2010 по 2019 г. наряду с практически монотонным снижением показателя общей смертности ($R^2 = 0,9$) в Челябинской области показатели смертности в ОГО демонстрируют колебания от 12,5 до 14,5 в пределах слабого восходящего тренда (коэффициент линейной корреляции 0,69). Примечательно, что в последние годы показатели смертности по ОГО превышают аналогичные показатели по области.

Фактическое значение показателя общей смертности по данным официальной статистики в 2020 г. в Челябинской области составило 15,9, а для ОГО — 16,2 [22], что демонстрирует значительное отклонение от его значения, вычисленного на основании линейной экстраполяции. Для проверки случайности данного отклонения было выполнено попарное сравнение различий годовых показателей смертности от всех причин в 2020 г. с показателями смертности за предыдущие годы. В качестве контрольного сравнения использовали показатель смертности за 2019 г.

Результаты сравнения с показателями смертности за предыдущие годы, статистическая значимость и воспроизводимость результата представлены в табл. 2.

Результаты попарного сравнения показателя смертности за 2020 г. с показателями смертности за предшествующие годы выявили статистически значимые различия во всех парах ($p \ll 0,05$) с высоким уровнем воспроизводимости результатов (>80%). В то же время

Таблица 1. Численность населения и смертность в ОГО за период 2010–2020 гг.

Год	Численность населения	Умерло	Абсолютный прирост смертности	Показатель смертности (μ)	$\Delta\mu$, %
2010	97 832	1309	–	13,38	–
2011	92 335	1243	–66	13,46	0,6
2012	91 744	1226	–17	13,36	–0,74
2013	91 285	1181	–45	12,94	–3,14
2014	90 567	1240	59	13,69	5,8
2015	90 029	1237	–3	13,74	0,37
2016	89 724	1279	42	14,25	3,71
2017	89 545	1227	–52	13,7	–3,86
2018	89 230	1241	14	13,91	1,53
2019	88 835	1197	–44	13,47	–3,16
2020	88 399	1430	233	16,18	20,12



Рис. 2. Динамика грубого показателя общей смертности на 1000 человек в год в ОГО и Челябинской области за период 2010–2020 гг.

сравнение показателей смертности с контрольным значением за 2019 г. не выявило статистически значимых различий ни в одной из пар сравнения ($p > 0,05$), за исключением анализируемого показателя смертности за 2020 г.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты свидетельствуют о статистически значимом повышении грубого показателя смертности от всех причин в ОГО в 2020 г., по сравнению с аналогичным показателем за 2019 г. на 20,1%, и с усредненным значением показателя за период 2010–2019 гг. на 19,0%. Это говорит о появлении в изучаемой популяции в 2020 г. нового негативного фактора, который не действовал в течение предыдущих лет и значимо повлиял на смертность населения.

Результаты проведенного исследования согласуются с данными национальной статистики. Согласно данным Росстат [23], в течение 2020 г. в Российской Федерации (РФ) умерло на 288 000 человек больше, чем в среднем за пять предыдущих лет, а избыточная смертность в 2020 г. по сравнению с предыдущим годом составила 18,9%, что подтверждается данными ранних исследований [10–12]. Оцениваемая доля в избыточной смертности в 2020 г. лиц, у которых диагноз заболевания COVID-19 был установлен как основная причина смерти, составила 31%.

В настоящем исследовании в силу ограниченного доступа к информации мы не располагаем данными о числе умерших среди инфицированных SARS-CoV-2 в ОГО. Тем не менее оценка показателя специфической смертности населения ОГО может быть произведена косвенно с использованием аналогичного коэффициента в РФ, при допущении об отсутствии существенных различий в возрастно-половой структуре населения ОГО и РФ и о динамике смертности в популяции среди лиц, находящихся под риском заболевания с течением времени. При предположении о 31%-й этиологической доле COVID-19 ожидаемое число случаев смерти среди населения ОГО вследствие заболевания COVID-19 в 2020 г. составит 59,5, а ожидаемый показатель специфической смертности — 67,3 случая на 100 000 человек в год.

На основании полученного значения показателя специфической смертности, обусловленной COVID-19, проведено сравнение с показателями смертности от болезней системы кровообращения (БСК) и онкологических заболеваний, как наиболее социально значимых нарушений здоровья, занимающих первые ранговые места в структуре смертности по РФ. По сравнению с грубым показателем смертности от БСК в 2019 г. (573,2 случая на 100 000 населения) [24], показатель смертности от COVID-19 как основной причины смерти будет в 8,5 раз ниже. Для онкологических заболеваний (203,5 случаев на 100 000 населения) данный показатель будет ниже в 3 раза.

Таблица 2. Сравнение грубых годовых показателей смертности от всех причин в ОГО

Год	Pearson χ^2 p-value	P-rep, %	Год	Pearson χ^2 p-value	P-rep, %
2010	$5,8 \times 10^{-7}$	93	2010	0,86	–
2011	$1,8 \times 10^{-6}$	92	2011	0,98	–
2012	$7,6 \times 10^{-7}$	93	2012	0,84	–
2013	$1,0 \times 10^{-8}$	94	2013	0,32	67
2014	$1,4 \times 10^{-5}$	92	2014	0,69	–
2015	$2,3 \times 10^{-5}$	91	2015	0,63	–
2016	$9,3 \times 10^{-4}$	89	2016	0,16	28
2017	$1,7 \times 10^{-5}$	92	2017	0,68	–
2018	$8,7 \times 10^{-5}$	91	2018	0,43	89
2019	$2,6 \times 10^{-6}$	92	2019	–	–
2020	–	–	2020	$2,6 \times 10^{-6}$	92

Таблица 3. Число коек в медицинских организациях Челябинской области, оказывающих помощь в стационарных условиях за период 2016–2020 гг.

Профиль коек	Число коек на конец года					Изменение 2019–2020
	2016	2017	2018	2019	2020	
Неинфекционный	20064	19525	19124	19035	15846	–3189
Инфекционный	1230	1209	1180	1134	6355	5221

Исходя из данного предположения, можно ожидать, что число избыточных смертей в ОГО в случае, когда COVID-19 не являлся основной причиной смерти, составит 132. Эти случаи смерти могут быть связаны либо с заболеванием COVID-19 как косвенной причины смерти, либо с другими причинами, не обусловленными COVID-19, но в то же время значимо связанными с влиянием пандемии.

Вследствие стремительного распространения заболевания COVID-19 в начале 2020 г. правительствами большинства стран, включая Россию, был принят ряд ограничительных мер, направленных на снижение числа инфицированных и улучшение оказания медицинской помощи больным с признаками инфекции SARS-CoV-2. Несмотря на безусловную необходимость данных действий в условиях пандемии, принятые меры имели как медицинские, так и социально-экономические последствия. Так, число коек неинфекционного профиля в стационарах Челябинской области в 2020 г. резко сократилось в пользу инфекционных коек для лечения больных с COVID-19 (табл. 3).

Перепрофилирование части стационаров и лечебно-диагностических отделений в инфекционные привело к сокращению объема оказания медицинской помощи больным с хроническими неинфекционными заболеваниями, такими как болезни системы кровообращения или онкологические заболевания, смертность от которых традиционно наиболее высока, по сравнению с другими причинами, включая инфекционные заболевания [24]. Данные изменения особенно значимы для лиц старше 60 лет, для которых характерна наиболее высокая смертность [12, 25] в связи с наличием хронической коморбидной патологии [26], доля которых среди населения ОГО на конец 2020 г. составляла 29%. Ситуацию усугубили локальные карантинные мероприятия, введенные во многих учреждениях здравоохранения на фоне нехватки специалистов, занимающихся оказанием медицинской помощи больным COVID-19. Все это

свидетельствует о том, что система здравоохранения испытывала серьезные трудности при работе в режиме пандемии [27], которые могли обусловить повышение смертности населения и от неинфекционных заболеваний.

Таким образом, в условиях пандемии наряду с COVID-19-ассоциированной смертностью необходимо также выделять избыточную смертность, не связанную напрямую с действием инфекционного агента и обусловленную влиянием факторов социально-экономической природы, эффективность которых в отношении снижения смертности от COVID-19 в настоящее время широко обсуждают [28]. Исходя из вышеизложенного, при планировании санитарно-противоэпидемических мероприятий в условиях пандемии требуется учитывать комплексный характер возможных санитарных потерь среди населения.

ВЫВОДЫ

Объявление глобальной пандемии COVID-19 в 2020 г. оказало существенное негативное влияние на демографическую ситуацию в ОГО. Выявлен достоверный рост общей смертности населения ОГО по сравнению с предыдущим десятилетием. Избыточная смертность, которую можно отнести к влиянию пандемии COVID-19, составила 19%. Относимый к влиянию пандемии избыток общей смертности в 2020 г. составляет 13,4%, а ожидаемое значение специфического показателя смертности, обусловленной COVID-19, составляет 4,2%. Согласно проведенному анализу, влияние COVID-19 статистически значимо, но не играет преобладающей роли в демографических потерях для населения ОГО. Однако в связи с длительным характером течения пандемии COVID-19 необходимы дальнейшие исследования для установления взаимосвязи непосредственного влияния инфекционного агента SARS-CoV-2 и социально-экономических последствий, вызванных объявлением пандемии, которые могут играть значимую роль в оценке риска смертности.

Литература

- Lotfi M, Hamblin MR, Rezaei N. COVID-19: Transmission, prevention, and potential therapeutic opportunities. *Clin Chim Acta*. 2020; 508: 254–66. DOI: 10.1016/j.cca.2020.05.044.
- Müller O, Neuhann F, Razum O. Epidemiologie und Kontrollmaßnahmen bei COVID-19 [Epidemiology and control of COVID-19]. *Dtsch Med Wochenschr*. 2020; 145 (10): 670–74. DOI: 10.1055/a-1162-1987.
- Modig K, Ahlbom A, Matthews A. COVID-19 — deaths and analysis. *Lakartidningen*. 2020; 117: F3XL. PMID: 32365212.
- Lai CC, Shih TP, Ko WC. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *Int J Antimicrob Agents*. 2020; 55 (3): 105924. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105924.
- Ensheng D, Hongru D, Lauren G. An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. *The Lancet Infectious Diseases*. 2020; 20 (5): 533–34. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30120-1.
- Новосёлов В. Н., Носач Ю. Ф., Ентяков Б. Н. Атомное сердце России. Челябинск: Изд-во «Автограф», 2014; 528 с.
- Федеральная целевая программа «Обеспечение ядерной и радиационной безопасности на 2016–2020 годы и на период до 2030 года». Доступно по ссылке (дата обращения 22.02.2022): <http://фцп-яpb2030.рф/about/overview/>.
- Драпкина О. М., Самородская И. В., Сивцева М. Г., Какорина Е. П., Брико Н. И., Черкасов С. Н. и др. Методические аспекты оценки заболеваемости, распространенности, летальности и смертности при COVID-19. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2020; 19 (3): 302–09. DOI:10.15829/1728-8800-2020-2585.
- Weiss P, Murdoch DR. Clinical course and mortality risk of severe COVID-19. *The Lancet*. 2020; 395: 1014–5.
- Дружинин П. В., Молчанова Е. В. Смертность населения российских регионов в условиях пандемии

- COVID-19. Регионология. 2021; 29 (3): 666–85. DOI: 10.15507/24131407.116.029.202103.666-685.
11. Lifshits ML, Neklyudova NP. COVID-19 mortality rate in Russian regions: forecasts and reality. *R-economy*. 2020; 6 (3): 171–82. DOI: 10.15826/recon.2020.6.3.015.
 12. Дружинин П. В., Молчанова Е. В., Подлевских Ю. Л. Влияние пандемии Covid-19 на смертность населения российских регионов. Труды Карельского научного центра РАН. 2021; 7: 116–128. DOI: 10.17076/them1421.
 13. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ). Оценка показателей смертности от Covid-19. Доступно по ссылке (дата обращения 22.02.2022): <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/estimating-mortality-from-covid-19>.
 14. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, Crawford JM, McGinn T, Davidson KW, et al. Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York City Area. *JAMA*. 2020; 323 (20): 2052–9. DOI: 10.1001/jama.2020.6775.
 15. Grasselli G, Zangrillo A, Zanella A, Antonelli M, Cabrini L, Castelli A, et al. COVID-19 Lombardy ICU Network. Baseline Characteristics and Outcomes of 1591 Patients Infected With SARS-CoV-2 Admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. *JAMA*. 2020; 323 (16): 1574–81. DOI: 10.1001/jama.2020.5394.
 16. Obesnyuk VF. Group health risk parameters in a heterogeneous cohort. Indirect assessment as per events taken in dynamics. *Health Risk Analysis*. 2021; 2: 17–32. DOI: 10.21668/health.risk/2021.2.02.eng.
 17. Паспорт Озёрского городского округа. Доступно по ссылке (дата обращения 22.02.2022): <http://ozerskadm.ru/regulatory/passport/>.
 18. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины. М.: Изд-во «Медиа Сфера», 1998; 352 с.
 19. Мерков А. М., Сухаребский Л. М. Статистика на службе народного здоровья. М.: Изд-во «Статистика», 1968; 48 с.
 20. Abramson, JH. WINPEPI updated: computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. *Epidemiologic Perspectives & Innovations*. 2011; 8 (1). DOI: 10.1186/1742-5573-8-1.
 21. Reality check on reproducibility. *Nature*. 2016; 533 (7604): 437. DOI: 10.1038/533437a.
 22. Регионы России. Социально-экономические показатели. Статистический сборник. 2020. Доступно по ссылке (дата обращения 22.02.2022): https://gks.ru/bgd/regl/b20_14p/Main.htm.
 23. Федеральная служба государственной статистики «Росстат». Доступно по ссылке (дата обращения 22.02.2022): <https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/TwbjciZH/edn12-2020.html>.
 24. Здравоохранение в России. Стат. сб. М.: Изд-во «Росстат», 2021; 171 с.
 25. Blagosklonny MV. From causes of aging to death from COVID-19. *Aging (Albany NY)*. 2020; 12 (11): 10004–21. DOI: 10.18632/aging.103493.
 26. Guan WJ, Liang WH, Zhao Y, Liang HR, Chen ZS, Li YM, et al. China Medical Treatment Expert Group for COVID-19. Comorbidity and its impact on 1590 patients with COVID-19 in China: a nationwide analysis. *Eur Respir J*. 2020; 55 (5): 2000547. DOI: 10.1183/13993003.00547-2020.
 27. Bong CL, Brasher C, Chikumba E, McDougall R, Mellin-Olsen J, Enright A. The COVID-19 Pandemic: Effects on Low- and Middle-Income Countries. *Anesth Analg*. 2020; 131 (1): 86–92. DOI: 10.1213/ANE0000000000004846.
 28. Herby J, Joung L, Hanke S. A Literature Review and Meta-Analysis of the Effects of Lockdowns on COVID-19 Mortality. *Studies in Applied Economics*. 2022; 200: 1–61.

References

1. Lotfi M, Hamblin MR, Rezaei N. COVID-19: Transmission, prevention, and potential therapeutic opportunities. *Clin Chim Acta*. 2020; 508: 254–66. DOI: 10.1016/j.cca.2020.05.044.
2. Müller O, Neuhann F, Razum O. Epidemiologie und Kontrollmaßnahmen bei COVID-19 [Epidemiology and control of COVID-19]. *Dtsch Med Wochenschr*. 2020; 145 (10): 670–74. DOI: 10.1055/a-1162-1987.
3. Modig K, Ahlbom A, Matthews A. COVID-19 — deaths and analysis. *Lakartidningen*. 2020; 117: F3XL. PMID: 32365212.
4. Lai CC, Shih TP, Ko WC. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *Int J Antimicrob Agents*. 2020; 55 (3): 105924. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105924.
5. Ensheng D, Hongru D, Lauren G. An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. *The Lancet Infectious Diseases*. 2020; 20 (5): 533–34. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30120-1.
6. Novoselov VN, Nosach YuF, Entyakov BN. Atomnoe serdce Rossii. Chelyabinsk: Izd-vo «Avtograf», 2014; 528 s. Russian.
7. Federal'naya celevaya programma «Obespechenie yadernoj i radiacionnoj bezopasnosti na 2016–2020 gody i na period do 2030 goda». Dostupno po ssylke (data obrashheniya 22.02.2022): <http://fcp-yarb2030.rf/about/overview/>. Russian.
8. Drapkina OM, Samorodskaya IV, Sivceva MG, Kakorina EP, Briko NI, Cherkasov SN, i dr. Metodicheskie aspekty ocenki zaboлеваemosti, rasprostranennosti, letal'nosti i smertnosti pri COVID-19. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika*. 2020; 19 (3): 302–09. DOI: 10.15829/1728-8800-2020-2585. Russian.
9. Weiss P, Murdoch DR. Clinical course and mortality risk of severe COVID-19. *The Lancet*. 2020; 395: 1014–5.
10. Druzhinin PV, Molchanova EV. Smertnost' naseleniya rossijskix regionov v usloviyax pandemii COVID-19. *Regionologiya*. 2021; 29 (3): 666–85. DOI: 10.15507/24131407.116.029.202103.666-685. Russian.
11. Lifshits ML, Neklyudova NP. COVID-19 mortality rate in Russian regions: forecasts and reality. *R-economy*. 2020; 6 (3): 171–82. DOI: 10.15826/recon.2020.6.3.015.
12. Druzhinin PV, Molchanova EV, Podlevskikh YuL. Vliyanie pandemii Covid-19 na smertnost' naseleniya rossijskix regionov. *Trudy Karelskogo nauchnogo centra RAN*. 2021; 7: 116–128. DOI: 10.17076/them1421. Russian.
13. Vsemirnaya organizaciya zdavooxraneniya (VOZ). Ocenka pokazatelej smertnosti ot Covid-19. Dostupno po ssylke (data obrashheniya 22.02.2022): <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/estimating-mortality-from-covid-19>. Russian.
14. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, Crawford JM, McGinn T, Davidson KW, et al. Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York City Area. *JAMA*. 2020; 323 (20): 2052–9. DOI: 10.1001/jama.2020.6775.
15. Grasselli G, Zangrillo A, Zanella A, Antonelli M, Cabrini L, Castelli A, et al. COVID-19 Lombardy ICU Network. Baseline Characteristics and Outcomes of 1591 Patients Infected With SARS-CoV-2 Admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. *JAMA*. 2020; 323 (16): 1574–81. DOI: 10.1001/jama.2020.5394.
16. Obesnyuk VF. Group health risk parameters in a heterogeneous cohort. Indirect assessment as per events taken in dynamics. *Health Risk Analysis*. 2021; 2: 17–32. DOI: 10.21668/health.risk/2021.2.02.eng.
17. Paspport Ozyorskogo gorodskogo okruga. Dostupno po ssylke (data obrashheniya 22.02.2022): <http://ozerskadm.ru/regulatory/passport/>. Russian.
18. Fletcher R, Fletcher S, Vagner Eh. Klinicheskaya ehpidemiologiya. Osnovy dokazatel'noj mediciny. M.: Izd-vo «Media Sfera», 1998; 352 s. Russian.
19. Merkov AM, Suxarebskij LM. Statistika na sluzhbe narodnogo zdorov'ya. M.: Izd-vo «Statistika», 1968; 48 s. Russian.
20. Abramson, JH. WINPEPI updated: computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. *Epidemiologic Perspectives & Innovations*. 2011; 8 (1). DOI: 10.1186/1742-5573-8-1.
21. Reality check on reproducibility. *Nature*. 2016; 533 (7604): 437. DOI: 10.1038/533437a.

22. Regiony Rossii. Social'no-ehkonomicheskie pokazateli. Statisticheskij sbornik. 2020. Dostupno po ssylke (data obrashheniya 22.02.2022): https://gks.ru/bgd/regl/b20_14p/Main.htm. Russian.
23. Federal'naya sluzhba gosudarstvennoj statistiki «Rosstat». Dostupno po ssylke (data obrashheniya 22.02.2022): <https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/TwbjciZH/edn12-2020.html>. Russian.
24. Zdravooxranenie v Rossii. Stat. sb. M.: Izd-vo «Rosstat», 2021; 171 s. Russian.
25. Blagosklonny MV. From causes of aging to death from COVID-19. Aging (Albany NY). 2020; 12 (11): 10004–21. DOI: 10.18632/aging.103493.
26. Guan WJ, Liang WH, Zhao Y, Liang HR, Chen ZS, Li YM, et al. China Medical Treatment Expert Group for COVID-19. Comorbidity and its impact on 1590 patients with COVID-19 in China: a nationwide analysis. Eur Respir J. 2020; 55 (5): 2000547. DOI: 10.1183/13993003.00547-2020.
27. Bong CL, Brasher C, Chikumba E, McDougall R, Mellin-Olsen J, Enright A. The COVID-19 Pandemic: Effects on Low- and Middle-Income Countries. Anesth Analg. 2020; 131 (1): 86–92. DOI: 10.1213/ANE0000000000004846.
28. Herby J, Joung L, Hanke S. A Literature Review and Meta-Analysis of the Effects of Lockdowns on COVID-19 Mortality. Studies in Applied Economics. 2022; 200: 1–61.

СКРИНИНГ АКТИВНОСТИ ИНКОРПОРИРОВАННЫХ РАДИОНУКЛИДОВ У ПЕРСОНАЛА НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Ю. С. Турлаков¹, Ю. В. Грабский, Д. В. Арефьева², А. А. Шаяхметова, В. Б. Фирсанов, А. В. Петушок

Научно-исследовательский институт промышленной и морской медицины Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Исследование особенностей формирования радиационной обстановки на рабочих местах и оценка индивидуальных эффективных доз облучения персонала научно-исследовательских организаций при выполнении работ с открытыми источниками ионизирующих излучений (ИИИ) является актуальной научной задачей в связи с наличием дополнительных рисков из-за вариативности условий и режимов выполнения технологических операций. Целью работы было оценить условия труда и поступление радионуклидов в организм персонала АО «Радиевый институт им. В. Г. Хлопина», работающего с открытыми ИИИ. Данные об уровне воздействия производственных факторов радиационной природы на персонал получены в ходе дозиметрических, радиометрических и спектрометрических измерений. Установлено, что радиационная обстановка на рабочих местах персонала характеризуется широким диапазоном уровней мощности амбиентного эквивалента дозы гамма-излучения (0,10–122 мкЗв/ч), наличием поверхностного загрязнения рабочих поверхностей альфа- и бета-частицами, наличием загрязнения радиоактивными веществами воздуха рабочих помещений. В результате спектрометрических исследований обнаружено наличие у отдельных лиц из персонала ¹²⁵I в щитовидной железе (до 9850 Бк), ⁹⁰Sr — в скелете (до 16 500 Бк), ¹³⁷Cs — во всем теле (до 1100 Бк) и др. Результаты исследований могут быть основой для разработки мероприятий по повышению качества контроля индивидуальных доз внутреннего облучения и эффективности медицинского обеспечения персонала научно-исследовательских организаций, имеющего контакт с открытыми ИИИ.

Ключевые слова: внутреннее облучение, персонал, радиационный фактор, условия труда

Финансирование: Государственный контракт от 15.07.2019 № 35.102.19.2 на выполнение прикладной научно-исследовательской работы «Обоснование направлений совершенствования системы контроля внутреннего облучения персонала научно-исследовательских институтов, обслуживаемых Федеральным медико-биологическим агентством (на примере АО «Радиевый институт им. В. Г. Хлопина»)» (шифр «СИЧ-19»).

Вклад авторов: Ю. С. Турлаков¹, Ю. В. Грабский — общее руководство исследованием, финальная редакция статьи; Д. В. Арефьева — планирование, организация и анализ результатов исследования, подготовка статьи; А. А. Шаяхметова — проведение радиометрических исследований, обработка и анализ полученных данных; В. Б. Фирсанов — проведение спектрометрических, дозиметрических и радиометрических исследований, обработка полученных данных; А. В. Петушок — проведение дозиметрических и радиометрических исследований, обработка полученных данных.

✉ **Для корреспонденции:** Дарья Владимировна Арефьева
пр. Юрия Гагарина, д. 65, литер А, г. Санкт-Петербург, 196128, Россия; niipmm.210@gmail.com

Статья получена: 24.03.2022 **Статья принята к печати:** 04.05.2022 **Опубликована онлайн:** 18.05.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.014

SCREENING THE ACTIVITY OF INCORPORATED RADIONUCLIDES IN THE RESEARCH ORGANIZATION EMPLOYEES

Turlakov YuS¹, Grabsky YuV, Arefeva DV², Shayakhmetova AA, Firsanov VB, Petushok AV

Scientific Research Institute of Marine and Industrial Medicine of the Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russia

Studying the features of radiological situation in the workplace and assessing the individual effective doses in employees of research organizations working with open radiation sources (RS) are an urgent scientific task due to additional risks resulting from variability in the conditions and regimes of the technological operations. The study was aimed to assess the working conditions and intake of radionuclides by the employees of the V. G. Khlopin Radium Institute working with open RS. The data on exposure to work-related radiation factors were obtained by dosimetry, radiometry, and spectrometry. It was found that radiological situation in the employees' workplaces was characterized by the broad range of the gamma ambient dose equivalent rate values (0.10–122 μSv/h), alpha and beta working surface contamination, radioactive pollution of air in the working areas. In some individuals, spectrometry revealed the following: ¹²⁵I in the thyroid gland (up to 9,850 Bq), ⁹⁰Sr in the skeleton (up to 16,500 Bq), ¹³⁷Cs in the whole body (up to 1,100 Bq), etc. The findings can provide the basis for developing the measures to improve the quality of individual internal dose control and the efficiency of medical care provision to the research organization employees dealing with open RS.

Keywords: internal exposure, personnel, radiation factor, working conditions

Funding: state contract dated July 15, 2019 № 35.102.19.2 on implementation of the applied research project Justification of Directions for Improving the Internal Exposure Monitoring System for Employees of Research Institutes Serviced by the Federal Medical and Biological Agency (on the example of V. G. Khlopin Radium Institute) (code: SIЧH-19).

Author contributions: Turlakov YuS¹, Grabsky YuV — overall study management, final version of the article; Arefeva DV — planning, arrangement, analysis of the research results, manuscript writing; Shayakhmetova AA — radiometric survey, data processing and analysis; Firsanov VB — spectrometry, dosimetry, and radiometric survey, data processing; Petushok AV — dosimetry and radiometric survey, data processing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Daria V. Arefeva
Yuri Gagarin prospect, 65, liter A, St. Petersburg, 196128, Russia; niipmm.210@gmail.com

Received: 24.03.2022 **Accepted:** 04.05.2022 **Published online:** 18.05.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.014

Активное развитие атомной промышленности и ядерной медицины приводит к увеличению объемов работ с радиоактивными веществами, в том числе с открытыми источниками ионизирующих излучений. При выполнении таких работ на персонал воздействует комплекс вредных и (или) опасных производственных факторов радиационной природы: мощность амбиентного эквивалента дозы

гамма-излучения, загрязнение поверхностей альфа- и бета-частицами, загрязнение воздуха рабочих помещений радиоактивными веществами, что увеличивает риск поступления радионуклидов в организм работников. Обязательная оценка внутреннего облучения и прогнозирование последствий его воздействия на здоровье человека является актуальной научной

проблемой, которая несмотря на достигнутые успехи экспериментальных и клинических исследований в этой области остается недостаточно изученной [1, 2].

Использование открытых источников ионизирующих излучений (ИИИ) при проведении научных исследований сопряжено с дополнительными рисками из-за вариативности условий и режимов выполнения технологических операций в зависимости от решаемых задач. Согласно данным производственного контроля, индивидуальная эффективная доза внутреннего облучения работников предприятий и организаций, чья профессиональная деятельность связана с источниками ионизирующих излучений, не превышает предельно допустимых значений. Вместе с тем, в ряде случаев, особенно при выполнении нестандартных технологических операций или в нестандартных ситуациях, возрастает риск поступления и накопления в организме работников радионуклидов, присутствующих в производственной среде. В зависимости от путей поступления и физико-химических свойств радионуклидов различают способы оценки ожидаемой эффективной дозы внутреннего облучения, которую в настоящее время проводят либо по данным дозиметрического контроля рабочих мест, либо по данным индивидуального дозиметрического контроля (прямыми или косвенными методами измерений) [3].

В ходе профессиональной деятельности персонал получает облучение так называемыми «малыми дозами», для которых характерен риск возникновения стохастических эффектов [4, 5]. В связи с этим при прогнозировании последствий радиационного воздействия на организм человека от внутреннего облучения необходимо также учитывать вид излучений (альфа-, бета-, гамма- и др.), длительность периода полураспада инкорпорированных радионуклидов, длительность их пребывания в организме, локализацию в органах и тканях.

Целью настоящего исследования было провести радиационно-гигиеническую оценку условий труда и поступления радионуклидов в организм персонала АО «Радиовый институт им. В. Г. Хлопина», работающего с открытыми источниками ионизирующих излучений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования: система индивидуального дозиметрического контроля внутреннего облучения персонала научно-исследовательской организации, работающего с открытыми источниками ионизирующих излучений (ИИИ).

Исследование выполнено в 2019–2021 гг. на базе АО «Радиовый институт им. В. Г. Хлопина».

Для получения исходных данных о характеристиках вредных и (или) опасных производственных факторов радиационной природы, воздействующих на обследуемый персонал, были проведены измерения следующих величин:

- мощности AMBIENTНОГО эквивалента дозы (МАЭД) гамма-излучения;
- спектрального состава гамма-излучающих радионуклидов на рабочих местах (спектрометрические измерения);
- снимаемого радиоактивного загрязнения рабочих поверхностей;
- плотности потока альфа- и бета-частиц;
- объемной активности радионуклидов в воздухе рабочих помещений.

Измерение МАЭД гамма-излучения проводили с использованием дозиметра ДКС-АТ1123 («Атомтех»;

Республика Беларусь) в соответствии с требованиями Руководства по эксплуатации на прибор и Методическими указаниями МУ 2.6.5.008-2016 «Контроль радиационной обстановки. Общие требования». Для получения картины формирования радиационных полей на рабочем месте измерения выполняли в каждой точке на четырех высотах от пола: 0,1 м, 1 м, 1,4 м и 1,7 м. Измерение уровней загрязнения рабочих поверхностей бета- и альфа-частицами проводили с использованием дозиметра-радиометра МКС-АТ1117М («Атомтех»; Республика Беларусь) в соответствии с требованиями Руководства по эксплуатации на прибор. Расширенную относительную неопределенность ($k = 2$) измерения принимали равной относительной погрешности средства измерения в предположении нормального распределения показаний.

Измерение снимаемого поверхностного загрязнения осуществляли косвенным методом путем снятия мазков и последующего определения их активности в соответствии с нормативными документами [6, 7], расчет неопределенности измерений проводился по методике выполнения измерений [7].

Пробы воздуха в рабочих помещениях для определения объемной активности воздуха отбирали с использованием аспиратора ПА-300М-1 («Экотех-Урал»; Россия) на аэрозольные фильтры АФА РСР-20 (ООО «Технологии электроформирования», Россия) и йодные фильтры АФА СРФ-20 (ООО «Технологии электроформирования», Россия) в соответствии с требованиями Руководства по эксплуатации на прибор с дальнейшим измерением на спектрометре-радиометре МКГБ-01 «РАДЭК» (НТЦ «РадЭК»; Россия). Расширенную неопределенность измерения рассчитывали с учетом погрешности определения коэффициента чувствительности спектрометра (8%), погрешности определения объема отобранной пробы атмосферного воздуха (10%) и методической погрешности, обусловленной несоответствием состава счетного образца (5%), которая составила 16%.

Спектрометрическое обследование персонала, выполняющего работы с ИИИ (45 человек, из них 34 — в 2019 г. и 21 — в 2020 г.), и персонала контрольной группы (10 человек) осуществляли с использованием метода прямого измерения содержания радионуклидов в организме или органе человека с применением спектрометров излучения человека СЕГ-10П-02 (НТЦ «РадЭК»; Россия) и СИЧ-100 (ФГБУН НИИ ПММ ФМБА России; Россия). Критерии включения в исследование: работа с открытыми ИИИ в течение последнего года перед проведением обследования. Критерии включения в группу контроля: отсутствие контакта с открытыми ИИИ при работе. Измерения выполняли путем регистрации фотонного излучения, исходящего от тела человека. На спектрометре СИЧ-100 измерения проводили в геометрии «линейное продольное сканирование», на спектрометре СЕГ-10П-02 — в геометрии измерения «легкие» и «щитовидная железа». Определение содержания радионуклида ^{90}Sr в костной ткани скелета проводили по спектру тормозного излучения в энергетическом интервале 50–150 кэВ, регистрируемого двумя сцинтилляционными блоками детектирования на основе монокристаллов CsI(Tl) размером $\varnothing 150 \times 3$ мм, входящими в состав установки СИЧ-100. Продолжительность измерения составила 30 мин на каждом спектрометре.

Градуировку спектрометра СИЧ-100 проводили с помощью унифицированного фантома УФ-02Т и антропоморфного фантома АРДФ-11-С с радионуклидом

Таблица 1. Результаты измерений МАЭД гамма-излучения, плотности потока альфа- и бета-частиц на рабочих местах персонала

Содержание работ на рабочем месте	Диапазон измеренных значений МАЭД, мкЗв/ч	Максимальные значения плотности потока, частиц/(см ² × мин)	
		альфа-частиц	бета-частиц
Аналитические операции с высокоактивными растворами, гамма-абсорбциометрия, работа с образцами проб в вытяжных шкафах и боксе	4,0–53,0	30	1830
Технологические операции с высокоактивными растворами, фасовка и выдача препаратов ⁹⁰ Sr	5,0–122,0	Нет данных	1100
Вскрытие ампул, растворение, калибровка растворов и изготовление источников	3,4–56,0	4,2	4000
Приготовление имитационного раствора, содержащего ⁹⁰ Sr, ¹³⁷ Cs, ²⁴¹ Am, ¹⁵² Eu и другие изотопы. Экстракционное выделение ⁹⁰ Sr, ¹³⁷ Cs из имитационного раствора. Приготовление азотнокислого раствора ²³⁸ U и ²³⁹ Pu. Получение порошков оксидов ²³⁸ U и ²³⁹ Pu, сорбционная очистка от примесей, фасовка	0,5–4,3	0,8	15
Фасовка ¹²⁵ I	0,9–18,2	< 0,1	1680
Экстракционное и хроматографическое разделение продуктов переработки отработавшего ядерного топлива и облученного ²²⁶ Ra	0,4–4,6	29	32
Операции по приему, рубке, хранению и передаче отработавшего ядерного топлива и высокоактивных материалов, перефасовке и выгрузке радиоактивных отходов	0,1–0,6	0,4	30
Растворение, осаждение, выпаривание, осветление компонентов отработавшего ядерного топлива	0,1–0,2	< 0,1	200
Экстракция, выпаривание, отверждение радиоактивных отходов	0,1–0,3	< 0,1	20
Работы по дезактивации и ремонту технологического оборудования, сортировка, упаковка и подготовка к вывозу радиоактивных отходов	11,0–54,5	78	1680

Примечание: значения вычислены с учетом расширенной неопределенности измерений ($k = 2$).

⁹⁰Sr в скелете. Фантом УФ-02Т представлен набором полиэтиленовых блоков и набором стержневых радионуклидных источников, которые на месте эксплуатации были собраны в виде моделей — фантомов тела человека с заданным содержанием радионуклидов. Фантом АРДФ-11-С представляет собой сборную конструкцию, состоящую из антропоморфных моделей органов (щитовидной железы, печени, легких, почек и др.), скелета и покровных тканей, изготовляемых из материалов-имитаторов биологических тканей, адекватных тканям тела человека в отношении взаимодействия с ионизирующим излучением.

Для градуировки спектрометра излучений человека СЕГ-10П-02 в геометрии «легкие» применяли способ прямой градуировки с использованием фантома грудной клетки ФЛТ-05 в сборе с фантомом «стандартного» взрослого человека (масса — 70 кг, рост — 170 см). Внутри фантома грудной клетки расположен полиуретановый блок — имитатор легких, оснащенный объемными ИИИ с радионуклидами ⁶⁰Co, ¹⁵²Eu и ²⁴¹Am. Градуировку проводили последовательно с каждым из указанных радионуклидов.

Для измерения активности ¹²⁵I в щитовидной железе применяли блок детектирования на основе «тонкого» монокристалла NaI(Tl), который был предварительно откалиброван по характеристическому излучению ¹³³Ba с использованием фантома щитовидной железы ФЩЖ-04Т. Фантом представляет собой модель шеи человека с вложенными в его полость двумя радионуклидными источниками ¹³³Ba, расположенными соответственно долям щитовидной железы. Поскольку в поле детектирования прибора помимо щитовидной железы также попадают кровеносные сосуды шеи, для учета их вклада проводили измерение фонового энергетического спектра излучения от области предплечья.

Расширенную неопределенность для уровня доверия $P = 0,95$ и коэффициента охвата $k = 2$ для спектрометров

СЕГ-10П-02 и СИЧ-100 рассчитывали с учетом погрешности определения коэффициентов чувствительности спектрометра по фантомам (8%), методической погрешности, обусловленной неравномерностью распределения активности в теле и органах человека (10%) и методической погрешности, обусловленной неполной адекватностью фантомов и тела человека (20%), которая составила 24%.

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных методов, применяемых при анализе радиационно-гигиенических и медико-биологических данных. Для всех показателей рассчитывали среднее арифметическое, медиану, стандартную ошибку среднего значения, достоверность различий при условии значимости $p = 0,95$. Все вычисления проводили с использованием современных программных продуктов (Microsoft Excel, версия Professional Plus 2010; США), предназначенных для работы с электронными таблицами, а также визуализации и анализа данных.

Условия труда персонала оценивали в соответствии с нормативными документами [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При проведении радиационно-гигиенического исследования рабочих мест персонала научно-исследовательской организации было обследовано 17 производственных помещений, в которых выполняются работы с открытыми ИИИ. Результаты измерений мощности амбиентного эквивалента дозы гамма-излучения, плотности потока альфа- и бета-частиц на рабочих местах персонала приведены в табл. 1.

Наибольшие уровни МАЭД гамма-излучения имеют место при выполнении работ с высокоактивными растворами. Максимальные значения плотности потока бета-частиц зарегистрированы при выполнении работ по

Таблица 2. Характеристики внутреннего облучения обследованного персонала

Радионуклид	Активность радионуклида, Бк	Ожидаемая эквивалентная доза внутреннего облучения, мЗв в год
^{137}Cs	120–1100	0,001–0,004 (на все тело)
^{90}Sr	5200–16500	0,3; 0,9 (на костную ткань)
^{226}Ra	360–770	0,47–1,00 (на костную ткань)
^{223}Ra	550–2800	0,9; 4,8 (на костную ткань)
^{125}I	2930–9850	0,18–2,1 (на щитовидную железу)
^{60}Co	840	0,03 (на легкие)

вскрытию ампул, растворению, калибровке растворов и изготовлению источников. На рабочих местах было также зафиксировано радиоактивное загрязнение поверхностей альфа-частицами в количестве, не превышающем нормативные значения в соответствии с требованиями НРБ-99/2009. В связи с наличием поверхностного загрязнения на рабочих местах персонала дополнительно были проведены измерения снимаемой поверхностной активности и объемной активности радионуклидов в воздухе рабочей зоны.

По результатам измерения уровней загрязнения поверхностей альфа- и бета-частицами на рабочих местах персонала зарегистрировано наличие снимаемой поверхностной активности в количестве, не превышающем допустимые значения, установленные в НРБ-99/2009 [9]. Наибольшие уровни снимаемого загрязнения поверхностей бета-частицами (^{90}Sr) зарегистрированы при работах по вскрытию ампул, растворению, калибровке растворов и изготовлению источников.

По результатам измерений объемной активности радионуклидов в воздухе рабочей зоны наибольшие значения зарегистрированы при работах с радионуклидами ^{125}I и ^{137}Cs (объемная активность ^{125}I — 240 Бк/м³, ^{137}Cs — 315 Бк/м³).

На основании результатов радиационного контроля в соответствии с требованиями нормативного документа [8] проведены расчеты максимальной потенциальной эффективной дозы персонала при выполнении технологических операций. Установлено, что условия труда персонала, работающего с открытыми ИИИ, по характеристикам воздействия вредных и (или) опасных производственных факторов радиационной природы находятся в диапазоне от допустимых (класс 2) до опасных (класс 4).

Согласно данным за 2016–2019 гг., значения индивидуальных эффективных доз внешнего облучения персонала в среднем составили 3,4 мЗв в год, что значительно ниже установленного предела доз облучения для персонала группы А. Наибольшие значения зарегистрированы у работников по специальности «ведущий инженер-технолог» и в среднем за четыре года составили 7,5 мЗв.

При проведении спектрометрического обследования у ряда лиц из персонала, осуществляющего работу с открытыми ИИИ, было выявлено наличие в организме инкорпорированных радионуклидов (табл. 2). В таблице представлены также значения ожидаемой эквивалентной дозы внутреннего облучения персонала, обусловленной

поступлением радионуклидов в организм. Расчет производили с учетом полученных данных спектрометрии справочных дозовых коэффициентов [10, 11].

Кроме представленных в табл. 2 радионуклидов, у троих работников обнаружен инкорпорированный ^{241}Am . Ввиду отсутствия необходимой градуировки использованного измерительного оборудования определение точных значений активности данного радионуклида в скелете не представляется возможным.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Согласно полученным результатам радиометрических исследований, радиационная обстановка на рабочих местах персонала научно-исследовательской организации, выполняющего работы с открытыми ИИИ, можно охарактеризовать:

- широким диапазоном уровней МАЭД гамма-излучения (0,10–122 мкЗв/ч);

- наличием поверхностного загрязнения рабочих поверхностей альфа- и бета-частицами (в отобранных мазках с рабочих поверхностей обнаружены следующие радионуклиды: ^{137}Cs , ^{125}I , ^{241}Am , ^{154}Eu , ^{243}Am с дочерним продуктом распада ^{239}Np и ^{223}Ra с дочерним продуктом распада ^{211}Bi);

- наличием загрязнения радиоактивными веществами воздуха рабочих помещений (в том числе такими радионуклидами, как ^{125}I и ^{137}Cs).

У отдельных лиц установлено наличие ^{125}I в щитовидной железе (до 9850 Бк), ^{90}Sr — в скелете (до 16500 Бк), ^{137}Cs — во всем теле (до 1100 Бк). Обращает на себя внимание обнаружение поступления в организм работников ^{223}Ra , период полураспада которого составляет 11 дней и вклад которого в дозу внутреннего облучения значительно выше по сравнению с другими радионуклидами.

Факт инкорпорации радионуклидов подтвержден периодическими спектрометрическими исследованиями одних и тех же работников в 2019 и 2020 г. Данный персонал следует отнести к группе повышенного риска развития профессиональных, производственно обусловленных и хронических заболеваний.

В настоящее время в рассматриваемой научно-исследовательской организации контроль ожидаемой эффективной дозы внутреннего облучения персонала проводят расчетными методами (по данным дозиметрического контроля рабочих мест), который недостаточно эффективен при выполнении работ с широким перечнем радионуклидов, в том числе

короткоживущих. В связи с этим одним из направлений повышения эффективности системы дозиметрического контроля внутреннего облучения персонала, работающего с открытыми ИИИ, является разработка программы проведения скрининговых исследований с использованием портативных спектрометров. Целью исследований является установление факта поступления радионуклидов в организм и определение их состава. В случае обнаружения поступления радионуклида в организм работника — проведение исследований на высокоточных спектрометрах излучения человека в специализированных учреждениях. Такой подход предоставит сотрудникам службы радиационной безопасности основные инструменты для эффективной реализации программы контроля внутреннего облучения [12–14].

С целью накопления и статистической обработки данных об уровнях внешнего и внутреннего облучения персонала в условиях планируемого облучения, а также результатов периодических медицинских осмотров разработана и зарегистрирована база данных [15]. Внедрение ее в практику позволит оценить общие тенденции в профессиональном облучении персонала и проанализировать результаты исследований с целью выявления степени связи заболеваемости профессиональными, производственно обусловленными и хроническими соматическими заболеваниями, а также возникновением медицинских противопоказаний для допуска персонала к работе с уровнем и продолжительностью влияния вредных и (или) опасных производственных факторов радиационной природы, а также иными факторами (стаж работы, возраст, пол и др.).

Выводы

1. Условия труда персонала научно-исследовательской организации, работающего с открытыми ИИИ, по характеристикам воздействия вредных и (или) опасных производственных факторов радиационной природы находятся в диапазоне от допустимых (класс 2) до опасных (класс 4). Соблюдение установленных норм и требований радиационной безопасности не исключает поступление и инкорпорацию радионуклидов в организме работников.
2. Для анализа динамики формирования индивидуальной эффективной дозы внутреннего облучения необходимы проведение регулярных спектрометрических обследований персонала АО «Радиевый институт им. В. Г. Хлопина», а также разработка программы проведения скрининговых исследований (с использованием портативных спектрометров) для оценки поступления радионуклидов в организм работников и при установлении факта инкорпорации проведение углубленных спектрометрических исследований на высокоточных спектрометрах излучения человека. Это позволит повысить качество контроля индивидуальных доз внутреннего облучения и эффективность радиационно-гигиенического обеспечения безопасности персонала.
3. Необходимо проведение дальнейших исследований в целях оценки тенденций и выявления степени связи заболеваемости профессиональными, хроническими соматическими заболеваниями, а также возникновения медицинских противопоказаний по допуску к работе персонала научно-исследовательских институтов, работающего с открытыми ИИИ, с уровнем и продолжительностью влияния вредных и (или) опасных производственных факторов радиационной природы и иными факторами.

Литература

1. Tang F, Loganovsky K. Low dose or low dose rate ionizing radiation-induced health effect in the human, *Journal of Environmental Radioactivity*. 2018; 192: 32–47.
2. Muirhead CR, O'hagan JA, Haylock RGE, Phillipson MA, Willcock T, Berridge GLC, et al. Mortality and cancer incidence following occupational radiation exposure: third analysis of the National Registry for Radiation Workers. *British journal of cancer*. 2009; 100 (1): 206–12.
3. Методические указания МУ 2.6.1.065-2014 «Дозиметрический контроль профессионального внутреннего облучения. Общие требования». Москва, 2014; 46 с. Доступно по ссылке: https://fmba.gov.ru/upload/iblock/dc0/mu_2.6.1.065-2014.pdf.
4. Аклеев А. В., Аладова Е. Е., Анциферов А. Н., и др. Ядерная медицина: справочник для персонала отделений, лабораторий и центров медицины. М.: ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 2020; 388 с.
5. Лягинская А. М., Шандала Н. К., Киселев С. М., Ермалицкий А. П., Петоян И. М., Купцов В. В., и др. Состояние здоровья персонала предприятия по обращению с радиоактивными отходами утилизируемого атомного флота СССР. Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). 2019; 28 (4): 73–87.
6. Методические указания МУ 2.6.5.032-2017 «Контроль радиоактивного загрязнения поверхностей». М., 2017. Доступно по ссылке: <https://docs.cntd.ru/document/456087187>.
7. Методика измерения снимаемой поверхностной активности альфа- и бета- излучающих радионуклидов с использованием носимого или стационарного радиометра, устройства для отбора мазков УОМ-01Т и приспособления для измерения активности радионуклидов в фиксированной геометрии УИМ-01Т, ФГУП НИИ ПММ, номер в Федеральном реестре методик измерений: ФР.1.40.2015.19924, свидетельство об аттестации методики измерений № 451/210-(01.00250-2008)-2013. Доступно по ссылке: <https://docs.cntd.ru/document/437126129>.
8. Руководство Р 2.2.2006-05 Гигиена труда. Руководство по гигиенической оценке факторов рабочей среды и трудового процесса. Критерии и классификация условий труда. Бюллетень нормативных и методических документов Госсанэпиднадзора. 2005; 3 (21).
9. Санитарные правила и нормы СанПиН 2.6.1.2523-09 «Нормы радиационной безопасности НРБ 99/2009». Доступно по ссылке (дата обращения 25.01.2022): <http://docs.cntd.ru/document/902170553/>.
10. ICRP, Dose Coefficients for Intakes of Radionuclides by Workers, ICRP Publication № 68, Ann. ICRP 24 4. Oxford: Elsevier Science, 1994.
11. ICRP, Age-Dependent Doses to Members of the Public from Intake of Radionuclides, Part 5, Compilation of Ingestion and Inhalation Dose Coefficients, ICRP Publication № 72, Ann. ICRP 26. Oxford: Elsevier Science, 1996.
12. Medici S, Carbonez P, Damet J, Bochud F, Bailat C, Pitzschke A, Detecting intake of radionuclides: In vivo screening measurements with conventional radiation protection instruments. *Radiation Measurements*. 2019; 122: 126–32.
13. Medici S, Carbonez P, Damet J, Bochud F, Pitzschke A, Use of portable gamma spectrometers for triage monitoring following the intake of conventional and novel radionuclides. *Radiation Measurements*. 2020; 136: 106426. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.radmeas.2020.106426>.
14. Galeev R, Butterweck G, Boschung M, Hofstetter-Boillat B,

Hohmann E, Mayer S. Suitability of portable radionuclide identifiers for emergency incorporation monitoring. *Radiation Protection Dosimetry*. 2017; 173 (1–3): 145–50. Available from: <https://doi.org/10.1093/rpd/ncw330>.

15. Арефьева Д. В., Петушок А. В., Шаяхметова А. А., авторы; Федеральное государственное унитарное предприятие научно-исследовательский институт промышленной и

морской медицины Федерального медико-биологического агентства, Медико-дозиметрический регистр персонала группы А Акционерного общества «Радиевый институт им. В. Г. Хлопина», работающего с открытыми источниками ионизирующих излучений: Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2021620928 Российская Федерация, 05.05.2021.

References

1. Tang F, Loganovsky K. Low dose or low dose rate ionizing radiation-induced health effect in the human, *Journal of Environmental Radioactivity*. 2018; 192: 32–47.
2. Muirhead CR, O'hagan JA, Haylock RGE, Phillipson MA, Willcock T, Berridge GLC, et al. Mortality and cancer incidence following occupational radiation exposure: third analysis of the National Registry for Radiation Workers. *British journal of cancer*. 2009; 100 (1): 206–12.
3. Metodicheskie ukazaniya MU 2.6.1.065-2014 «Dozimetriceskij kontrol' professional'nogo vnutrennego obluchenija. Obshhie trebovaniya». Moskva, 2014; 46 s. Dostupno po sсылке: https://fmba.gov.ru/upload/iblock/dc0/mu_2.6.1.065-2014.pdf. Russian.
4. Akleev AV, Aladova EE, Anciferov AN, i dr. *Jadernaja medicina: spravochnik dlja personala otdelenij, laboratorij i centrov mediciny*. M.: FGBU GNC FMBC im. A.I. Burnazjana FMBA Rossii, 2020; 388 s. Russian.
5. Ljaginskaja AM, Shandala NK, Kiselev SM, Emalickij AP, Petojan IM, Kupcov VV, i dr. Sostojanie zdorov'ja personala predpriyatija po obrashheniju s radioaktivnymi othodami utiliziruemogo atomnogo flota SSSR. *Radiacija i risk (Bjul'ten' Nacional'nogo radiacionno-jepidemiologicheskogo registra)*. 2019; 28 (4): 73–87. Russian.
6. Metodicheskie ukazaniya MU 2.6.5.032-2017 «Kontrol' radioaktivnogo zagriznenija poverhnostej». M., 2017. Dostupno po sсылке: <https://docs.cntd.ru/document/456087187>. Russian.
7. Metodika izmerenija snimaemoj poverhnostnoj aktivnosti al'fa- i beta- izluchajushhijh radionuklidov s ispol'zovaniem nosimogo ili stacionarnogo radiometra, ustrojstva dlja otbora mazkov UOM-01T i prisposoblenija dlja izmerenija aktivnosti radionuklidov v fiksirovannoj geometrii UIM-01T, FGUP NII PMM, nomer v Federal'nom reestre metodik izmerenij: FR.1.40.2015.19924, svidetel'stvo ob attestacii metodiki izmerenij # 451/210-(01.00250-2008)-2013. Dostupno po sсылке: <https://docs.cntd.ru/document/437126129>. Russian.
8. Rukovodstvo R 2.2.2006-05 *Gigiena truda. Rukovodstvo po higienicheskoj ocenke faktorov rabochej sredy i trudovogo* processa. Kriterii i klassifikacija uslovij truda. Bjul'ten' normativnyh i metodicheskijh dokumentov Gossanjepidnadzora. 2005; 3 (21). Russian.
9. Sanitarnye pravila i normativy SanPIN 2.6.1.2523-09 «Normy radiacionnoj bezopasnosti NRB 99/2009». Dostupno po sсылке (data obrashhenija 25.01.2022): <http://docs.cntd.ru/document/902170553/>. Russian.
10. ICRP, Dose Coefficients for Intakes of Radionuclides by Workers, ICRP Publication № 68, Ann. ICRP 24 4. Oxford: Elsevier Science, 1994.
11. ICRP, Age-Dependent Doses to Members of the Public from Intake of Radionuclides, Part 5, Compilation of Ingestion and Inhalation Dose Coefficients, ICRP Publication № 72, Ann. ICRP 26. Oxford: Elsevier Science, 1996.
12. Medici S, Carbonez P, Damet J, Bochud F, Bailat C, Pitzschke A, Detecting intake of radionuclides: In vivo screening measurements with conventional radiation protection instruments. *Radiation Measurements*. 2019; 122: 126–32.
13. Medici S, Carbonez P, Damet J, Bochud F, Pitzschke A, Use of portable gamma spectrometers for triage monitoring following the intake of conventional and novel radionuclides. *Radiation Measurements*. 2020; 136: 106426. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.radmeas.2020.106426>.
14. Galeev R, Butterweck G, Boschung M, Hofstetter-Boillat B, Hohmann E, Mayer S. Suitability of portable radionuclide identifiers for emergency incorporation monitoring. *Radiation Protection Dosimetry*. 2017; 173 (1–3): 145–50. Available from: <https://doi.org/10.1093/rpd/ncw330>.
15. Arefeva DV, Petushok AV, Shajahmetova AA, avtory; Federal'noe gosudarstvennoe unitarnoe predpriatie nauchno-issledovatel'skij institut promyshlennoj i morskoy mediciny Federal'nogo mediko-biologicheskogo agentstva, Mediko-dozimetriceskij registr personala grupy A Akcionernogo obshhestva «Radievij institut im. V.G. Hlopina», rabotajushhego s otkrytymi istochnikami ionizirujushhijh izluchenij: Svidetel'stvo o gosudarstvennoj registracii bazy dannyh # 2021620928 Rossijskaja Federacija, 05.05.2021. Russian.

ПСИХОЛОГИЧЕСКОЕ БЛАГОПОЛУЧИЕ ЗАВЕДУЮЩИХ ОТДЕЛЕНИЯМИ МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЙ

А. В. Кочубей¹ ✉, С. Ю. Яроцкий¹, В. В. Кочубей²

¹ Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

² Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова, Москва, Россия

Повышенная нагрузка заведующих клиническими отделениями в связи с реализацией трудовых функций врача-клинициста и менеджера может привести к значимому ухудшению психологического благополучия. Целью работы было изучить психологическое благополучие заведующих клиническими отделениями. Используя версию Шевеленковой–Фесенко опросника Риффа, с помощью электронной почты и портала дистанционного обучения проводили заочное анкетирование 216 заведующих отделениями в возрасте 32–70 лет со стажем работы в сфере здравоохранения 8–51 лет. В опросе участвовали 123 мужчины (56,9%) и 93 женщины (43,1%), из них работали в стационаре 117 человек (54,2%), в «красной зоне» — 114 (52,8%), имеют квалификационную категорию 138 человек (63,89%), ученую степень — 63 (29,1%). Расчеты средних значений, процентов, коэффициента корреляции Пирсона, критерия Стьюдента проводили в программе IBM SPSS Statistics 23. Корреляцию и разницу средних значений считали значимой при $p < 0,05$. Средний балл психологического благополучия — $378,67 \pm 78,33$, ниже нормативных значений — у 26 (26%) мужчин, 28 (43,1%) женщин 36–55 лет. Выявлена корреляция психологического благополучия с возрастом ($r = 0,2$; $p = 0,019$) и стажем ($r = 0,2$; $p = 0,008$). Не обнаружена зависимость психологического благополучия от пола ($p = 0,798$), типа организации ($p = 0,642$), наличия второго образования ($p = 0,854$), категории ($p = 0,645$), ученой степени ($p = 0,204$), работы в «красной зоне» ($p = 0,926$). Таким образом, более трети лиц 36–55 лет имеют баллы психологического благополучия ниже нормативных значений. Женщины имеют худшее психологическое благополучие, чем мужчины. Психологическое благополучие мужчин после 35 лет снижается в большей степени, чем нормативные значения.

Ключевые слова: психологическое благополучие, личностный рост, заведующий отделением

Вклад авторов: А. В. Кочубей — идея, дизайн, координация исследования, статистический анализ и интерпретация результатов, подготовка рукописи; С. Ю. Яроцкий — анализ, планирование исследования, интерпретация данных, обсуждение результатов; В. В. Кочубей — работа с литературой, анализ и интерпретация данных, подготовка рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование проведено в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации.

✉ **Для корреспонденции:** Аделина Владимировна Кочубей
Волоколамское шоссе, д. 91, г. Москва, 125371, Россия; kochoubeya@gmail.com

Статья получена: 08.05.2022 **Статья принята к печати:** 08.06.2022 **Опубликована онлайн:** 19.06.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.021

PSYCHOLOGICAL WELL-BEING OF THE DEPARTMENT HEADS AT HEALTHCARE ORGANIZATIONS

Kochubey AV¹ ✉, Yarotsky SYu¹, Kochubey VV²

¹ Federal Scientific and Clinical Center of Specialized Types of Medical Care of the Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russia

² A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

Increased workloads among heads of clinical departments that result from working as both clinicians and managers may lead to the significant decline in their psychological well-being. The study was aimed to assess psychological well-being of the clinical department heads. The online survey of 216 department heads aged 32–70 having a 8–51-year experience in healthcare was conducted using the Ryff's scales of psychological well-being adopted by Shevelenkova–Fesenko, sent by e-mail or posted on the distance learning portal. The survey involved 123 men (56.9%) and 93 women (43.1%); among them 117 people (54.2%) worked in inpatient settings, 114 people (52.8%) worked in the red zone, 138 people (63.89%) were assigned a qualification category, 63 people (29.1%) had an academic degree. Mean values, percentage, Pearson correlation coefficient, Student's t-test were calculated with the IBM SPSS Statistics 23 software. Correlations and mean differences were considered significant at $p < 0.05$. The average psychological well-being score was 378.67 ± 78.33 ; in 26 men (26%) and 28 women (43.1%) aged 36–55, the score was below standard values. Psychological well-being correlated with age ($r = 0.2$; $p = 0.019$) and years of service ($r = 0.2$; $p = 0.008$). No correlations were revealed between psychological well-being and gender ($p = 0.798$), type of organization ($p = 0.642$), the fact of having second higher education ($p = 0.854$), qualification category ($p = 0.645$), academic degree ($p = 0.204$), and the experience of working in the red zone ($p = 0.926$). Thus, more than a third of individuals aged 36–55 have psychological well-being scores below standard values. Psychological well-being of women is lower than that of men. Psychological well-being of men over the age of 35 decreases to a greater extent than standard values.

Keywords: psychological well-being, personal growth, heads of departments

Author contribution: Kochubey AV — concept, design, research coordination, statistical analysis and data interpretation, manuscript writing; Yarotsky SYu — analysis, research planning, data interpretation, discussion; Kochubey VV — literature review, data analysis and interpretation, manuscript writing.

Compliance with ethical standards: the study was conducted in accordance with the ethical principles stipulated by the Declaration of Helsinki of the World Medical Association.

✉ **Correspondence should be addressed:** Adelina V. Kochubey
Volokolamskoye shosse, 91, Moscow, 125371, Russia; kochoubeya@gmail.com

Received: 08.05.2022 **Accepted:** 08.06.2022 **Published online:** 19.06.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.021

В 1989 г. Всемирная организация здравоохранения указала одной из основных целей по обеспечению качества медицинской помощи содействие внедрению инноваций путем стимулирования профессионального любопытства работников здравоохранения [1]. Такая стратегия

ВОЗ обусловлена тем, что воздействие на кадровые ресурсы является высокоэффективным способом обеспечения качества медицинской деятельности [2–4]. Профессионализм работников здравоохранения — исключительная основа для совершенствования процессов

и результатов [5]. В свою очередь профессиональное любопытство сотрудников зависит от психологического благополучия, в том числе стремления к личностному росту [6].

К сожалению, медицинские работники являются профессиональной группой, подверженной риску психологических нарушений [7], так как испытывают высокий уровень стресса и психологических расстройств [8, 9]. Изучение профессионального благополучия проводили среди врачей [10–12] и медсестер [13, 14] различных клинических специализаций. Обнаружено, что депрессия как одно из худших проявлений психологического неблагополучия лежит в основе появления врачебных ошибок [13].

Поскольку заведующие клиническими отделениями являются ключевыми фигурами обеспечения качества медицинской помощи [15], состояние их психологического благополучия крайне важно. Заведующие клиническими отделениями одновременно выполняют трудовые функции клинического специалиста и организатора здравоохранения [15], т. е. повышенная трудовая нагрузка сочетается с ответственностью за работу всего подразделения. Эти факторы, а также требования к овладению более широким спектром компетенций и к реализации профессионального развития по клинической специальности и в области менеджмента могут отрицательно влиять на психологическое благополучие данного контингента сотрудников медицинских организаций.

Целью настоящего исследования стало изучение психологического благополучия заведующих отделениями медицинских организаций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В рамках исследования проводили заочный опрос слушателей, обучавшихся в 2019–2021 гг. на циклах дополнительного профессионального образования Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России. Критерии включения: наличие у респондента

должности «заведующий клиническим отделением». Критерии исключения: не полностью заполненные анкеты. Опрос проводили по русскоязычной стандартизированной версии Швеленковой–Фесенко анкеты психологического благополучия Риффа [16]. Выбор данной версии обусловлен тем, что относительно этой версии даны нормативные значения уровня психологического благополучия для четырех половозрастных групп. Анкеты направляли респондентам по электронной почте, а также размещали в материалах учебных курсов на платформе дистанционного образования.

Анкета состоит из 84 пунктов с шестью шкалами: «Позитивные отношения», «Автономия», «Управление средой», «Личностный рост», «Цели в жизни», «Самопринятие», а также тремя интегральными категориями «Баланс аффекта», «Осмысленность жизни», «Человек как открытая система», баллы по которым подсчитывают отдельно. Оценку психологического благополучия выполняли по шкале Лайкерта в диапазоне от 1 балла (полностью не согласен) до 6 (полностью согласен). Более высокие баллы указывают на большее субъективное психологическое благополучие. Данный принцип действует в отношении всех шкал анкеты и двух интегральных категорий «Осмысленность жизни», «Человек как открытая система». По категории «Баланс аффекта» низкие баллы демонстрируют лучшее состояние респондента.

Характеристика респондентов

В опросе участвовало 216 респондентов (табл. 1). В связи с отсутствием данных о размере генеральной совокупности применяли детерминированный метод формирования выборки, основанный на экспертных суждениях группы исследователей-экспертов [17].

Выбор характеристик обусловлен результатами сторонних исследований о влиянии пола, возраста, повышенной трудовой нагрузки, лучшего образования и профессионального развития на психологическое

Таблица 1. Характеристика респондентов

Признаки	Число, абс. (%)	Средний возраст, лет	Средний стаж, лет
Все респонденты	216	47,9 ± 8,08	23,18 ± 8,60
Женщины	93 (43,1)	52,15 ± 6,653	27,06 ± 7,079.
Мужчины	123 (56,9)	44,77 ± 7,621	20,06 ± 8,435
Работали в стационарных условиях	117 (54,2)	44,79 ± 7,715	20,10 ± 8,569
Работали в амбулаторных условиях	99 (45,8)	51,68 ± 6,848	26,59 ± 7,229
Работали в «красной» зоне	114 (52,8)	44,81 ± 7,803	20,14 ± 8,669
Не работали в «красной» зоне	102 (57,2)	51,46 ± 6,878	26,35 ± 7,259
Имели квалификационную категорию	138 (63,9)		
– из них высшую	83 (38,4)	47,7 ± 7,19	22,5 ± 7,51
– вторую	22 (10,2)	48,1 ± 9,66	23,4 ± 10,06
– первую	33 (15,3)	49,7 ± 8,22	25,2 ± 8,78
Без квалификационной категории	78 (36,1)	47,5 ± 8,49	22,7 ± 9,18
Имели ученую степень	63 (29,2)		
– кандидата наук	48 (22,2)	49,5 ± 8,26	24,2 ± 8,79
– доктора наук	15 (6,9)	51,9 ± 8,72	27,0 ± 10,27
Без ученой степени	153 (70,8)	47,1 ± 7,82	22,3 ± 8,28
Имеют второе высшее образование	111 (51,4)	47,9 ± 8,25	23,2 ± 8,92
– по специальности «Управление»	105 (48,6)		
Без второго высшего образования	105 (48,6)	48,0 ± 7,94	22,9 ± 8,29

Таблица 2. Средние баллы и нормативные значения по шкалам и интегральным категориям опросника Риффа в разрезе половозрастных групп ($M \pm \sigma$)

Пол	Возрастные группы	Психологическое благополучие	Баланс аффекта	Осмысленность жизни	Открытость	Личностный рост	Позитивное отношение	Автономия	Управление окружением	Цели жизни	Самопринятие
Женский	25–35 лет $n = 0$	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Нормативные значения	370 ± 34,68	84 ± 15,61	97 ± 12,61	65 ± 6,07	65 ± 6,04	65 ± 8,28	58 ± 7,31	58 ± 7,35	64 ± 8,19	61 ± 9,08
	36–55 лет $n = 65$	358,8 ± 79,27	81,0 ± 25,52	83,36 ± 17,26	61,12 ± 12,44	58,94 ± 13,53	62,25 ± 14,88	58,75 ± 13,79	60,54 ± 12,60	61,75 ± 13,18	60,95 ± 14,80
	Нормативные значения	351 ± 23,93	93 ± 9,58	95 ± 10,06	64 ± 3,95	63 ± 7,90	58 ± 7,59	57 ± 5,61	59 ± 8,32	59 ± 6,99	57 ± 6,14
	56 лет и старше $n = 28$	430,04 ± 22,93	60,03 ± 7,11	100,64 ± 5,65	73,82 ± 4,94	73,75 ± 2,96	75,96 ± 7,16	69,43 ± 3,80	69,82 ± 3,85	74,71 ± 3,76	71,43 ± 6,40
	Нормативные значения	Отсутствуют									
Всего $n = 93$	380,25 ± 74,87	74,68 ± 23,69	88,56 ± 16,74	64,95 ± 12,21	63,40 ± 13,29	66,38 ± 14,46	61,97 ± 12,68	63,33 ± 11,54	65,66 ± 12,68	64,11 ± 13,70	
Мужской	25–35 лет $n = 11$	422,36 ± 24,17	62,45 ± 6,15	97,45 ± 6,12	72,27 ± 5,55	70,36 ± 7,51	73,91 ± 4,61	67,45 ± 2,07	69,55 ± 3,78	73,73 ± 4,41	73,00 ± 5,98
	Нормативные значения	363 ± 24,20	91 ± 17,09	99 ± 7,64	65 ± 5,62	65 ± 4,94	63 ± 7,12	56 ± 6,86	57 ± 6,27	63 ± 5,16	59 ± 6,99
	36–55 лет $n = 100$	364,52 ± 84,30	80,07 ± 27,59	84,04 ± 18,37	62,43 ± 13,22	59,90 ± 15,20	63,41 ± 15,49	59,41 ± 13,98	61,23 ± 13,45	62,98 ± 14,56	62,08 ± 15,28
	Нормативные значения	336 ± 33,94	105 ± 13,66	95 ± 12,74	63 ± 5,58	58 ± 7,80	54 ± 6,52	57 ± 7,73	56 ± 8,27	58 ± 8,51	52 ± 5,31
	56 лет и старше $n = 12$	444,33 ± 9,73	55,83 ± 3,58	103,41 ± 1,67	76,33 ± 1,87	74,67 ± 1,37	80,42 ± 2,81	71,75 ± 3,33	72,00 ± 1,21	76,75 ± 1,14	75,50 ± 3,50
	Нормативные значения	Отсутствуют									
Всего $n = 123$	377,48 ± 81,13	76,13 ± 26,31	87,13 ± 17,91	64,67 ± 12,94	62,28 ± 14,76	66,01 ± 15,12	61,33 ± 13,30	63,02 ± 12,74	65,28 ± 14,05	64,37 ± 14,72	
Всего	25–35 лет, $n = 11$	422,36 ± 24,17	62,45 ± 6,15	97,45 ± 6,12	72,27 ± 5,55	70,36 ± 7,51	73,91 ± 4,61	67,45 ± 2,07	69,55 ± 3,78	73,73 ± 4,41	73,00 ± 5,98
	36–55 лет, $n = 165$	362,27 ± 82,16	80,43 ± 26,72	83,77 ± 17,89	61,92 ± 12,90	59,52 ± 14,53	62,95 ± 15,22	59,15 ± 13,87	60,96 ± 13,09	62,50 ± 14,00	61,64 ± 15,06
	56 лет и старше, $n = 40$	434,33 ± 20,85	58,77 ± 6,55	101,47 ± 4,95	74,58 ± 4,38	74,03 ± 2,61	77,30 ± 6,48	70,13 ± 3,78	70,48 ± 3,42	75,33 ± 3,32	72,65 ± 5,95
	Всего $n = 216$	378,67 ± 78,33	75,50 ± 25,17	87,75 ± 17,39	64,79 ± 12,60	62,76 ± 14,12	66,17 ± 14,81	61,61 ± 13,01	63,16 ± 12,21	65,44 ± 13,45	64,25 ± 14,26

благополучие. Поэтому было сделано предположение о негативном воздействии на психологическое благополучие повышенной трудовой нагрузки, которую испытывают респонденты, работающие в стационарных условиях и в «красной зоне». Мы допустили также, что есть позитивное влияние на психологическое благополучие второго образования, квалификационной категории, ученой степени, косвенно свидетельствующее о стремлении к личностному росту.

Разница стажа мужчин и женщин значима: $t = 7,44$; $p < 0,001$. Разница возраста и стажа между респондентами, работающими в стационарных и амбулаторных условиях, значима: $t = 6,87$; $p < 0,001$. На момент опроса более половины респондентов работали в подразделениях, оказывающих медицинскую помощь пациентам с коронавирусом, с усиленным санитарно-эпидемиологическим режимом и особым зонированием (далее — «красная зона»). Разница в среднем возрасте и стаже у работавших и не работавших в «красной» зоне значима: $t = 6,62$; $p < 0,001$. Нет значимой разницы в возрасте ($t = 0,648$; $p = 0,197$) и стаже ($t = 0,457$; $p = 0,095$) у лиц с квалификационной категорией и без нее. Разница в возрасте ($t = 2,536$; $p = 0,012$) и стаже ($t = 1,987$; $p = 0,048$) между респондентами без ученой степени и со степенью значима. Разница в возрасте ($t = 0,123$; $p = 0,902$) и стаже ($t = 0,186$; $p = 0,853$) у респондентов без второго высшего образования и с ним не значима.

Сравнительный анализ баллов проводился по трем половозрастным группам: мужчины 20–35 лет и 36–55 лет, и женщины 36–55 лет, для которых имеются нормативные значения психологического благополучия. Женщин 20–35 лет среди респондентов не было. Средние баллы психологического благополучия даны для общей группы, и пяти половозрастных групп: мужчины 20–35 лет, 36–55 лет и старше 56 лет; женщины 36–55 лет и старше 56 лет.

С использованием программы IBM SPSS Statistics 23 (IBM Company; США) были выполнены расчеты средних величин, медианы, моды, стандартных отклонений, процентов, критерия Стьюдента, коэффициента корреляции Пирсона. Корреляцию и разницу средних значений для независимых выборок считали значимой при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Средний балл психологического благополучия заведующих отделениями по опроснику Риффа составляет 378,67 ± 78,33, медиана — 398,5, мода — 438,00; 54 респондента (25%) имеют балл психологического благополучия ниже 342,25, а 54 (25%) — выше 442,75. У 86 (39,8%) респондентов балл психологического благополучия ниже среднего значения. Средний уровень психологического благополучия женщин 36–55 лет, мужчин 20–35 лет и 36–55 лет оказался выше нормативных значений (табл. 2). Однако у 26 (26%) мужчин и у 28 (43,1%) женщин в возрасте 36–55 лет уровень

психологического благополучия ниже нормативных значений.

Выявлена корреляция психологического благополучия с возрастом ($r = 0,2$; $p = 0,019$) и стажем ($r = 0,2$; $p = 0,008$). Нет статистически значимой разницы средних баллов психологического благополучия у мужчин ($377,47 \pm 81,13$) и женщин ($380,25 \pm 74,87$; $t = 0,257$, $p = 0,798$); у заведующих отделениями, работающих в стационарах ($376,38 \pm 82,38$) и организациях первичной медико-санитарной помощи ($381,37 \pm 73,58$; $t = 0,466$, $p = 0,642$); респондентов, имеющих второе высшее образование ($379,63 \pm 81,23$) и без него ($377,66 \pm 75,51$; $t = 0,185$, $p = 0,854$); имеющих категорию ($380,52 \pm 78,06$) и без нее ($375,39 \pm 79,21$; $t = 0,461$, $p = 0,645$); с ученой степенью ($389,24 \pm 68,48$) и без степени ($374,32 \pm 81,86$; $t = 1,274$, $p = 0,204$); работавших в «красной зоне» ($378,20 \pm 81,26$) и не работавших в ней ($379,19 \pm 75,32$; $t = 0,093$; $p = 0,926$).

Средние баллы по категориям и шкалам опросника Риффа в разрезе половозрастных групп представлены в табл. 2.

Средние баллы по категориям «баланс аффекта» и «осмысленность жизни» ниже нормативных значений во всех обследуемых половозрастных группах. У 20 (20%) мужчин и у 17 (26,2%) женщин 36–55 лет баллы «баланс аффекта» выше нормативных значений.

По категории «осмысленность жизни» баллы у 11 (54,5%) мужчин 25–35 лет, у 60 (60%) мужчин и у 46 (70,8%) женщин 36–55 лет ниже нормативных значений. Средние баллы по категории «человек как открытая система» ниже нормативных значений у женщин и мужчин 35–55 лет, но выше у мужчин 25–35 лет. По данной категории у 2 (18,2%) мужчин 25–35 лет, а также у 53 (53,0%) мужчин и 41 (63,1%) женщин 36–55 лет баллы ниже нормативных значений.

В общей группе респондентов по категории «баланс аффекта» у 88 (40,7%) респондентов баллы выше среднего значения, по категории «осмысленность жизни» у 88 (40,7%) — ниже среднего значения, по категории «человек как открытая система» у 95 (44,0%) — ниже среднего значения.

Средние баллы по шкалам опросника Риффа «личностный рост», «позитивное отношение», «автономия», «управление окружением», «цели жизни», «самопринятие» — выше нормативных значений во всех половозрастных группах. По шкале «личностный рост» баллы ниже нормативных значений у 3 (27,3%) мужчин 25–35 лет, 47 (47%) мужчин и 15 (23,1%) женщин 36–55 лет. По шкале «позитивное отношение» баллы ниже нормативных значений у 22 (22%) мужчин и 23 (35,4%) женщин 36–55 лет. По шкале «автономия» баллы ниже нормативных значений у 25 (25%) мужчин и 16 (24,6%) женщин 36–55 лет. По шкале «управление окружением» баллы ниже нормативных значений у 25 (25%) мужчин и 18 (27,7%) женщин 36–55 лет. По шкале «цели жизни» баллы ниже нормативных значений у 28 (28%) мужчин и 23 (35,4%) женщин 36–55 лет. По шкале «самопринятие» баллы ниже нормативных значений у 23 (23%) мужчин и 24 (36,9%) женщин 36–55 лет.

В общей группе респондентов баллы ниже среднего значения обнаружены по шкале «личностный рост» у 93 (43,1%) человек, «позитивное отношение» — у 103 (47,7%), «автономия» — у 77 (35,6%), «управление окружением» — у 79 (36,6%), «цели» — у 90 (41,7%), «самопринятие» — у 99 (45,8%) опрошенных заведующих отделениями.

Выявлена корреляция возраста и стажа с баллами всех категорий и шкал опросника ($p \leq 0,05$), кроме шкалы

«самопринятие» ($p > 0,05$). Корреляция возраста и стажа с категорией «баланс аффекта» отрицательна, с иными категориями и шкалами — положительна.

Обнаружена также корреляция всех категорий и шкал опросника между собой ($p \leq 0,05$), с категорией «баланс аффекта» связь отрицательна. Нет зависимости баллов по отдельным категориям и шкалам психологического благополучия от пола, наличия второго образования, квалификационной категории, ученой степени, типа организации, в которой работает респондент, работы в «красной зоне» ($p > 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Почти у 40% респондентов уровень психологического благополучия ниже значений среднего балла. В отсутствии нормативных значений психологического благополучия всех половозрастных групп обратим внимание на респондентов 36–55 лет, доля которых в возрастной структуре заведующих отделениями наибольшая. Так, в этой возрастной группе у 43,1% женщин и 26% мужчин баллы психологического благополучия хуже нормативных значений. Результаты опроса этой возрастной группы в разрезе категорий и шкал раскрывают варианты психологического неблагополучия.

По категории «баланс аффекта» почти треть женщин и 20% мужчин 36–55 лет демонстрируют неудовлетворенность жизнью, низкую оценку своих способностей к освоению нового и борьбы с жизненными трудностями, плохое умение поддерживать благоприятные отношения с окружающими. По шкале «позитивное отношение» более трети женщин и более 20% мужчин предрасположены к закрытости, недоверию во взаимоотношениях, а по шкале «личностный рост» у более 20% женщин и почти половины мужчин данного возраста нет стремлений к самореализации, познанию нового, изменению существующего поведения.

По шкале «самопринятие» почти 40% женщин и более 20% мужчин 36–55 лет обеспокоены слабостью личностных характеристик, но одновременно не довольны своим положением в обществе относительно его видения. Это объясняет почему по категории «осмысленность жизни» в данной возрастной группе 70,8% женщин и 60% мужчин склонны воспринимать собственную жизнь как бессмысленную и бесцельную, а по шкале «цели жизни» у более трети женщин и почти трети мужчин нет смысла в жизни, ограничены или отсутствуют цели и устремления.

По категории «человек как открытая система» 63,1% женщин и 53% мужчин 36–55 лет обнаруживают недостаточную готовность использовать приобретенный опыт и не расположены адекватно воспринимать жизненные реалии. Наряду с этим по шкале «управление окружением» более четверти женщин и четверть мужчин не способны не только контролировать происходящее, но и использовать возникающие возможности для реализации изменений, а по шкале «автономия» четверть женщин и мужчин демонстрируют зависимость от окружающих, в том числе при принятии решений, склонны к субмиссивному поведению.

Следует отметить, что полученные результаты коррелируют с данными о недостаточности профессиональных компетенций в области менеджмента у руководителей медицинских организаций [18].

Отдельного внимания заслуживают результаты опроса женщин. Уровень психологического благополучия в целом, а также по его категориям и шкалам в группе

мужчин и женщин одинаковый ($p > 0,05$). Однако напомним, что балл психологического благополучия в возрасте 36–55 лет ниже нормативных значений у 26% мужчин и у 43,1% женщин. Отметим, что женщины в возрасте до 35 лет среди респондентов нет, хотя мужчины этого возраста составляют 8,9% от респондентов мужского пола. Напротив, женщин в возрасте старше 56 лет среди респондентов этого пола 30,1%, а мужчин данного возраста — только 9,6%. Число женщин среди респондентов в возрасте старше 56 лет более чем в два раза превышает число мужчин: 28 и 12 соответственно. В то время как в популяции страны численность женщин на 1000 мужчин увеличивается с 1 067 в возрасте 35–55 лет до 1 233 в возрасте 56–60 лет (Росстат, <https://rosstat.gov.ru/folder/12781>). То есть женщины реже и позже получают должность заведующего отделением (средний возраст женщин-респондентов значимо выше возраста мужчин-респондентов; $t = 7,44$, $p \leq 0,001$). По нашему мнению, существует дискриминация женщин в вопросах карьерного роста. Наши предположения о том, что искусственное торможение карьерного роста и непродуктивная борьба с ним обуславливают худшее психологическое благополучие женщин, согласуются со сторонними исследованиями [19–21].

Следующий аспект исследования, вызывающий интерес, — ухудшение показателей психологического благополучия в целом, а также по всем категориям и шкалам у мужчин после 35 лет. Надо упомянуть, что компоненты психологического благополучия меняются с возрастом: до среднего возраста уровень благополучия снижается, после среднего возраста растет [22]. Изменение нормативных значений у мужчин после 35 лет также отрицательное, но в меньшей степени, а по шкале «автономия» даже идет рост балла (табл. 2). У респондентов мужчин после 35 лет средний уровень психологического благополучия снижается почти на 58 баллов ($\approx 14,0\%$ от уровня в возрасте 25–35 лет). Самое значительное снижение баллов в разрезе категорий можно наблюдать по категории «баланс аффекта»: изменение на 18 баллов (29,0% от уровня 25–35 лет). Менее всего страдают категории «автономия» и «управление окружением»: падение на 8 баллов ($\approx 11\%$ от уровня 25–35 лет). Уменьшение баллов по категории «осмысленность жизни» составило 13 баллов ($\approx 14,0\%$ от уровня 25–35 лет), по шкалам «личностный рост», «цели жизни», «самопринятие» — 11 баллов ($\approx 15\%$ от уровня 25–35 лет), по категории «открытость» и шкале «позитивное отношение» — 10 баллов ($\approx 14,0\%$ от уровня 25–35 лет).

Мы не обнаружили воздействия иных рассматриваемых в настоящем исследовании характеристик респондентов на их психологическое благополучие. Мы ожидали негативного

влияния на психологическое благополучие повышенной нагрузки, которую испытывают лица, работающие в «красной зоне». Можно предположить, что негативное воздействие увеличенной трудовой нагрузки нивелирует удовлетворение от возрастающего чувства исполненного долга, непосредственной личной причастности к решению глобальной проблемы здравоохранения, реализации альтруистического поведения, повышенного позитивного отношения общества [7, 8]. Мы ожидали также увидеть положительную связь формальных характеристик профессионального развития: второго образования, квалификационной категории, ученой степени, — с психологическим благополучием респондентов. Однако формальные характеристики профессионального развития не оказали влияния даже на личностный рост респондентов (квалификационная категория — $p = 0,990$; ученая степень — $p = 0,430$; второе образование — $p = 0,686$). В то же время вызывает настороженность, что у более 40% респондентов балл по шкале «личностный рост» ниже среднего значения, на фоне усиления требований к интенсивному профессиональному развитию врачей и организаторов здравоохранения.

ВЫВОДЫ

Несмотря на то что средний уровень психологического благополучия респондентов выше нормативных значений, результаты исследования позволяют говорить о наличии ряда проблем. Во-первых, выявлена высокая доля лиц в группе 36–55 лет, имеющих баллы психологического благополучия и его компонентов ниже нормативных значений. Во-вторых, отмечается худшее психологическое благополучие женщин исследуемой группы. В-третьих, заметно значительное ухудшение показателей психологического благополучия у мужчин после 35 лет. Результаты настоящего исследования расширяют представления о психологическом благополучии заведующих отделениями и медицинских работников. Вместе с тем обнаруженные особенности психологического благополучия требуют определения причин их возникновения. Кроме того, отсутствие зависимости психологического благополучия, особенно личностного роста, от формальных признаков профессионального развития и от трудовой нагрузки нуждается в подтверждении. В этой связи можно рекомендовать продолжение исследований в данной области с увеличением выборочной совокупности по отдельным половозрастным группам и расширением перечня характеристик респондентов, что позволит представить полноценные рекомендации по управлению персоналом медицинской организации.

Литература

1. The principles of quality assurance. WHO Working Group. Qual Assur Health Care. 1989; 1 (2–3):79–95. DOI: 10.1093/intqhc/1.2-3.79.
2. Donabedian A. Evaluating the quality of medical care. 1966. Milbank Q. 2005; 83 (4): 691–729. DOI: 10.1111/j.1468-0009.2005.00397.x.
3. Брынза Н. С., Кича Д. И., Захарченко Н. М. Эффективность подходов обеспечения качества медицинской помощи и непрерывного медицинского образования в контексте положительных трендов заболеваемости Вятский медицинский вестник. 2017; 1 (53). 60–63.
4. Мантурова Н. Е., Кочубей В. В., Кочубей А. В. Компетентность пластических хирургов. Вестник Российского государственного медицинского университета. 2018; 2: 67–71. DOI: 10.24075/vrgmu.2018.023.
5. Donabedian A. Methods for deriving criteria for assessing the quality of medical care. Med Care Rev. 1980; 37 (7): 653–98.
6. Chmielewska M, Stokwiszewski J, Filip J, Hermanowski T. Motivation factors affecting the job attitude of medical doctors and the organizational performance of public hospitals in Warsaw, Poland. BMC Health Serv Res. 2020; 20 (1): 701. DOI: 10.1186/s12913-020-05573-z.
7. Yates SW. Physician stress and burnout. Am J Med. 2020; 133

- (2): 160–4. DOI: 10.1016/j.amjmed.2019.08.034.
8. Azam K, Khan A, Alam MT. Causes and adverse impact of physician burnout: A systematic review. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2017; 27: 495–501.
 9. Sibeoni J, Bellon-Champel L, Mousty A, Manolios E, Verneuil L, Revah-Levy A. physicians' perspectives about burnout: a systematic review and metasynthesis. *J Gen Intern Med.* 2019; 34 (8): 1578–90.
 10. Rotenstein LS, Torre M, Ramos MA, Rosales RC, Guille C, Sen S, et al. Prevalence of burnout among physicians: a systematic review. *JAMA.* 2018; 320(11): 1131–50. DOI: 10.1001/jama.2018.12777. PMID: 30326495; PMCID: PMC6233645.
 11. Shawahna R, Maqboul I, Ahmad O, Al-Issawy A, Abed B. Prevalence of burnout syndrome among unmatched trainees and residents in surgical and nonsurgical specialties: a cross-sectional study from different training centers in Palestine. *BMC Med Educ.* 2022; 22 (1): 322. DOI: 10.1186/s12909-022-03386-8. PMID: 35473599; PMCID: PMC9041277.
 12. Clough BA, March S, Leane S, Ireland MJ. What prevents doctors from seeking help for stress and burnout? A mixed-methods investigation among metropolitan and regional-based Australian doctors. *J Clin Psychol.* 2019; 75 (3): 418–32. DOI: 10.1002/jclp.22707.
 13. Melnyk BM, Kelly SA, Stephens J, Dhakal K, McGovern C, Tucker S, et al. Interventions to improve mental health, well-being, physical health, and lifestyle behaviors in physicians and nurses: a systematic review. *Am J Health Promot.* 2020; 34 (8): 929–41. DOI: 10.1177/0890117120920451. PMID: 32338522; PMCID: PMC8982669.
 14. Collin V, Toon M, O'Selmo E, Reynolds L, Whitehead P. A survey of stress, burnout and well-being in UK dentists. *Br Dent J.* 2019; 226 (1): 40–49. DOI: 10.1038/sj.bdj.2019.6. PMID: 30631165.
 15. Приказ Министерства труда и социальной защиты РФ от 7 ноября 2017 г. № 768н «Об утверждении профессионального стандарта «Специалист в области организации здравоохранения и общественного здоровья».
 16. Швеленкова Т. Д., Фесенко Т. П. Психологическое благополучие личности. *Психологическая диагностика.* 2005; 3: 95–121.
 17. Отдельнова К. А. Определение необходимого числа наблюдений в социально-гигиенических исследованиях. *Сборник трудов 2-го ММИ.* 1980; 150 (6): 18–22.
 18. Конаныхина А. К. Оценка компетенций как основа формирования индивидуальной траектории непрерывного образования руководителей медицинской организации. *Сборник научных трудов Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России.* 2022; 1: 3–16.
 19. Lucia-Casademunt AM, Salinas-Pérez JA. Gender differences in psychological well-being and health problems among European health professionals: analysis of psychological basic needs and job satisfaction. *Int J Environ Res Public Health.* 2018; 15 (7): 1474. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijerph15071474>.
 20. Moreau E, Mageau GA. The importance of perceived autonomy support for the psychological health and work satisfaction of health professionals: Not only supervisors count, colleagues too! *Motiv Emot.* 2012; 36: 268–86.
 21. Коропец О. А. Социально-психологическое благополучие работников разных категорий. *Вестник Алтайской академии экономики и права.* 2020; 11 (3): 499–506. DOI: 10.17513/vaeel.1454.
 22. Blanchflower DG, Oswald AJ. Do humans suffer a psychological low in midlife? Two approaches (with and without controls) in seven data sets. Bonn: Institute of Labor Economics (IZA). 2017; Available from: <https://www.econstor.eu/bitstream/10419/170942/1/dp10958.pdf>.

References

1. The principles of quality assurance. WHO Working Group. *Qual Assur Health Care.* 1989; 1 (2–3):79–95. DOI: 10.1093/intqhc/1.2-3.79.
2. Donabedian A. Evaluating the quality of medical care. 1966. *Milbank Q.* 2005; 83 (4): 691–729. DOI: 10.1111/j.1468-0009.2005.00397.x.
3. Brynza NS, Kicha DI, Zaxarchenko NM. Ehffektivnost' podxodov obespecheniya kachestva medicinskoj pomoshhi i nepreryvnogo medicinskogo obrazovaniya v kontekste polozhitel'nyx trendov zaboлеваemosti Vyatskij medicinskij vestnik. 2017; 1 (53). 60–63. Russian.
4. Manturova NE, Kochubey VV, Kochubey AV. The competence of plastic surgeons. *Bulletin of RSMU.* 2018; 2: 63–7. DOI: 10.24075/brsmu.2018.023.
5. Donabedian A. Methods for deriving criteria for assessing the quality of medical care. *Med Care Rev.* 1980; 37 (7): 653–98.
6. Chmielewska M, Stokwizewski J, Filip J, Hermanowski T. Motivation factors affecting the job attitude of medical doctors and the organizational performance of public hospitals in Warsaw, Poland. *BMC Health Serv Res.* 2020; 20 (1): 701. DOI: 10.1186/s12913-020-05573-z.
7. Yates SW. Physician stress and burnout. *Am J Med.* 2020; 133 (2): 160–4. DOI: 10.1016/j.amjmed.2019.08.034.
8. Azam K, Khan A, Alam MT. Causes and adverse impact of physician burnout: A systematic review. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2017; 27: 495–501.
9. Sibeoni J, Bellon-Champel L, Mousty A, Manolios E, Verneuil L, Revah-Levy A. physicians' perspectives about burnout: a systematic review and metasynthesis. *J Gen Intern Med.* 2019; 34 (8): 1578–90.
10. Rotenstein LS, Torre M, Ramos MA, Rosales RC, Guille C, Sen S, et al. Prevalence of burnout among physicians: a systematic review. *JAMA.* 2018; 320(11): 1131–50. DOI: 10.1001/jama.2018.12777. PMID: 30326495; PMCID: PMC6233645.
11. Shawahna R, Maqboul I, Ahmad O, Al-Issawy A, Abed B. Prevalence of burnout syndrome among unmatched trainees and residents in surgical and nonsurgical specialties: a cross-sectional study from different training centers in Palestine. *BMC Med Educ.* 2022; 22 (1): 322. DOI: 10.1186/s12909-022-03386-8. PMID: 35473599; PMCID: PMC9041277.
12. Clough BA, March S, Leane S, Ireland MJ. What prevents doctors from seeking help for stress and burnout? A mixed-methods investigation among metropolitan and regional-based Australian doctors. *J Clin Psychol.* 2019; 75 (3): 418–32. DOI: 10.1002/jclp.22707.
13. Melnyk BM, Kelly SA, Stephens J, Dhakal K, McGovern C, Tucker S, et al. Interventions to improve mental health, well-being, physical health, and lifestyle behaviors in physicians and nurses: a systematic review. *Am J Health Promot.* 2020; 34 (8): 929–41. DOI: 10.1177/0890117120920451. PMID: 32338522; PMCID: PMC8982669.
14. Collin V, Toon M, O'Selmo E, Reynolds L, Whitehead P. A survey of stress, burnout and well-being in UK dentists. *Br Dent J.* 2019; 226 (1): 40–49. DOI: 10.1038/sj.bdj.2019.6. PMID: 30631165.
15. Prikaz Ministerstva truda i social'noj zashchity RF ot 7 noyabrya 2017 g. # 768n «Ob utverzhdanii professional'nogo standarta «Specialist v oblasti organizacii zdravooxraneniya i obshhestvennogo zdorov'ya». Russian.
16. Shevelenkova TD, Fesenko TP. Psixologicheskoe blagopoluchie lichnosti. *Psixologicheskaya diagnostika.* 2005; 3: 95–121. Russian.
17. Otdelnova KA. Opredelenie neobxodimogo chisla nablyudenij v social'no-gigienicheskix issledovaniyax. *Sbornik trudov 2-go MMI.* 1980; 150 (6): 18–22. Russian.
18. Konanynxina AK. Ocenka kompetencij kak osnova formirovaniya individual'noj traektorii nepreryvnogo obrazovaniya rukovoditelej medicinskoj organizacii. *Sbornik nauchnyx trudov Akademii postdiplomnogo obrazovaniya FGBU FNKC FMBA Rossii.* 2022; 1: 3–16. Russian.
19. Lucia-Casademunt AM, Salinas-Pérez JA. Gender differences in psychological well-being and health problems among European health professionals: analysis of psychological basic needs and job satisfaction. *Int J Environ Res Public Health.* 2018; 15 (7): 1474. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijerph15071474>.

20. Moreau E, Mageau GA. The importance of perceived autonomy support for the psychological health and work satisfaction of health professionals: Not only supervisors count, colleagues too! *Motiv Emot.* 2012; 36: 268–86.
21. Коропец ОА. Социально-психологическое благополучие работников разных категорий. *Vestnik Altajskoj akademii ehkonomiki i prava.* 2020; 11 (3): 499–506. DOI: 10.17513/vaael.1454. Russian.
22. Blanchflower DG, Oswald AJ. Do humans suffer a psychological low in midlife? Two approaches (with and without controls) in seven data sets. Bonn: Institute of Labor Economics (IZA). 2017; Available from: <https://www.econstor.eu/bitstream/10419/170942/1/dp10958.pdf>.

МЕДИЦИНСКАЯ РЕАБИЛИТАЦИЯ В СПОРТЕ ВЫСШИХ ДОСТИЖЕНИЙ ПОСЛЕ РЕКОНСТРУКЦИИ ПЕРЕДНЕЙ КРЕСТООБРАЗНОЙ СВЯЗКИ КОЛЕННОГО СУСТАВА

Р. А. Бойченко, С. В. Горнов ✉

Федеральный научно-клинический центр спортивной медицины и реабилитации Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

Профессиональная деятельность спортсменов спорта высших достижений в условиях нагрузок, близких к экстремальным, часто приводит к травмам нижней конечности. Повреждение передней крестообразной связки (ПКС) — один из наиболее распространенных видов травм коленного сустава. Целью исследования было оценить эффективность комплексной программы реабилитации спортсменов после артроскопической реконструкции ПКС. В исследовании участвовали 64 спортсмена (от 17 до 31 года). Участникам основной группы, проходившим комплексную программу медицинской реабилитации, проводили изокинетические тренировки на биомеханическом комплексе TECNOBODY IsoMove по разработанной методике. Результаты медицинской реабилитации спортсменов оценивали путем анализа походки на аппаратном комплексе DIERS Motion 4D через 8 и 15 недель после операции. Через 8 недель после операции не наблюдалось статистически значимых различий в группах по параметрам анализа походки. Через 15 недель после операции по завершении изокинетических тренировок у спортсменов основной группы (ОГ) по параметру Stand time дефицит в опоре на оперированную конечность (ОК) относительно здоровой конечности (ЗК) составил 0,04%, по параметру «одиночная поддержка» — 3,71%, в сравнении со спортсменами группы клинического сравнения (ГС), у которых по параметру Stand time дефицит в опоре на ОК относительно ЗК составил 12,44%, по параметру «одиночная поддержка» — 18,55%. По параметру Swing-time у спортсменов ОГ дефицит в симметрии переноса ЗК относительно ОК составил 3,99%, а у спортсменов ГС — 20,54%, что статистически значимо и доказывает эффективность разработанной методики изокинетических тренировок в комплексной программе медицинской реабилитации, что привело к более быстрому восстановлению мышечной силы, нарушений опорной и локомоторной функции ходьбы у спортсменов ОГ.

Ключевые слова: ПКС, артроскопия, реабилитация, изокинетические тренировки, анализ походки, высококвалифицированные спортсмены

Вклад авторов: Р. А. Бойченко — обзор литературы, сбор материала, анализ полученных данных, написание текста, определение параметров сравнения походки, статистическая обработка данных; С. В. Горнов — разработка дизайна исследования, редактирование и утверждение финального варианта статьи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФГБУ ФНКЦСМ ФМБА России (протокол заседания № 01-09 от 15 сентября 2018 г.). Все спортсмены подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Сергей Валерьевич Горнов
ул. Б. Дорогомилловская, д. 5, г. Москва, 121059, Россия; gornovsv@gmail.com

Статья получена: 11.04.2022 **Статья принята к печати:** 30.05.2022 **Опубликована онлайн:** 23.06.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.022

MEDICAL REHABILITATION OF HIGH PERFORMANCE ATHLETES AFTER RECONSTRUCTION OF ANTERIOR CRUCIATE LIGAMENT OF THE KNEE

Boichenko RA, Gornov SV ✉

Federal Research and Clinical Center for Sports Medicine and Rehabilitation of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

The professional activity of high performance, or elite sportsmen involves loads approaching extreme exertion, which often leads to injuries of the lower limbs. Anterior cruciate ligament (ACL) injury is one of the most common types of knee injuries. This study aimed to evaluate the effectiveness of a comprehensive rehabilitation program for athletes that underwent arthroscopic ACL reconstruction. The study involved 64 athletes aged from 17 to 31 years. Treatment group participants were offered a comprehensive medical rehabilitation program that included isokinetic training sessions on the TECNOBODY IsoMove biomechanical exercising machine; the sessions followed a purpose-designed method. The results of medical rehabilitation of the athletes were assessed through gait analysis done with a DIERS Motion 4D complex. The assessments took place 8 and 15 weeks after the reconstruction. At 8 weeks after the surgery, gait analysis parameters revealed no significant differences between the groups. Fifteen weeks after the reconstruction, when treatment group (TG) members were through all the isokinetic training sessions, the results were as follows: for the Stand Time parameter, the operated limb (OL) support deficit was 0.04% compared to the healthy limb (HL) support, and for the Single Limb Support parameter it was 3.71%, while in the control group (CG) that had no isokinetic training sessions the values were 12.44% and 18.55%, respectively. As for the Swing Time parameter, TG participants showed the deficit of HL transfer symmetry (relative to OL) of 3.99%, while the value of this parameter in the CG was 20.54%. The difference is significant, which proves the effectiveness of the developed isokinetic training method as part of the comprehensive medical rehabilitation program, the application of which resulted in faster recovery of muscle strength and compromised walking-associated support and locomotor functions in TG athletes.

Keywords: ACL, arthroscopy, rehabilitation, isokinetic training, gait analysis, highly trained athletes

Author contribution: R.A. Boichenko — literature review, data collection, data analysis, text authoring, determination of gait comparison parameters, statistical data processing; S.V. Gornov — study design development, editing and approval of the final version of the article.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Federal Research and Clinical Center for Sports Medicine and Rehabilitation of the Federal Medical Biological Agency (Minutes of Meeting #01-09 of September 15, 2018). All athletes signed a voluntary consent to participate in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Sergey Valeryevich Gornov
B. Dorogomilovskaya, 5, Moscow, 121059, Russia; gornovsv@gmail.com

Received: 11.04.2022 **Accepted:** 30.05.2022 **Published online:** 23.06.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.022

Реконструкция передней крестообразной связки (ПКС) коленного сустава является основным методом лечения разрыва ПКС у представителей спорта высших достижений. Частота бесконтактных повреждений ПКС наиболее часто встречается у спортсменов в возрасте

15–40 лет и регистрируется в видах спорта, для которых характерно резкое изменение биомеханики движения: футбол, гандбол, регби, волейбол, горные лыжи и др. [1, 2]. Ежегодно около трех процентов спортсменов-любителей повреждают ПКС. Для высококлассных спортсменов

этот процент может достигать 15 [2]. Женщины в два-восемь раз чаще повреждают ПКС, вероятно, потому что нейромышечные паттерны у мужчин и женщин различны на протяжении и после пубертатного периода [3, 4]. Исследования показали, что 35% спортсменов высокого класса не возвращаются к прежнему спортивному уровню до травмы в течение двух лет [5]. В 2015 г. была опубликована программа Федеральных клинических рекомендаций «Реабилитация при повреждении капсульно-связочного аппарата коленного сустава (оперативное лечение)» [6]. Реабилитация включает четыре периода. Сроки первого (ранний послеоперационный) и второго (поздний послеоперационный) периодов составляют до трех-четырех месяцев, третьего (предтренировочный) — до шести месяцев, четвертого (тренировочный) — до года. Некоторые авторы выделили следующие сроки в четырех основных периодах реабилитации при ведении пациентов с повреждением ПКС: ранний послеоперационный (1 неделя); поздний послеоперационный (2–4 недели); функциональный (5–8 недель); тренировочно-восстановительный (9–24 недели) [7]. Согласно программе реабилитации пациентов, перенесших пластику ПКС коленного сустава [8], в тренировочно-восстановительный период (9–32 недели) с девятой недели разрешены силовые тренировки, в которых используют тросовую блочную тягу с выполнением сгибательных и разгибательных движений коленного и тазобедренного сустава. Для спортсменов высокого класса требуются более прогрессивные упражнения на восстановление мышечной силы квадрицепса и хамстринг-мышц, безопасные для аутотрансплантата ПКС. На сегодняшний день этим требованиям наиболее отвечают биомеханические аппаратные комплексы с биологической обратной связью (БОС).

Таблица 1. Программа Федеральных клинических рекомендаций

Период	Сроки	План лечения
I ранний п/о	до 3–4 месяцев	Общеразвивающие упражнения для контрлатеральной конечности. Динамические упражнения для свободных от иммобилизации суставов ипсилатеральной конечности. Шарнирный ортез в положении сгибания голени под углом 160–150°, затем сгибание постепенно доводить до 100–90°. Изометрические напряжения мышц. Полное разгибание в течение 2–3 недель. Пассивные движения надколенником. Электростимуляция. Обучение пользованию функциональной шиной и ходьбе при помощи костылей
II поздний п/о		Прекращение иммобилизации. Динамические упражнения с самопомощью. Упражнения на расслабление, активно-пассивные упражнения. Дозированные изометрические мышечные сокращения. Постуральные упражнения (лечение положением). Механотерапия с помощью блоковых установок. Гидрокинезотерапия. Массаж
III предтренировочный	до 6 месяцев	Лечебная гимнастика (тренировка в ходьбе, бег, сложнокоординированные упражнения с дополнительным отягощением и противодействием). Гидрокинезотерапия (плавание). Механотерапия (аппараты маятникового типа и изокинетические для тренировки мышц), тренажеры (велозергометр, степлер и др.). Массаж. Динамическая электростимуляция. Адаптированная спортивная тренировка, учитывающая фазу послеоперационной перестройки соединительнотканых структур и функциональное состояние околосуставных мышц
IV тренировочный	до года	Тренировка специальных двигательных качеств, составляемая тренером или педагогом с учетом специфики вида спорта. Восстановление специальных двигательных навыков

Реабилитация спортсменов должна быть ускоренной, так как длительное возвращение к соревновательным нагрузкам может привести к снижению или потере профессиональных навыков. Некоторые общие тренды послеоперационного ведения реконструкции ПКС приняты в ортопедическом сообществе, однако не существует стандартизированного протокола, а также срока возврата к соревновательному уровню [9]. Поэтому реабилитация спортсменов после реконструкции ПКС в настоящее время остается актуальной темой.

Цель исследования — разработать и оценить эффективность комплексной программы реабилитации спортсменов после артроскопической реконструкции ПКС коленного сустава и методику изокинетических тренировок на биомеханическом комплексе TECNOBODY IsoMove.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Проведено проспективное контролируемое нерандомизированное исследование, в котором приняли участие 64 спортсмена в возрасте 17–31 года, по видам спорта с предельно активной двигательной деятельностью передней крестообразной связки: 38 (59,4%) женщин, средний возраст составил $22 \pm 4,2$ года и 26 (40,6%) мужчин, средний возраст — $26 \pm 4,8$ лет. Операция у всех участников была проведена не позднее недели с момента постановки клинического диагноза разрыва ПКС. Для восстановления связки у спортсменов, участвующих в исследовании, использовали аутотрансплантаты сухожилий полусухожильной и нежной мышц, сухожилия длинной малоберцовой мышцы.

Таблица 2. Комплексная программа медицинской реабилитации спортсменов после оперативного вмешательства на коленном суставе

Фаза	Сроки	План лечения	Критерии перехода к следующей фазе и окончания реабилитации
I	до 2 неделя	<p>Упражнения на разгибание с валиком из полотенца под пяткой, вывешивание голени с кушетки, лежа на животе.</p> <p>Двигательное переобучение четырехглавой мышцы бедра (электромиостимуляция).</p> <p>Ортез на коленный сустав, замкнутый в положении полного разгибания (1-я неделя), затем сгибания до 30° (2-я неделя).</p> <p>Дозированная нагрузка на конечность (1-я неделя — 25%, 2-я неделя — 50% от массы тела) с дополнительной опорой на костыли [11].</p> <p>Произвольное напряжение передней и задней групп мышц бедра, ягодичных мышц.</p> <p>Мобилизация надколенника.</p> <p>Активное сгибание / пассивное разгибание коленного сустава в положении сидя на кушетке в диапазоне 0–60° с ассистенцией здоровой ногой.</p> <p>Подъемы выпрямленной ноги (во всех плоскостях).</p> <p>При выполнении упражнений по подъему ноги из положения лежа фиксировать ортез коленного сустава в положении 0°.</p> <p>Занятия на велоэргометре с коротким шатуном педали.</p> <p>Упражнения с сопротивлением для мышц бедра.</p> <p>Кардиотренировки и тренировка для верхнего плечевого пояса по мере переносимости.</p> <p>Локальная криотерапия</p>	<p>Возможность поднять выпрямленную оперированную ногу. Отсутствие сгибательной контрактуры.</p> <p>Объем движений в коленном суставе от 0 до 60° с ассистенцией.</p> <p>Способность оперированной конечности безболезненно переносить нагрузку</p>
II	3–6-я неделя	<p>Ортез на коленный сустав в диапазоне движений до угла 60° (3-я неделя), до 90° (4-я неделя), до 120° (5-я неделя), до 140° и более (с 6-й недели) [11].</p> <p>Увеличение опоры на оперированную конечность (ориентироваться на выраженность болевого синдрома), отказ от костылей при отсутствии анталгических элементов в походке.</p> <p>Занятия на стандартном велоэргометре (при достижении сгибания в коленном суставе > 115°).</p> <p>Активно-ассистированные упражнения на разработку объема движений.</p> <p>Мини-приседания /перемещения веса тела из стороны в сторону.</p> <p>Проприоцептивные тренировки: на нестабильных платформах, тренажерах по типу гимнастического волчка, с эластичными лентами на противоположной конечности.</p> <p>Начало тренировок с подъемом на степ-платформу высотой 10, 15, 20 см.</p> <p>Занятия на тренажере-имитаторе подъема по лестнице.</p> <p>Подъем выпрямленной в коленном суставе ноги с прогрессивным сопротивлением.</p> <p>Тренировка мышц задней поверхности бедра и голени с прогрессивным сопротивлением.</p> <p>Увеличение эластичности мышечно-связочного аппарата задней поверхности бедра и голени.</p> <p>Аппаратная артродетекция коленного сустава через 6 недель после операции (мануальное исследование с приложением к голени максимального тракционного усилия противопоказано).</p> <p>Лимфодренажный массаж, электростимуляция, магнитотерапия, ультразвук</p>	<p>Объем движений в коленном суставе от 0 до 140°.</p> <p>Нормальный стереотип походки.</p> <p>Способность шагнуть на степ-платформу высотой 20 см.</p> <p>Восстановление подвижности надколенника.</p> <p>Улучшение функциональных показателей по результатам данных артродетекции и двигательных тестов</p>
III	7–14-я неделя	<p>Приседания.</p> <p>Начало упражнений на спуск со степ-платформы.</p> <p>Жимы ногами.</p> <p>Выпады.</p> <p>Разгибания в коленном суставе в изотоническом режиме в диапазоне от 90 до 40° (предпочтение следует отдавать упражнениям в замкнутой кинематической цепи).</p> <p>Усложненные проприоцептивные тренировки (активное выведение из равновесия).</p> <p>Тренировки на биомеханическом комплексе TECNOBODY IsoMove.</p> <p>Упражнения на развитие телесной ловкости (со спортивным жгутом).</p> <p>Тренажер «противонаправленная лестница».</p> <p>Ходьба/бег спиной вперед.</p> <p>Упражнения на растяжку мышц бедра и голени.</p> <p>Аппаратная артродетекция через 3 месяца после операции. Модификация программы домашних упражнений, по результатам динамического наблюдения</p>	<p>Полный объем движений в коленном суставе.</p> <p>Возможность безболезненно спускаться по лестнице с высотой ступеней 20 см, хорошо контролируя ногу.</p> <p>Улучшение функциональных показателей по результатам данных артродетекции и двигательных тестов</p>
IV	15–21-я неделя	<p>Бег возможен при успешном выполнении теста на спуск со степ-платформы высотой 20 см.</p> <p>Прогрессирование упражнений на увеличение силы и гибкости.</p> <p>Продвинутое спорт-специфические упражнения на телесную ловкость.</p> <p>Плиометрические тренировки при достижении адекватной мышечной силы.</p> <p>Упражнения на разгибание в коленном суставе в изотоническом режиме в пределах полного объема движения без боли и крепитации (предпочтение отдают упражнениям в замкнутой кинематической цепи).</p> <p>Программа реабилитации в домашних условиях, основанная на результатах динамического наблюдения за пациентом"</p>	<p>Симметричный безболезненный бег.</p> <p>Симметрия между конечностями при прыжковом тесте не менее 75%.</p> <p>Прогресс в функциональных тренировках.</p> <p>Соответствие проходным критериям для функционального тестирования</p>
V	с 22-й недели	<p>Силовые тренировки для нижних конечностей с отработкой спорт-специфических элементов.</p> <p>Усложненная программа плиометрических упражнений.</p> <p>Использование ортеза при занятиях спортом.</p> <p>Динамический контроль за состоянием пациента и оценка его жалоб (жалобы на боль, отек).</p> <p>Соответствующие модификации реабилитационной программы, при необходимости.</p> <p>Убеждение пациента в необходимости регулярных занятий в домашних условиях.</p> <p>Аппаратная артродетекция через 6 месяцев после операции"</p>	<p>Дефицит мышечной силы менее 15% по результатам изокинетического тестирования.</p> <p>Симметрия по результатам прыжкового теста на одной ноге более 85%. Выполнение спорт-специфических движений без предчувствия нестабильности и боли.</p> <p>Гибкость, соответствующая запросам конкретного вида спорта</p>

Критерии включения пациентов в исследование: возраст 16–40 лет; артроскопическая пластика ПКС с/без частичной парциальной резекции мениска, с/без артроскопическим швом мениска выполнена впервые.

Критерии исключения: возраст менее 16 и старше 40 лет; наличие артроскопических вмешательств на смежных и контрлатеральных суставах нижних конечностей; остеоартрит коленного сустава в анамнезе; отказ от участия на любом этапе реабилитации.

Общая продолжительность исследования составила 38 месяцев (с октября 2018 г. по ноябрь 2021 г.).

Был проведен сравнительный анализ эффективности разработанной комплексной программы реабилитации и программы Федеральных клинических рекомендаций «Реабилитация при повреждении капсульно-связочного аппарата коленного сустава (оперативное лечение)» (далее — Рекомендации) у спортсменов. Для этого всех отобранных спортсменов разделили на две группы: основная группа (ОГ) — 30 человек, которые проходили реабилитацию по авторской программе, и группа клинического сравнения (ГС) — 34 человека, которые проходили реабилитацию в соответствии с Рекомендациями.

Все спортсмены начинали реабилитироваться в ФГБУ ФНКЦСМ ФМБА России через 3–4 недели после операции, т. е. со II фазы авторской программы. Занятия у всех проводили 3 раза в неделю.

Программа Рекомендаций [6] разделена на четыре периода (табл. 1).

Разработанная комплексная программа реабилитации разделена на пять фаз (табл. 2).

В комплексную программу медицинской реабилитации были включены изокинетические тренировки на аппарате с БОС. Изокинетические тренировки мышц в концентрическом режиме показали значительное улучшение мышечной силы квадрицепса и хамстринг-мышц по среднему и максимальному крутящему моменту на угловых скоростях 30 и 60° в секунду [10]. Тренировки на биомеханическом аппарате Biodex 3 System (Model 333–250; Biodex Medical Systems, Shirley; USA) проводили на угловой скорости 180° в секунду два раза в неделю три подхода по 20 повторений.

Нами предложена методика на биомеханическом комплексе TECNOBODY IsoMove (рис. 1). Изокинетические тренировки проводили в концентрическом режиме для мышц сгибателей и разгибателей коленного сустава, диапазон движений 20–110°, на угловой скорости 30° в секунду два раза в неделю три подхода по 10 повторений первые две недели, затем два раза в неделю три подхода по 15 повторений следующие две недели, затем два раза в неделю три подхода по 20 повторений две недели и три раза в неделю три подхода по 20 повторений одну неделю. Всего 15 процедур. Движение начинали с разгибания коленного сустава. Тренировали вначале здоровую, затем оперированную конечность. Данные тренировки начинали через восемь недель после операции.

В обеих группах испытуемых через восемь недель после операции в период III фазы реабилитации выполняли оценку нарушений опорной и локомоторной функции, симметрии в распределении нагрузки на нижние конечности на аппаратном комплексе DIERS Motion 4D (рис. 2) в режиме анализа походки (pedogait) на скорости 3 км/ч, повторно контрольное обследование проводили через 15 недель после оперативного вмешательства по завершении изокинетических тренировок.

Цикл шага (ЦШ) для каждой конечности состоит из двух основных периодов: периода опоры и периода переноса.



Рис. 1. Биомеханический комплекс TECNOBODY IsoMove



Рис. 2. Аппаратный комплекс DIERS Motion 4D

Продолжительность периода опоры составляет 58–61% ЦШ, а периода переноса — 42–39%. Различают правый и левый ЦШ, т. е. оба ЦШ составляют акт ходьбы [12, 13]. Проводили оценку периодов ЦШ ОК и ЗК с последующим сравнением в ОГ и ГС. Оценивали следующие параметры: Stand time (%) — время опоры на конечность от отрыва носка до опоры на пятку контрлатеральной конечности; Swing-time (%) — время переноса неопорной конечности; одиночная поддержка (%); чувствительность к нагрузке (%); Pre-swing (%) — время от опоры на носок до отталкивания (рис. 3). Статистически значимыми для сравнения оказались первые три параметра.

Статистическую обработку результатов проводили вручную с использованием программ Microsoft Excel и Statistica for Windows v. 5.1. Для расчетов непараметрических методов статистического вычисления применяли *t*-критерий Стьюдента. Статистически достоверными считали различия (*t*) в группах при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для объективной оценки эффективности были выбраны следующие критерии: оценка боли по визуальной аналоговой шкале (ВАШ), объем движений, прыжковый тест «зигзагом», параметры шага при анализе ходьбы.

Прыжковый тест проводили через 15 недель после операции. В ОГ симметрию между конечностями при прыжковом тесте менее 75% наблюдали у двух спортсменов (6,7%), а в ГС — у девяти спортсменов (26,5%).

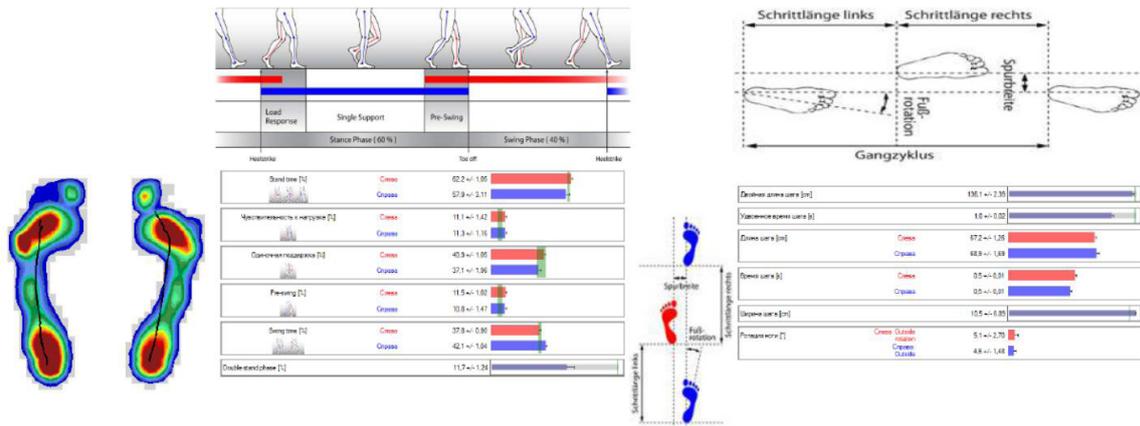


Рис. 3. Параметры походки на аппаратном комплексе DIERS Motion 4D

Через месяц после операции в ОГ у четырех спортсменов (13,3%) боль была на отметке 4 балла, у одного (3,3%) — 5 баллов по ВАШ. В ГС — у семерых спортсменов (20,6%) — 4 балла, у двоих (5,9%) — 3 балла. Через три месяца в ОГ у одного спортсмена (3,3%) отмечена боль в 2 балла, в ГС — у троих (8,8%) в 2 балла.

Через месяц у спортсменов ОГ и ГС отмечены ограничения объема активного сгибания до 100–110°, пассивного — до 115–130°, у одного спортсмена ОГ было ограничено активное разгибание до 7°, пассивное — до 3°. Через три месяца не обнаружено контрактур в обеих группах.

Через 15 недель при выполнении тестов на нестабильность: теста Лакмана, теста переднего выдвижного ящика, теста pivot-shift — в ОГ ни у одного спортсмена не было положительных симптомов. В ГС у троих спортсменов отмечена незначительная трансляция голени кпереди с четкой финальной точкой.

Результаты оценки нарушений опорной и локомоторной функции, симметрии в распределении нагрузки на нижние конечности на аппаратном комплексе DIERS Motion 4D представлены в табл. 3.

Через восемь недель после операции не обнаружено достоверных различий по параметрам нарушений опорной и локомоторной функции при анализе ходьбы на компьютеризированном аппаратном комплексе DIERS Motion 4D у спортсменов ОГ и ГС. Однако через

15 недель после операции по завершении изокинетических тренировок у спортсменов ОГ по параметру Stand time дефицит в опоре на ОК относительно ЗК составил 0,04%, по параметру «одиночная поддержка» — 3,71%, в сравнении со спортсменами ГС, у которых по параметру Stand time дефицит в опоре на ОК относительно ЗК составил 12,44%, по параметру «одиночная поддержка» — 18,55%. По параметру Swing-time у спортсменов ОГ дефицит в симметрии переноса ЗК относительно ОК составил 3,99%, а у спортсменов КГ — 20,54%.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные в ходе исследования результаты параметров походки у спортсменов ОГ могут говорить о более эффективном восстановлении мышечной силы стабилизаторов коленного сустава, нарушений опорной и локомоторной функции в послеоперационном периоде благодаря изокинетическим тренировкам за счет возможности изокинетической системы при достижении определенной угловой скорости создавать сопротивление, обеспечивающее мышечную нагрузку при выполнении упражнения, что соотносится с данными других авторов [9, 10]. Следовательно, сопротивление, которое приходится преодолевать спортсмену, является адаптируемым и постоянно изменяющимся пропорционально прилагаемому

Таблица 3. Сравнительная характеристика результатов обследованных спортсменов

Параметры ходьбы	ОГ (n = 30) Me/Q ₁ /Q ₃		ГС (n = 34) Me/Q ₁ /Q ₃	
	ЗК	ОК	ЗК	ОК
Stand time, %	Через 8 недель			
	68,6/68,03/ 69,75	57,6/55,23/ 59,78	69,15/ 67,05/ 50,45	55,70/ 50,45/ 56,9
Одиночная поддержка, %	42,9/37,65/45,23	31,9/31,4/32,6	44,1/ 43,48/ 48,43	31,35/ 30,13/ 32,73
Swing-time, %	31,4/30,3/32	42,4\40,2/44,8	30,85/29,43/ 34,73	44,3/43,1/49,55
Чувствительность к нагрузке, %	12,35/11,23/15,4	13,4/11,33/15,58	11,85/10,9/12,3	12,25/11,9/14,18
Pre-swing, %	15,1/12,5/16,7	11,95/11,6/14	12,05/11,6/13,65	11,65/ 11,33/ 13,08
Stand time, %	Через 15 недель			
	65,8/64,4/69,2	63,7/63/65,5	67,5/65,3/68,7	59,1/58,7/60,3
Одиночная поддержка, %	36,4/31,1/37,1	35,05/31,2/35,8	41,5/40,2/42,7	33,8/31,6/34,7
Swing-time, %	34,85/31,55/35,58	36,3/33,65/36,98	32,5/31,3/34,68	40,9/39,73/41,28
Чувствительность к нагрузке, %	15,2/14,3/18,5	14,7/18,1/18,1	13,4/12,7/14,8	13,5/12,7/14,1
Pre-swing, %	15/14/18,7	15,25/14,2/18,4	13,3/12,7/14,6	13,4/12,9/14,5

Примечание: Me — (медиана); Q₁ — квартиль 25%; Q₃ — квартиль 75%; различия между ОГ и ГС на уровне p < 0,05.

им усилию. В результате этого восстановление мышечной силы происходит эффективнее.

Выводы

1. Разработанная комплексная программа медицинской реабилитации после артроскопической пластики ПКС коленного сустава у представителей спорта высших достижений показала эффективность в восстановлении

мышечной силы стабилизаторов коленного сустава, нарушений опорной и локомоторной функции, симметрии в распределении нагрузки на нижние конечности. 2. Применение аппаратного оборудования с БОС у спортсменов позволяет ускорить процесс реабилитации и вернуться к прежнему уровню соревновательной активности. 3. Необходимо продолжить дальнейший поиск наиболее эффективной методики изокинетических тренировок на биомеханическом комплексе TECNOBODY IsoMove.

Литература

1. Prodromos CC, Han Y, Rogowski J, et al. A meta-analysis of the incidence of anterior cruciate ligament tears as a function of gender, sport, and a knee injury-reduction regimen. *Arthroscopy*. 2007; 23: 1320–5.
2. Moses B, Orchard J, Orchard J. Systematic review: annual incidence of ACL injury and surgery in various populations. *Res Sports Med*. 2012; 20: 157–79.
3. Yoo JH, Lim BO, Ha M, et al. A meta-analysis on the effect of neuromuscular training on the prevention of the anterior cruciate ligament injury in female athletes. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2010; 18: 824–30.
4. Myer GD, Sugimoto D, Thomas S, et al. The influence of age on the effectiveness of neuromuscular training to reduce anterior cruciate ligament injury in female athletes: a meta-analysis. *Am J Sports Med*. 2013; 41: 203–15.
5. Van Melick N, et al. Evidence-based clinical practice update: practice guidelines for anterior cruciate ligament rehabilitation based on a systematic review and multidisciplinary consensus. *Br J Sports Med*. 2016; 0: 1–13. DOI:10.1136/bjsports-2015-095898.
6. Реабилитация при повреждении капсульно-связочного аппарата коленного сустава (оперативное лечение). Клинические рекомендации Общероссийской общественной организации содействия развитию медицинской реабилитации "Союз реабилитологов России", 2015 г.
7. Федулова Д. В., Ямалетдинова Г. А. Сравнительный анализ программ лечебной гимнастики после артроскопической реконструкции передней крестообразной связки. Россия между модернизацией и архаизацией: 1917–2017 гг. Материалы XX Всероссийской научно-практической конференции Гуманитарного университета. 2017; 2: 459–64.
8. Айдаров В. И., Хасанов Э. Р., Ахтямов И. Ф. Программа реабилитации пациентов, перенесших пластику передней крестообразной связки коленного сустава. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2020; 97 (2): 29–35.
9. Marshall NE, et al. Current practice: postoperative and return to play trends after ACL reconstruction by fellowship-trained sports surgeons. *Musculoskeletal surgery*. 2019; 103 (1): 55–61. DOI: 10.1007/s12306-018-0574-4.
10. Cheng-Pu Hsieh, Ta-Sen Wei, Chia-Chieh Wu. The early effects of isokinetic muscle training on knee joint muscle strength after modified double-bundle anterior cruciate ligament reconstruction. *Int J Clin Exp Med*. 2016; 9 (7): 14461–70.
11. Тихилов Р. М., Трачук А. П., Богопольский О. Е., Серебряк Т. В. Восстановительное лечение после артроскопии коленного сустава (руководство для пациентов). Санкт-Петербург: Российский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. П. П. Вредена, 2006.
12. Объективная оценка функции ходьбы. Клинические рекомендации Национальной ассоциации по борьбе с инсультом, Союза реабилитологов России, Российской ассоциации по спортивной медицине и реабилитации больных и инвалидов, Межрегиональной общественной организации «Объединение нейроанестезиологов и нейрореаниматологов», 2016.
13. Скворцов Д. В. Клинический анализ движений. Анализ походки. Москва: Стимул, 1996; 375 с.

References

1. Prodromos CC, Han Y, Rogowski J, et al. A meta-analysis of the incidence of anterior cruciate ligament tears as a function of gender, sport, and a knee injury-reduction regimen. *Arthroscopy*. 2007; 23: 1320–5.
2. Moses B, Orchard J, Orchard J. Systematic review: annual incidence of ACL injury and surgery in various populations. *Res Sports Med*. 2012; 20: 157–79.
3. Yoo JH, Lim BO, Ha M, et al. A meta-analysis on the effect of neuromuscular training on the prevention of the anterior cruciate ligament injury in female athletes. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2010; 18: 824–30.
4. Myer GD, Sugimoto D, Thomas S, et al. The influence of age on the effectiveness of neuromuscular training to reduce anterior cruciate ligament injury in female athletes: a meta-analysis. *Am J Sports Med*. 2013; 41: 203–15.
5. Van Melick N, et al. Evidence-based clinical practice update: practice guidelines for anterior cruciate ligament rehabilitation based on a systematic review and multidisciplinary consensus. *Br J Sports Med*. 2016; 0: 1–13. DOI:10.1136/bjsports-2015-095898.
6. Reabilitaciya pri povrezhdenii kapsul'no-svyazochnogo apparata kolennogo sustava (operativnoe lechenie). Klinicheskie rekomendacii Obshherossijskoj obshhestvennoj organizacii sodejstviya razvitiyu medicinskoj reabilitologii "Soyuz reabilitologov Rossii", 2015 g. Russian.
7. Fedulova DV, Yamaletdinova GA. Sravnitel'nyj analiz programm lechebnoj gimnastiki posle artroskopicheskoy rekonstrukcii perednej krestoobraznoj svyazki. Rossiya mezhdumodernizaciej i arxaizaciej: 1917–2017 gg. Materialy XX Vserossijskoj nauchno-prakticheskoy konferencii Gumanitarnogo universiteta. 2017; 2: 459–64. Russian.
8. Ajdarov VI, Xasanov EhR, Axtyamov IF. Programma reabilitacii pacientov, perenesshix plastiku perednej krestoobraznoj svyazki kolennogo sustava. Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoj fizicheskoj kul'tury. 2020; 97 (2): 29–35. Russian.
9. Marshall NE, et al. Current practice: postoperative and return to play trends after ACL reconstruction by fellowship-trained sports surgeons. *Musculoskeletal surgery*. 2019; 103 (1): 55–61. DOI: 10.1007/s12306-018-0574-4.
10. Cheng-Pu Hsieh, Ta-Sen Wei, Chia-Chieh Wu. The early effects of isokinetic muscle training on knee joint muscle strength after modified double-bundle anterior cruciate ligament reconstruction. *Int J Clin Exp Med*. 2016; 9 (7): 14461–70.
11. Tixilov RM, Trachuk AP, Bogopolskij OE, Serebryak TV. Vosstanovitel'noe lechenie posle artroskopii kolennogo sustava (rukovodstvo dlya pacientov). Sankt-Peterburg: Rossijskij nauchno-

- issledovatel'skij institut travmatologii i ortopedii im. R. R. Vredena, 2006. Russian.
12. Ob'ektivnaya ocenka funkcii hod'by. Klinicheskie rekomendacii Nacional'noj associacii po bor'be s insul'tom, Soyuz reabilitologov Rossii, Rossijskoj associacii po sportivnoj medicine i reabilitacii bol'nyx i invalidov, Mezhtselevoj obshhestvennoj organizacii «Ob'edinenie nejroanesteziologov i nejroreanimatologov», 2016. Russian.
13. Skvorcov DV. Klinicheskij analiz dvizhenij. Analiz poxodki. Moskva: Stimul, 1996; 375 s. Russian.

РАННЯЯ КОМПЛЕКСНАЯ РЕАБИЛИТАЦИЯ ПАЦИЕНТА С ПОСТОПЕРАЦИОННОЙ ДИСФАГИЕЙ

О. С. Орлова^{1,2,3}, М. Ш. Магомед-Эминов⁴, Д. В. Уклонская⁵ ✉, Ю. М. Зборовская⁴¹ Федеральный центр мозга и нейротехнологий Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия² Национальный медицинский исследовательский центр оториноларингологии Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия³ Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия⁴ Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия⁵ Центральная клиническая больница «РЖД-Медицина», Москва, Россия

Хирургическое лечение заболеваний щитовидной железы и органов средостения может привести к послеоперационным парезам и параличам гортани, сопровождающимся расстройствами функций дыхания, голоса и глотания. Традиционно большое внимание уделяется коррекции нарушений фонации. Методы нормализации глотания описаны недостаточно. В статье представлен клинический случай раннего логопедического воздействия в целях нивелирования послеоперационной дисфагии, обусловленной ограничением подвижности гортани. Проведена подробная диагностика расстройства глотания у пациентки до начала логопедической коррекции дисфагии и по ее завершении. Описаны основные направления и результаты коррекционно-педагогической работы с психологическим сопровождением в рамках комплексной реабилитации. Полученные результаты подтверждают необходимость коррекционного воздействия на ранних этапах реабилитации в случае возникновения дисфагии при парезах и параличах гортани у пациентов хирургического профиля.

Ключевые слова: парезы и параличи гортани, дисфагия, логопедическое воздействие, ранняя реабилитация, психологическое сопровождение

Вклад авторов: О. С. Орлова, М. Ш. Магомед-Эминов, Д. В. Уклонская — разработка исследования; Д. В. Уклонская, Ю. М. Зборовская — литературный обзор; Д. В. Уклонская, Ю. М. Зборовская — проведение исследования; Д. В. Уклонская, Ю. М. Зборовская — подготовка текста; О. С. Орлова, М. Ш. Магомед-Эминов — редактирование.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено этическим комитетом ФЦМН ФМБА России (протокол № 01/28-03-22 от 28 марта 2022 г.), проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации; пациентом подписано информированное согласие на участие в исследовании и публикацию данных.

✉ **Для корреспонденции:** Дарья Викторовна Уклонская
ул. Будайская, д. 2, г. Москва, 129128, Россия; d_uklonskaya@mail.ru

Статья получена: 31.03.2022 **Статья принята к печати:** 05.05.2022 **Опубликована онлайн:** 01.06.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.017

EARLY COMPREHENSIVE REHABILITATION OF PATIENT WITH POSTOPERATIVE DYSPHAGIA

Orlova OS^{1,2,3}, Magomed-Eminov MSh⁴, Uklonskaya DV⁵ ✉, Zborovskaya YuM⁴¹ Federal Center of Brain and Neurotechnologies of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia² National Medical Research Center for Otorhinology of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia³ Moscow Pedagogical State University, Moscow, Russia⁴ Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia⁵ Central Clinical Hospital RZD-Medicine, Moscow, Russia

Postoperative paresis and paralysis of the larynx, associated with breathing, voice and swallowing disorders, are actual problem of surgical treatment of the thyroid and mediastinal diseases. Traditionally, more attention is paid to phonation disorders treatment. Swallowing recovery methods are not described sufficiently. The paper reports a clinical case of early speech therapy intervention aimed at alleviating postoperative dysphagia caused by the limited flexibility of the larynx. Detailed swallowing disorder diagnosis in patient was carried out before and after the logopaedic correction of dysphagia. The main directions and results of the correctional and pedagogical work with psychological support within comprehensive rehabilitation are described. The findings confirm the need for correctional impact during the early stages of rehabilitation in case of dysphagia in surgical patients with the paresis or paralysis of the larynx.

Keywords: paresis and paralysis of the larynx, dysphagia, logopaedic impact, early rehabilitation, psychological support

Author contribution: Orlova OS, Magomed-Eminov MSh, Uklonskaya DV — study concept; Uklonskaya DV, Zborovskaya YuM — literature review; Uklonskaya DV, Zborovskaya YuM — research procedure; Uklonskaya DV, Zborovskaya YuM — manuscript writing; Orlova OS, Magomed-Eminov MSh — editing.

Compliance with ethical standards: the study was approved by the Ethics Committee of the Federal Center of Brain and Neurotechnologies of FMBA of Russia (protocol № 01/28-03-22 dated March 28, 2022), and conducted in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association; the patient submitted the informed consent to participation and release of data.

✉ **Correspondence should be addressed:** Daria V. Uklonskaya
Budayskaya, 2, Moscow, 129128, Russia; d_uklonskaya@mail.ru

Received: 31.03.2022 **Accepted:** 05.05.2022 **Published online:** 01.06.2022

DOI: 10.47183/mes.2022.017

Одним из самых распространенных осложнений хирургических вмешательств на щитовидной и паращитовидных железах, а также органах грудной клетки являются парезы и параличи гортани, обусловленные травматизацией возвратного гортанного нерва [1, 2]. Успешно сделанная хирургическая операция не всегда дает ожидаемый функциональный результат и иногда вызывает послеоперационные осложнения, при которых нарушаются дыхание и голосовая функция, что

приводит к коммуникативным трудностям и снижает трудоспособность. Расстройства фонации и дыхания сохраняются длительное время и представляют проблему при осуществлении мероприятий по комплексной реабилитации, направленных на ресоциализацию и улучшение качества жизни [3, 4].

Гортань не только обеспечивает важнейшие для организма дыхательную и голосовую функции, но и участвует в акте глотания. По нашим наблюдениям, в

послеоперационном периоде специфически нарушается глотание. В литературе при описании клинической картины периферических нейрогенных парезов и параличей гортани авторы акцентируют внимание на нарушениях дыхания и голосовой функции; а при коррекции функциональных расстройств не уделяется внимания нивелированию специфических нарушений глотания, обусловленных ограничениями подвижности гортани. Большинство известных и эффективных методов устранения глотательных расстройств предложены зарубежными и отечественными специалистами для нормализации акта приема пищи при острых нарушениях мозгового кровообращения, травмах и опухолях мозга [3, 5–7].

Методы последовательной реабилитации нельзя признать оправданными для случаев с расстройствами витальных функций. Риск аспирации пищи и жидкостей в дыхательные пути, развивающийся в первые часы после хирургического лечения, диктует необходимость раннего начала реабилитационного воздействия. Традиционно коррекционные мероприятия по нивелированию глотательных расстройств находятся в профессиональном поле деятельности логопеда [8–10]. Специфика проявления периферических нейрогенных расстройств глотания у пациентов хирургического профиля, в том числе и онкологических, представляет определенные сложности для специалистов и требует особых подходов к реабилитации. Диагноз «злокачественная опухоль» ограничивает применение ряда методов преодоления дисфагии (логопедический массаж, стимуляция с помощью аппаратных методик), широко применяемых в системе реабилитации при сосудистой патологии головного мозга и последствиях инсульта [6, 7].

Согласно нормативным документам Минздрава РФ, процесс реабилитации необходимо осуществлять на основе клинических рекомендаций междисциплинарной реабилитационной командой. Первый этап рекомендуется осуществлять в структурных подразделениях медицинской организации, в том числе и по профилю «Онкология». Для достижения максимально возможного эффекта реабилитации в составе команды необходимым звеном будут специалисты психолого-педагогического звена: логопед/медицинский логопед и психолог/медицинский психолог [11].

Целью работы было на примере клинического случая определить особенности проявления нарушений глотания и эффективные пути ранней реабилитации функции глотания при постоперационной дисфагии, представить персонализированную программу ранней реабилитации при расстройствах акта глотания после хирургического лечения опухолей головы и шеи в рамках междисциплинарного взаимодействия [12], а также оптимальные и эффективные логопедические технологии нивелирования постоперационных расстройств глотания с учетом особенностей основного заболевания.

Описание клинического случая

Под нашим наблюдением находилась пациентка К-ко Г. С., которая повторно поступила для хирургического лечения после тиреоидэктомии по поводу рака щитовидной железы Т1N1M0.

При непрямой ларингоскопии в дооперационном периоде все элементы гортани у пациентки дифференцировались, голосовые складки ровные, подвижность была сохранена в

полном объеме. Голос и речевое дыхание без особенностей. Нарушений процесса приема пищи не отмечено.

С пациенткой проведена предоперационная беседа с целью установления контакта, оказания психологической поддержки, формирования мотивации к реабилитации, а также о механизмах голосообразования и речевого дыхания. Пациентка ознакомлена с основными правилами физиологически обоснованного речевого дыхания и обучена элементарным навыкам владения диафрагмальным типом дыхания.

Оперативное вмешательство провели в объеме фасциально-фулярного иссечения клетчатки шеи справа, передней лимфодиссекции шеи. В послеоперационном периоде пациентка предъявляла жалобы на дискомфорт в зоне операции, неприятные ощущения в области гортани, ухудшение голоса и речевого дыхания, затруднения при приеме жидкостей — кашель и поперхивания. При непрямой ларингоскопии был диагностирован парез гортани справа.

Для оценки степени тяжести расстройств глотания с помощью анкетирования выяснили состояние полости рта и зубного ряда, наличие трудностей жевания, глотания при приеме жидкостей или твердой пищи, предпочтительную консистенцию принимаемой пищи, фиксировали ощущения «застревания» пищи в области глотки, боль при приеме пищи. Особое внимание обращали на эмоциональные ощущения в процессе приема пищи, а также изменения веса. При заполнении анкеты для субъективной оценки глотательных трудностей женщина указала на проблемы при питье жидкостей (чай, кофе, вода, сок), которые определяла как крайне пугающие.

Психологическое сопровождение включало смысловнарративный анализ бесед с пациенткой в рамках деятельностно-смыслового подхода в течение курса реабилитационных мероприятий и было направлено на оценку динамики ее психологического состояния на разных этапах занятий с логопедом [13]. На этапе диагностики выявлено значительное превалирование категорий тревоги, страха, опасений, замкнутости и затруднения во взаимодействии со специалистами. Мотивационная комбинация равномерно включала ориентацию на успех и ориентацию на неудачу, стремление к принятию и страх отвержения, что усложняло формирование реабилитационной мотивации.

Для уточнения характера и тяжести расстройств глотания в раннем послеоперационном периоде (на 2-й день) проведено логопедическое обследование, включающее оценку состояния физиологического и фонационного дыхания, максимального времени фонации гласных (МВФ) и аудитивную оценку голоса по шкале Union of the European Phoniaticians (UEP). [3] При аудитивной оценке учитывали мнение трех аудиторов из числа членов междисциплинарной реабилитационной команды. Аудитивная оценка голоса в нашем случае составила 3 балла по шкале UEP (умеренная дисфония), МВФ — 5,3 с.

Предварительное исследование глотательных нарушений проводили с помощью трехглотковой пробы (предложено сделать последовательно три глотка воды из ложки. После того как пациентка справилась с заданием, ей было предложено выпить полстакана воды; на этом этапе зафиксированы поперхивания, пациентка закашлялась). Кроме того, врач-эндоскопист в присутствии оперирующего хирурга и логопеда проводил видеоларингоскопическое исследование с оценкой акта глотания в режиме реального времени с использованием

пищевого красителя — комплексной пищевой добавки «Краситель синий» Patented Blue V (Zeelandia; Нидерланды), воды и загустителя Resource ThickenUp Clear (Nestle; Швейцария). Для оценки акта глотания проводили последовательное глотание жидкостей трех консистенций с последующей оценкой состояния гортани по запатентованной методике [14].

По результатам видеоларингоскопии с оценочной пробой акта глотания, надгортанник расположен симметрично, подвижен. Правая половина гортани ограничено подвижна. Голосовая складка в парамедиальном положении. Голосовая щель достаточна для дыхания, при фонации остается линейная щель до 2 мм. Подскладочное пространство и грушевидные синусы свободны. При глотании жидкости все элементы гортани до голосовых складок включительно окрашиваются контрастным веществом; окрашенный раствор попадает в нижние дыхательные пути, проникая ниже голосовых складок, вызывает кашель, что оценено как аспирация в дыхательные пути с адекватным защитным рефлексом. Проба с красителем положительная.

Заключение: парез правой половины гортани. Умеренная фарингеальная дисфагия.

Выбор упражнений для последующей речевой реабилитации детерминирован особенностями ларингоскопической картины и состоянием акта глотания [4, 10].

На 3-и сутки после хирургического лечения был начат курс логопедических занятий с психологическим сопровождением. Основные задачи — увеличение активности глоточных мышц и восстановление координационного взаимодействия между глоткой и гортанью в процессе осуществления глотательного движения.

Пациентке рекомендовано продолжать комплекс дыхательных упражнений с целью нормализации фонационного выдоха и выработки физиологически обусловленного типа дыхания, выполнение упражнения «сухой глоток» (Effortful Swallow) по три повторения до 10 раз в день [15].

С целью облегчения физического и психологического дискомфорта пациентки в процессе приема пищи даны рекомендации по питанию с учетом характера и тяжести расстройств глотания (постуральные позы — маневр Chin Thuck), консистенция пищи (сгущение жидкостей до состояния густого сиропа) [4].

Следует специально отметить положительное влияние на эмоциональную сферу пациента необходимости активной деятельности в послеоперационном периоде, что способствует проведению особой смысловой работы в новой, неповседневной жизненной ситуации. Среди особенностей проведения логопедических занятий в раннем послеоперационном периоде важно подчеркнуть наличие астенизации после перенесенного хирургического лечения, которая может усугубляться по мере усложнения дисфагии. Этот факт требовал проведения занятий в щадящем режиме, подробно, с постепенным увеличением нагрузки и длительности занятий, а также с усложнением предлагаемого материала по мере смены этапов реабилитационного воздействия.

Через неделю пациентка смогла выполнять дыхательную гимнастику, что позволило перейти к этапу активных тренировок с использованием методов «прямой» терапии (упражнения на активизацию глоточных мышц, мускулатуры мягкого неба и гортани). Применяли также методы «непрямой терапии»: функциональные тренировки

с использованием небольших объемов пищи или жидкости. Продолжали повторение упражнения «сухой глоток» с увеличением дозировки нагрузки (по 5 повторений 10–12 раз в день).

После 14 дней были отмечены дальнейшие улучшения: уменьшилось число поперхиваний во время приема пищи, увеличились звучность голоса и длительность фонационного выдоха. Рекомендовано продолжать диету и увеличить число повторений упражнения «сухой глоток» до 7 за прием. Через 21 день начат этап автоматизации навыка «безопасного» глотания; упражнения на произнесение гласных и их сочетаний и дифференциацию процесса глотания, дыхания и фонации.

Обсуждение клинического случая

После четырехнедельного курса логопедического воздействия вновь провели видеоларингоскопию с оценочной пробой акта глотания [14]. По ее результатам, надгортанник подвижен и расположен симметрично. Правая половина гортани ограничено подвижна. Голосовая складка находится в парамедиальном положении. Голосовая щель достаточна для дыхания, при фонации отмечается тенденция к смыканию голосовых складок на стороне поражения за счет увеличения активности левой голосовой складки. Подскладочное пространство, грушевидные синусы свободны. При глотании жидкостей трех предложенных консистенций — все элементы гортани до голосовых складок включительно не имеют признаков окрашивания. Аспирации в дыхательные пути не выявлено. Проба с красителем отрицательная.

Заключение: постоперационный парез правой половины гортани. Без дисфагии.

При проведении повторного анкетирования пациентка отрицала трудности при питье жидкостей и не испытывала чувства «застывания» пищи при глотании, отмечая, что принимает пищу без ограничений по консистенции и не испытывает отрицательных эмоций в процессе приема жидкостей. На заключительных этапах реабилитации продолжались логопедические занятия, направленные на нормализацию фонационного выдоха и улучшение акустических характеристик голоса с положительным эффектом [3].

Таким образом, с раннего постоперационного периода в рамках программы комплексной реабилитации проводили логопедические занятия не только по нормализации фонационного дыхания и голоса. Логопедическое воздействие начиналось с адаптации к новым условиям приема жидкостей и устранения явлений дисфагии с 3-го дня после проведенного хирургического лечения. Мероприятия по коррекции дисфагии в раннем послеоперационном периоде оказали положительное влияние на эффективность реабилитационных мероприятий, в короткие сроки сгладили трудности, связанные с процессом приема пищи. Безотлагательное нивелирование нарушений глотания позволило значительно облегчить физический и психологический дискомфорт пациентки. Сравнительный анализ нарративов пациентки в начале и по завершении мероприятий по нивелированию дисфагии выявил сдвиг направленности мотивации к ориентации на успех, а также к стремлению к принятию. Число утверждений пациентки, связанных с категориями тревоги и страха, снизилось на фоне увеличения числа утверждений, связанных с уверенностью в достижении высокого результата реабилитации. Все

вышеперечисленное создало необходимые условия для проведения в дальнейшем успешной речевой реабилитации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют, что своевременное логопедическое воздействие, направленное на нормализацию акта глотания на примере вышеописанного клинического случая, можно признать необходимым и безотлагательным направлением восстановительного

воздействия на ранних этапах реабилитации при возникновении явлений постоперационной дисфагии. Раннее начало коррекционно-педагогических занятий с психологическим сопровождением в рамках комплексной реабилитации способствовало достижению стойкого положительного эффекта, улучшило психологическое состояние пациентки, оказывая благоприятное влияние на качество жизни, способствуя повышению уровня реабилитационного потенциала и проведению особой смысловой работы личности в новой, неповседневной ситуации существования.

Литература

1. Решетов И. В., Полунин Г. В., Ананичук А. В., Ипполитов Л. И., Коваленко А. А. Возможности восстановления функции гортани: современный подход. Вестник оториноларингологии. 2017; 82 (6): 18–23.
2. Клинические рекомендации. Дифференцированный рак щитовидной железы. М.: Министерство здравоохранения РФ, 2020; 47 с.
3. Лаврова Е. В. Логопедия. Основы фонopedии. М.: В. Секачев, 2016; 182 с.
4. Орлова О. С., Уклонская Д. В. Оптимизация методов коррекционно-педагогического воздействия при нарушениях речи и глотания у лиц после хирургического лечения опухолей головы и шеи. Специальное образование. 2017; 3 (47): 122–30.
5. Икенштейн, Гунтрам В. и др. Диагностика и лечение нейрогенной дисфагии. Бремен-Лондон-Бостон: UNI-MED Verlag AG; 96 с.
6. Балашова И. Н., Белкин А. А., Зуева Д. Н. Диагностика и лечение дисфагии при заболеваниях центральной нервной системы. Клинические рекомендации. М., 2013; 38 с.
7. Орлова О. С., Уклонская Д. В., Покровская Ю. А., Полякова Т. А., Бердникович Е. С., Минаева О. Д. и др. Дисфагия у детей и взрослых. Логопедические технологии. М.: ЛОГОМАГ, 2020; 116 с.
8. Uklonskaya D, Agaeva V, Pokrovskaya Yu. Professionalism of speech pathologist as a member of multidisciplinary team: competence in dysphagia correction. SHS Web of Conferences. 2020; (87): Art.№00066.
9. Магомед-Эминов М. Ш., Орлова О. С., Уклонская Д. В., Зборовская Ю. М. Логопедическая работа как значимый аспект ранней комплексной реабилитации пациентов после хирургического лечения опухолей головы и шеи. Современный ученый. 2020; (4): 35–40.
10. Wing-Hei Viola Yu, Che-Wei Wu. Speech therapy after thyroidectomy. Gland Surg. 2017; 6 (5): 501–9.
11. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 31 июля 2020 г. N788н «Об утверждении Порядка организации медицинской реабилитации взрослых».
12. Дайхес Н. А. Междисциплинарный подход и новые технологии в научно-клиническом развитии оториноларингологии. Вестник Российской Академии Наук. 2021; 91 (7): 58–65.
13. Магомед-Эминов М. Ш. Деятельностно-смысловой подход к психологической трансформации личности [диссертация]. М., 2009.
14. Лелюк С. А., Уклонская Д. В., Решетов Д. Н., Соколова О. Б., Тимченко И. В., Хохлов И. А., Матвеева С. П., авторы; Лелюк С. А., Уклонская Д. В., патентообладатели. Способ диагностики нейрогенной периферической дисфагии при ограничениях подвижности гортани под контролем трансназальной эндоскопической ларингоскопии. Патент РФ № RU 2748545 С1. 26.05.2021.
15. Malagelada J, Bazzoli F, Voeckxstaens G, De Looze D, Fried M, Kahrilas P. и др. Дисфагия. Глобальные практические рекомендации и Каскады. Обновление Сентябрь 2014. Всемирная гастроэнтерологическая организация, 2014; 25 с.

References

1. Reshetov IV, Polunin GV, Ananichuk AV, Ippolitov LI, Kovalenko AA. Vozmozhnosti vosstanovleniya funktsii gortani: sovremennyy podhod. Vestnik otorinolaringologii. 2017; 82 (6): 18–23. Russian.
2. Klinicheskie rekomendatsii. Differencirovannyj rak shchitovidnoj zhelezy. M.: Ministerstvo zdavoohraneniya RF, 2020; 47 s. Russian.
3. Lavrova EV. Logopediya. Osnovy fonopedii. M.: V. Sekachev, 2016; 182 s. Russian.
4. Orlova OS, Uklonskaya DV. Optimizatsiya metodov korrektsionno pedagogicheskogo vozdejstviya pri narusheniyah rechi i glotaniya u lits posle hirurgicheskogo lecheniya opuholej golovy i shei. Spetsialnoe obrazovanie. 2017; 3 (47): 122–30. Russian.
5. Ikenshtejn, Guntram V. i dr. Diagnostika i lechenie nejrogennoj disfagii. Bremen-London-Boston: UNI-MED Verlag AG; 96 s. Russian.
6. Balashova IN, Belkin AA, Zueva DN. Diagnostika i lechenie disfagii pri zabolevaniyah tsentralnoj nervnoj sistemy. Klinicheskie rekomendatsii. M., 2013; 38 s. Russian.
7. Orlova OS, Uklonskaya DV, Pokrovskaya YuA, Polyakova TA, Berdnikovich ES, Minaeva OD i dr. Disfagiya u detej i vzroslyh. Logopedicheskie tekhnologii. M.: LOGOMAG, 2020; 116 s. Russian.
8. Uklonskaya D, Agaeva V, Pokrovskaya Yu. Professionalism of speech pathologist as a member of multidisciplinary team: competence in dysphagia correction. SHS Web of Conferences. 2020; (87): Art.№00066.
9. Magomed Eminov MSh, Orlova OS, Uklonskaya DV, Zborovskaya YuM. Logopedicheskaya rabota kak znachimyj aspekt rannej kompleksnoj reabilitatsii patsientov posle hirurgicheskogo lecheniya opuholej golovy i shei. Sovremennyy uchyonyj. 2020; (4): 35–40. Russian.
10. Wing-Hei Viola Yu, Che-Wei Wu. Speech therapy after thyroidectomy. Gland Surg. 2017; 6 (5): 501–9.
11. Prikaz Ministerstva zdavoohraneniya RF ot 31 iyulya 2020 g. N788n «Ob utverzhdenii Poryadka organizatsii medicinskoj reabilitatsii vzroslyh». Russian.
12. Dajhes NA. Mezhdisciplinarnyj podhod i novye tekhnologii v nauchno-klinicheskom razvitii otorinolaringologii. Vestnik Rossijskoj Akademii Nauk. 2021; 91 (7): 58–65. Russian.
13. Magomed-Eminov MSh. Deyatel'nostno-smyslovoj podhod k psihologicheskoy transformatsii lichnosti [dissertatsiya]. M., 2009. Russian.
14. Lelyuk SA, Uklonskaya DV, Reshetov DN, Sokolova OB, Timchenko IV, Hohlov IA, Matveeva SP, avtory; Lelyuk SA, Uklonskaya DV, patentoobladateli. Sposob diagnostiki nejrogennoj perifericheskoy disfagii pri ogranicheniyah podvizhnosti gortani pod kontrol'em

transnazal'noj endoskopicheskoj laringoskopii. Patent RF № RU 2748545 C1. 26.05.2021. Russian.

15. Malagelada J, Bazzoli F, Boeckxstaens G, De Looze D,

Fried M, Kahrilas P i dr. Disfagiya. Global'nye prakticheskie rekomendacii i Kaskady. Obnovlenie Sentyabr' 2014. Vsemirnaya gastroenterologicheskaya organizaciya, 2014; 25 s. Russian.