

# Эрадикация, сохранение штамма, смена штамма — исходы антихеликобактерной терапии

\*Е. В. ГОЛУБКИНА<sup>1</sup>, В. М. СОРОКИН<sup>2</sup>, Б. Н. ЛЕВИТАН<sup>1</sup>,  
А. Р. УМЕРОВА<sup>1</sup>, Н. В. КАМНЕВА<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Астрахань, Российская Федерация

<sup>2</sup> ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

## Eradication, Strain Preservation, Strain Change — Outcomes of *Helicobacter pylori* Therapy

\*ELENA V. GOLUBKINA<sup>1</sup>, VLADIMIR M. SOROKIN<sup>2</sup>, BOLES LAV N. LEVITAN<sup>1</sup>,  
ADELYA R. UMEROVA<sup>1</sup>, NATALIA V. KAMNEVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russia

<sup>2</sup> Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадzor, Rostov-on-Don, Russia

### Резюме

**Актуальность.** Вопрос о контроле результатов антихеликобактерной терапии, если сводить его исключительно к эрадикации *Helicobacter pylori* (Hp), представляется спорным с учётом широко известных данных об обнаружении Hp, включая вирулентные штаммы Hp, у большинства здоровых лиц. **Цель исследования:** отследить динамику заселения желудка различными штаммами Hp у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки (ЯБ) сразу после применения стандартной трёхкомпонентной антихеликобактерной терапии (АХТ) и через 1,5–2 мес. после АХТ. **Методы.** Генотипирование штаммов Hp проводилось методом VNTR вместе с определением *cagA* гена. **Результаты.** У больных ЯБ оценка результатов АХТ в виде «эрадикация Hp — повторное обнаружение Hp» (т. е. без учёта определения штаммов Hp) давала меньшую достоверности различий, чем оценка «эрадикация — сохранение штамма или смена штамма»; кроме того, различия между исходной бактериологической картиной и наблюдаемой сразу после АХТ находились на грани достоверности, тогда как различия между исходной бактериологической картины и наблюдаемой через 1,5–2 мес. имели высокую степень достоверности. У больных ЯБ на отдалённых сроках наблюдения увеличилось число эрадикаций (эрадикации, достигнутые сразу после АХТ, не сохранились, кроме одной) и уменьшилось число *cagA*-содержащих штаммов (за счёт новых эрадикаций, выявленных на поздних сроках наблюдения, и за счёт смены штаммов). **Заключение.** Поскольку у всех пациентов с ЯБ была достигнута клиническая ремиссия, сохранявшаяся ближайшие 1,5–2 мес., то успешность АХТ не следует однозначно связывать с эрадикацией Hp; более вероятным является восстановление колонизационной резистентности организма к Hp после курса проведённой терапии.

**Ключевые слова:** *Helicobacter pylori*; язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки; хронический гастрит; VNTR-типирование

**Для цитирования:** Голубкина Е. В., Сорокин В. М., Левитан Б. Н., Умерова А. Р., Камнева Н. В. Эрадикация, сохранение штамма, смена штамма — исходы антихеликобактерной терапии. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66: 3–4: 18–26. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-3-4-18-26.

### Abstract

**Relevance.** If we reduce the treatment exclusively to the eradication of *Helicobacter pylori* (Hp), the question of monitoring the results of anti-Hp therapy is controversial, given the widely known data on the detection of Hp, including virulent strains of Hp, in most healthy individuals. **The aim of the study:** to track the dynamics of stomach colonization with various Hp strains in patients with gastric ulcer and duodenal ulcer (PUD) immediately after the use of standard three-component anti-Hp therapy (AHT) and 1.5–2 months after AHT. **Methods.** Genotyping of Hp strains was carried out by the VNTR method together with the determination of the *cagA* gene. **Results.** Assessment of the results of AHT in the form of «eradication of Hp — re-detection of Hp» (i. e., without taking the determination of Hp strains into account) showed less reliability in the differences than the «eradication — preservation of the strain or change of the strain» score in patients with PUD; in addition, the differences between the initial bacteriological picture and that observed immediately after AHT were on the verge of reliability, while the differences between the initial bacteriological picture and that observed after 1.5–2 months had a high degree of reliability. The number of eradications increased (eradication achieved immediately after AHT was not preserved, except for one) and the number of *cagA*-containing strains decreased (due to new eradication detected at late follow-up periods and due to a change in strains) in long-term follow-up in patients with PUD. **Conclusion.** Since all

© Коллектив авторов, 2021

\*Адрес для корреспонденции: ул. Бакинская, 121, Астраханский ГМУ, г. Астрахань, 414000. E-mail: kamnevy@mail.ru

© Team of Authors, 2021

\*Correspondence to: E-mail: kamnevy@mail.ru

patients with PUD achieved clinical remission, which lasted for the next 1.5–2 months, the success of AHT should not be unambiguously associated with the eradication of Hp; the restoration of the organism's colonization resistance to Hp after a course of therapy is more likely.

**Keywords:** hydrogen peroxymonosulfate; ampicillin; spectrophotometry; voltammetry; redox titration

**For citation:** Golubkina E.V., Sorokin V.M., Levitan B.N., Umerova A.R., Kamneva N.V. Eradication, strain preservation, strain change — outcomes of *Helicobacter pylori* therapy. *Antibiot i khimioter.* 2021; 66: 3–4: 18–26. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-3-4-18-26.

## Введение

**Актуальность.** Вопрос о контроле результатов антихеликобактерной терапии, во-первых, сводится к понятию эрадикации как эквиваленту успеха лечения обострения хронической хеликобактерной инфекции желудка. Уже это представляется спорным с учётом широко известных данных об обнаружении *Helicobacter pylori* (Hp) у большинства здоровых лиц. Во-вторых, контроль эрадикации распадается на несколько аспектов: 1) когда проверять? т. е. через какое время после курса антихеликобактерной терапии? 2) какими методами проверять? 3) является ли достигнутая эрадикация стойким феноменом, или она быстро переходит в некий хеликобактерный комменсализм? На вопросы 1) и 2) Маастрихт 5 даёт следующие ответы: «Уреазный дыхательный тест является лучшим способом подтверждения эрадикации Hp, альтернативой данному методу считается моноклональный фекальный антигенный тест. Эти исследования следует проводить спустя 4 недели (минимум) после завершения эрадикационной терапии» [1]; отечественные исследователи добавляют сюда и анализ биопсийного материала, при условии взятия двух биопсий из тела желудка и одной — из антрума [2]. Требования Маастрихт 5, основанные на биохимии и серологии микроба, сводят к нулю всю имеющуюся информацию о генетике штамма Hp, а следовательно и возможность контроля вирулентности штамма Hp, если эрадикация не достигнута. На наш взгляд в вопросе о контроле антихеликобактерной терапии надо идти не в сторону недифференцированного контроля (т. е. выяснения, есть микроб в организме или нет), а максимально уточнять, какой перед нами штамм, — тот ли, который был исходно? (если эрадикация не была достигнута), — а в случае достижения эрадикации проконтролировать, не сменилась ли достигнутая эрадикация на рецидивирование (прежний штамм) или реинфекцию (новый штамм)? В настоящее время существуют инструменты, выявляющие штаммовую принадлежность микроорганизма; одним из универсальных методов молекулярного генотипирования является метод определения переменных тандемных повторов того или иного локуса — variable number tandem repeats analysis;

важной особенностью VNTR-локусов является их наследование [3].

*Цель исследования* — отследить динамику уничтожения и повторного заселения желудка штаммами Hp на близких и отдалённых сроках после проведения антихеликобактерной терапии.

## Материал и методы

Поступавшим в стационар больным с язвенным анамнезом и клинической картиной язвенной болезни желудка или язвенной болезни двенадцатиперстной кишки (ЯБ) проводилась эзофагогастродуоденоскопия (ЭГДС) с взятием биопсии и проведением экспресс-теста на наличие Hp; при обнаружении Hp такой больной рассматривался как потенциальный объект нашего исследования, если у больного не было выраженной сопутствующей патологии; рандомизированный подход не ограничивал набор больных по полу и возрасту. Это I этап исследования: гастробиоптат взят до лечения. Проводилась трёхкомпонентная антихеликобактерная терапия первой линии продолжительностью до 10 дней: омепразол 20 мг 2 раза в сутки, амоксициллин 1000 мг 2 раза в сутки, кларитромицин 500 мг 2 раза в сутки. После проведения курса антихеликобактерной терапии больному ЯБ проводилось повторное гастроскопическое исследование (как минимум для контроля репаративных процессов в желудке); взятый при этом гастробиоптат являлся вторым исследуемым объектом (II этап исследования). Третий гастробиоптат брался при проведении ЭГДС амбулаторно, через 1,5–2 мес. после выписки больного из стационара, когда данный пациент находился в состоянии ремиссии (III этап исследования). Основная группа состояла из 12 пациентов.

Проблематичным являлся выбор группы сравнения, поскольку обнаружение хеликобактера у больного, обратившегося к врачу с жалобами язвенного характера, при соответствующей гастроскопической картине, неизбежно требовало проведения антихеликобактерного лечения. Выход был найден при наблюдении за амбулаторными пациентами, не имевшими язвенного анамнеза, но имевшими анамнез вялотекущего гастрита; жалобы таких больных ограничивались несильными тянущими болями в эпигастрии и левом подреберье, натошак или после еды, часто также были жалобы на изжогу. После ЭГДС, выявлявшей лишь признаки гастрита, но при взятии гастробиоптатов с положительным экспресс-тестом на Hp, больному предлагалось пройти курс антихеликобактерной терапии. Отсутствие данных за язвенный дефект (при ЭГДС) в большинстве случаев склоняло таких пациентов к отказу от антибиотикотерапии, и лечение ограничивалось соблюдением диеты, а также спазмолитическими и антисекреторными препаратами (больные, всё-таки согласившиеся на одну из антихеликобактерных схем лечения, в исследовании не участвовали). Больные хроническим гастритом (ХГ), отказавшиеся от антихеликобактерной терапии, при отсутствии выраженной сопутствующей патологии включались в контрольную группу; рандомизированный подход не ограничивал набор по полу и возрасту; гастробиоптаты, взятые у больных ХГ, участвовали в I этапе исследования контрольной группы. Больные ХГ лечились амбулаторно, с рекомендациями диетотерапии, приёма спаз-

**Таблица 1.** Результаты генотипирования Hp из гастробиоптатов у больных ХГ; сравнение результатов I исследования (первая ЭГДС, проведённая при обращении больного ХГ) и II исследования (вторая ЭГДС через 1,5–2 мес. симптоматической терапии «по требованию», амбулаторно)

**Table 1.** Results of Hp genotyping from gastro-biopsy specimens in patients with chronic gastritis; comparison of the results of study I (the first EGDS carried out upon admission of the patient with chronic gastritis) and study II (the second EGDS after 1.5–2 months of symptomatic therapy, «on demand», outpatient)

№	Результаты без учёта данных VNTR типирования (исчезновение Hp, повторное обнаружение Hp)	Результаты с учётом данных VNTR типирования (исчезновение Hp, сохранение штамма Hp, смена штамма Hp)	Типирование по sagA гену	
			I	II
1	Повторное обнаружение Hp	Сохранение штамма Hp	+++	+
2	Повторное обнаружение Hp	Сохранение штамма Hp	+++	+++
3	Повторное обнаружение Hp	Сохранение штамма Hp	0	0
4	Исчезновение Hp	Исчезновение Hp	+++	–
5	Повторное обнаружение Hp	Смена штамма Hp	+	0
6	Повторное обнаружение Hp	Сохранение штамма Hp	+++	+++
7	Повторное обнаружение Hp	Сохранение штамма Hp	0	0
8	Повторное обнаружение Hp	Сохранение штамма Hp	0	0
9	Повторное обнаружение Hp	Смена штамма Hp	0	+++
10	Повторное обнаружение Hp	Сохранение штамма Hp	0	0
11	Исчезновение Hp	Исчезновение Hp	+++	–
12	Исчезновение Hp	Исчезновение Hp	0	–

молитиков и кислотосупрессоров; эти больные при распросах на повторной ЭГДС (через 1,5–2 мес.) отмечали, что принимали спазмолитики и кислотосупрессоры поначалу регулярно, а затем «по требованию». Гастробиоптаты, взятые у больных ХГ через 1,5–2 мес., участвовали во II этапе исследования контрольной группы. Контрольная группа состояла, как и основная, из 12 пациентов. С точки зрения фармакодинамики, для данной группы пациентов, взаимодействие микроорганизма и вышеуказанных препаратов (как антимикробных агентов) можно было считать нулевым (или ничтожным).

Гастробиоптаты сохранялись в консервирующем растворе при -20°C, а затем использовались для анализа генома Hp методом VNTR по четырём локусам и для определения наличия sagA гена. Комплексная оценка по результатам VNTR типирования и по выявлению sagA гена позволяла говорить о сохранении штамма Hp или о смене штамма Hp.

Статистическая обработка проводилась в программе «Биостатистика v4.03» с использованием критерия Уилкоксона (W) и критерия Манна–Уитни (T). Различия по Уилкоксоу считались достоверными, когда вычисленное значение W (для уменьшенного числа больных в группе, т. е. только для тех больных, у которых выявились различия до и после лечения) было больше, чем W критическое или равно ему. Различия по Манну–Уитни считались достоверными при  $p < 0,05$  [4].

## Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлено динамическое наблюдение за колонизацией слизистой оболочки желудка хеликобактером у больных ХГ со слабо выраженной клинической картиной, отказавшимися от антихеликобактерной терапии. Следует повторить, что в исследовании участвовали только те больные ХГ (что также относится и к больным ЯБ, данные по которым приводятся в табл. 3 и 5), у которых в исходном исследовании был выявлен хеликобактер экспресс-тестом, перед ЭГДС, а затем присутствие Hp было подтверждено генетическими методами.

Результаты исследования в контрольной группе (больные ХГ) оценивались двумя способами (как будет представлено и в последующем, в таблицах такого же типа).

1. Традиционный способ когда, спустя 1,5–2 мес. симптоматической терапии, в гастробиоптате либо повторно обнаруживался Hp («повторное обнаружение Hp»), либо не обнаруживался (был использован термин «исчезновение Hp»), т. к. термин «эрадикация» был бы неуместен без предшествующей антихеликобактерной терапии).

2. Инновационный способ, когда, спустя 1,5–2 мес. симптоматической терапии, факт повторного обнаружения Hp в гастробиоптате мог быть квалифицирован с помощью методики VNTR, либо как «сохранение штамма Hp», либо как «смена штамма Hp». Генотипирование по sagA гену (третий столбец в табл. 1), кроме самостоятельной ценности, позволяющей оценить вирулентность штамма Hp, рассматривалось как источник дополнительной информации, подтверждающий, например, по повторному выявлению sagA-содержащего штамма или по обнаружению штамма Hp, уже не содержащего sagA-гена, что VNTR-типирование обнаружило сохранение штамма Hp или смену штамма Hp, соответственно. Приходилось также учитывать (это касалось, в основном, статистической оценки результатов), что при обнаружении sagA гена имелся некоторый количественный разброс (от «трёх плюсов» — явное выявление, до «одного плюса» — слабое, следовое выявление).

У больных ХГ хеликобактер, можно сказать спонтанно, исчез в 3 случаях: 2 случая — вирулентные штаммы, 1 случай — невирулентный штамм. Из 9 случаев сохранившейся колонизации хеликобактером, в 2 случаях сменился штамм Hp (в одном случае — на более вирулентный, в другом случае — на менее вирулентный). Общее количество случаев заражения вирулентными штаммами в группе больных ХГ снизилось с шести (при I исследовании) до четырёх (при II исследовании).

**Таблица 2.** Различия по отдалённым результатам лечения (симптоматического лечения «по требованию», амбулаторно) у больных ХГ**Table 2.** Differences in long-term results of treatment (symptomatic «on demand» treatment, outpatient) in patients with chronic gastritis

№	Критерий Уилкоксона, $W$	Критерий Манна–Уитни, $T$
1)	$W=6$ , $n=3$ (число удалённых пар значений 9, осталось 3); Численность группы слишком мала. <b>Различие можно трактовать как недостоверное, т. к. очень много идентичных результатов до и после лечения.</b>	$T=132$ Численность обеих групп = 12. Численность групп достаточна для применения нормального распределения при проверке значимости $T$ , $p=0,102$ . <b>Различие недостоверно.</b>
2)	$W=15$ , $n=5$ (число удалённых пар значений 7, осталось 5); $W15 = W_{\text{крит.}}$ 15, где $W_{\text{крит.}}$ 15 является критическим значением для $n=5$ , при $p<0,062$ (5% уровень значимости). <b>Различие достоверно, находясь на грани достоверности.</b>	$T=120$ Численность обеих групп = 12. Численность групп достаточна для применения нормального распределения при проверке значимости $T$ , $p<0,021$ . <b>Различие достоверно.</b>
3)	$W=7$ , $n=5$ (число удалённых пар значений 7, осталось 5); $W7 < W_{\text{крит.}}$ 15, где $W_{\text{крит.}}$ 15 является критическим значением для $n=5$ , при $p<0,062$ (5% уровень значимости). <b>Различие недостоверно.</b>	$T=137$ Численность обеих групп = 12. Численность групп достаточна для применения нормального распределения при проверке значимости $T$ , $p=0,415$ . <b>Различие недостоверно.</b>

**Примечание.** Здесь и в табл. 4, 6: 1) сравнение без учёта данных VNTR типирования; 2) сравнение с учётом данных VNTR типирования; 3) сравнение изменения вирулентности  $Hr$  (по *cagA* гену).

**Note.** 1) comparison of data excluding VNTR typing data; 2) comparison of data including VNTR typing data; 3) comparison of changes in  $HP$  virulence (for the *cagA* gene).

Оценка статистическими методами различий в результатах наблюдений (затруднительно было бы называть это результатами до и после лечения, учитывая, что больные ХГ принимали лишь симптоматические средства нерегулярно, «по требованию») представлена в табл. 2. Критерий Уилкоксона позволяет сравнить результаты попарно, т. е. у каждого больного отдельно, что является более жёстким (точным) подходом к поиску различий; критерий Манна–Уитни проводит погрупповое сравнение результатов, эта методика менее точна, зато позволяет оценить в каком приближении мы находимся к выявлению различий (при недостоверности различий по Уилкоксону).

В табл. 2 сразу обращает на себя внимание тот факт, что в первой строке (различия на основе оценки результатов в виде «исчезновение  $Hr$ », «сохранение  $Hr$ ») и в третьей строке (различия по обнаружению или не обнаружению *cagA* гена, с минимальной количественной вариацией «три плюса», «один плюс») отмечено отсутствие достоверных результатов как по Уилкоксону, так и по Манну–Уитни. Здесь в оценке результатов использована бинарная система («есть — нет», «1 — 0»), и следовательно, при таком подходе мы не видим различий, произошедших в колонизации желудка у больных ХГ за 1,5–2 мес. (на симптоматической терапии). Иная картина наблюдается во второй строке: по Уилкоксону результаты фактически достоверны, а по Манну–Уитни — безусловно достоверны. Здесь в оценке результатов использовались три характеристики: сохранение штамма, исчезновение штамма, смена штамма, — что и позволило увидеть различие в колонизации желудка у больных ХГ. Трактовать данные разли-

чия, на наш взгляд, следует так: учитывая ничтожный противомикробный эффект от симптоматической терапии, в желудках больных ХГ происходит некий естественный динамический процесс, в котором имеет место и спонтанное исчезновение хеликобактерий, и замена одних штаммов  $Hr$  на другие. Однако, с учётом отсутствия достоверных различий при оценке результатов только по исчезновению  $Hr$  и по оценке повторного обнаружения *cagA* гена, в группе наблюдавшихся больных ХГ сохраняется некое устойчивое состояние в отношении заселённости желудка хеликобактериями и по доле вирулентных штаммов среди этих хеликобактерий. Другими словами, симптоматическая терапия принципиально не меняет картину колонизации желудка у больных ХГ, но при этом вполне возможно, что участвует в динамическом процессе, включающем и временную элиминацию  $Hr$ , и повторную колонизацию слизистой оболочки желудка.

В табл. 3 представлены данные по контролю за проведённой антихеликобактерной терапией у больных ЯБ, т. е. оценивается динамика колонизации желудка хеликобактером — до и сразу после курса антихеликобактерной терапии.

Сразу обращает внимание тот факт, что эрадикация произошла только у одной трети больных ЯБ (4 из 12) — у трёх больных это были вирулентные штаммы, у одного — невирулентный штамм. Также обращает внимание то, что исходно было много вирулентных штаммов  $Hr$  (10 из 12, тогда как у больных ХГ было 6 из 12); однако после проведения антихеликобактерной терапии, в тех случаях, когда хеликобактер продолжал выявляться (8 из 12), смена штамма произошла

**Таблица 3.** Результаты генотипирования Hp из гастробиоптатов у больных ЯБ; сравнение результатов I исследования (первая ЭГДС, проведённая до антихеликобактерной терапии) и II исследования (вторая ЭГДС, проведённая сразу после антихеликобактерной терапии)

**Table 3.** Results of Hp genotyping from gastro-biopsy specimens in patients with ulcer; comparison of the results of study I (the first EGDS, conducted before anti-Hp therapy) and study II (the second EGDS, carried out immediately after the anti-Hp therapy)

№	Результаты без учёта данных VNTR типирования (исчезновение Hp, повторное обнаружение Hp)	Результаты с учётом данных VNTR типирования (исчезновение Hp, сохранение штамма Hp, смена штамма Hp)	Типирование по <i>saA</i> гену	
			I	II
1	Эрадикация Hp	Эрадикация Hp	+++	-
2	Эрадикация Hp	Эрадикация Hp	+++	-
3	Повторное обнаружение Hp	Сохранение штамма Hp	+++	+++
4	Повторное обнаружение Hp	Смена штамма Hp	+++	+++
5	Эрадикация Hp	Эрадикация Hp	+++	-
6	Повторное обнаружение Hp	Сохранение штамма Hp	+++	+++
7	Повторное обнаружение Hp	Сохранение штамма Hp	+++	+++
8	Повторное обнаружение Hp	Сохранение штамма Hp	+	+
9	Повторное обнаружение Hp	Сохранение штамма Hp	+++	+
10	Повторное обнаружение Hp	Смена штамма Hp	+++	0
11	Эрадикация Hp	Эрадикация Hp	0	-
12	Повторное обнаружение Hp	Сохранение штамма Hp	0	0

только в двух случаях: один раз — на другой вирулентный штамм, один раз — на невирулентный штамм, в остальных же случаях (6 из 12) штамм Hp сохранялся.

В табл. 4 дана статистическая обработка данных из табл. 3 (т. е. данных по сравнению первоначальной колонизации желудка у больных ЯБ и колонизации, выявленной сразу после антихеликобактерной терапии). Если результаты представлять только через две характеристики («эрадикация» и «повторное обнаружение Hp»), то, пользуясь критерием Уилкоксона, различий не видно, но пользуясь статистикой погруппового сравнения (критерий Манна–Уитни) различия улавливаются с достоверностью на грани 5% значимости ( $p=0,046$ ). Если результаты представлять через три характеристики («эрадикация», «сохранение штамма Hp» и «смена штамма Hp»),

то мы получаем безусловное различие по картине колонизации желудка до и после антихеликобактерной терапии как с использованием статистики Уилкоксона, так и статистики Манна–Уитни (другое дело, устраивает ли нас такое различие, где эрадикаций мало, а ведь именно такая цель, — эрадикация хеликобактер — ставилась при проведении антихеликобактерной терапии.) И наконец, что касается различий по вирулентности: кое-каких результатов мы достигли: различия улавливаются, но находятся на грани достоверности ( $W_{21}=W_{крит.21}$  при  $p<0,062$  по Уилкоксону, и  $p=0,052$  по Манну–Уитни); другими словами, заселённость желудка вирулентными штаммами у больных ЯБ достоверно снизилась, в основном, за счёт эрадикации вирулентных штаммов (эрадикация 3 вирулентных штамма и один невирулентный штамм), но также и за счёт «смены

**Таблица 4.** Различия по результатам антихеликобактерной терапии, полученные сразу после проведения антихеликобактерной терапии у больных ЯБ

**Table 4.** Differences in the results of anti-Hp therapy, obtained immediately after anti-Hp therapy in patients with ulcer

№	Критерий Уилкоксона, <i>W</i>	Критерий Манна–Уитни, <i>T</i>
1)	$W=10$ , $n=4$ (число удалённых пар значений 8, осталось 4); Численность группы слишком мала. <b>Различие можно трактовать как недостоверное, т. к. очень много идентичных результатов до и после лечения.</b>	$T=126$ Численность обеих групп = 12. Численность групп достаточна для применения нормального распределения при проверке значимости $T$ , $p=0,046$ . <b>Различие достоверно, находясь на грани достоверности.</b>
2)	$W=21$ , $n=6$ (число удалённых пар значений 6, осталось 6); $W_{21}=W_{крит.21}$ , где $W_{крит.21}$ является критическим значением для $n=6$ , при $p<0,032$ (1% уровень значимости). <b>Различие достоверно для 5% уровня значимости, находясь на грани достоверности 1% уровня значимости.</b>	$T=114$ Численность обеих групп = 12. Численность групп достаточна для применения нормального распределения при проверке значимости $T$ , $p<0,09$ . <b>Различие достоверно.</b>
3)	$W=15$ , $n=5$ (число удалённых пар значений 7, осталось 5); $W_{15}<W_{крит.15}$ , где $W_{крит.15}$ является критическим значением для $n=5$ , при $p<0,062$ (5% уровень значимости). <b>Различие достоверно, находясь на грани достоверности.</b>	$T=119$ Численность обеих групп = 12. Численность групп достаточна для применения нормального распределения при проверке значимости $T$ , $p=0,052$ . <b>Различие достоверно, находясь на грани достоверности.</b>

**Таблица 5.** Результаты генотипирования Hp из гастробиоптатов у больных ЯБ; сравнение результатов I исследования (первая ЭГДС, проведённая до антихеликобактерной терапии) и III исследования (третья ЭГДС, проведённая через 1,5–2 мес. после антихеликобактерной терапии)

**Table 5.** Results of Hp genotyping from gastro-biopsy specimens in patients with ulcer; comparison of the results of study I (the first EGDS, conducted before anti-Hp therapy) and study III (the third EGDS, conducted 1.5–2 months after anti-Hp therapy)

№	Результаты без учёта данных VNTR типирования (исчезновение Hp, повторное обнаружение Hp)	Результаты с учётом данных VNTR типирования (исчезновение Hp, сохранение штамма Hp, смена штамма Hp)	Типирование по <i>saA</i> гену	
			I	II
1	Повторное обнаружение Hp	Смена штамма Hp	+++	0
2	Повторное обнаружение Hp	Смена штамма Hp	+++	+++
3	Повторное обнаружение Hp	Сохранение штамма Hp	+++	+
4	Эрадикация Hp	Эрадикация Hp	+++	–
5	Повторное обнаружение Hp	Сохранение штамма Hp	+++	+
6	Эрадикация Hp	Эрадикация Hp	+++	–
7	Эрадикация Hp	Эрадикация Hp	+++	–
8	Повторное обнаружение Hp	Смена штамма Hp	+	0
9	Эрадикация Hp	Эрадикация Hp	+++	–
10	Повторное обнаружение Hp	Смена штамма Hp	+++	0
11	Эрадикация Hp	Эрадикация Hp	0	–
12	Эрадикация Hp	Эрадикация Hp	0	–

штамма Hp» с вирулентного на невирулентный (единичный случай, пациент №10).

На последнем этапе исследования была поставлена задача отследить, какие штаммы Hp обнаруживаются у наших бывших пациентов (больных ЯБ), получавших антихеликобактерную терапию 1,5–2 мес. назад. Напомним, что эти пациенты обследовались на данном этапе амбулаторно, находясь в состоянии ремиссии (а не при повторном поступлении в стационар с рецидивом ЯБ); результаты, полученные в данном исследовании (III исследование), сравнивались с исходным исследованием (I исследование).

Сразу следует внести ясность, что результаты, приведённые в табл. 5 (сравнение первоначальной колонизации желудков у больных ЯБ с колонизацией через 1,5–2 мес. после антихеликобактерной терапии), не учитывают результатов, приведённых в табл. 3 (сравнение первоначальной колонизации желудков у больных ЯБ с колонизацией сразу после проведения антихеликобактерной терапии); это как бы два независимых исследования, что позволяет сопоставлять раннюю и позднюю эффективность антибактериальной терапии. Начать уместно с сопоставления эрадикаций; обращает внимание тот факт, что в табл. 5 (III исследование) увеличилось число эрадикаций по сравнению с табл. 3 (II исследование): 6 из 12 против 4 из 12. Однако это не значит, что к предыдущим четырём эрадикациям добавились две новые. Так эрадикация оказалась стойкой только в одном случае, у пациента №11. Тогда как, например, у пациентов №1 и №2 (у обоих исходно были вирулентные штаммы Hp) сразу после антихеликобактерной терапии Hp не обнаруживался (II исследование), теперь же у них выявились новые штаммы Hp (в одном случае, вирулентный, в другом случае, невирулентный). Появившиеся пять новых эрадикаций (пациенты

№№ 4, 6, 7, 9, 12) возникли у пациентов, которые во II исследовании демонстрировали «сохранение штамма Hp»; за 1,5–2 мес. они не получали никакой антибактериальной терапии, и следовательно, достигнутый результат (эрадикация) надо рассматривать как некий поздний эффект антихеликобактерной терапии.

Нельзя не отметить воздействия вышеуказанного позднего эффекта антихеликобактерной терапии на вирулентность штаммов Hp, однако число вирулентных штаммов в III исследовании снизилось, в основном, за счёт эрадикации; из тех штаммов, что остались (всего таких 6 из 12), в 4 случаях штамм сменился, а в 2 сохранился; из 4 сменившихся штаммов — у трёх *saA* ген исчез, а у одного штамма — продолжал регистрироваться. Сравнивая с табл. 3 (II исследование), из тех штаммов, что тогда сменились (их всего 2 — пациенты №4 и №10), у одного снова обнаруживался *saA* ген, а у другого — не обнаруживался.

Статистическая обработка данных из табл. 5 (т. е. данных, полученных в III исследовании, которые сравнивались с данными по первоначальной колонизацией желудков у больных ЯБ), приведена в табл. 6.

Если результаты представлять только через две характеристики («эрадикация» и «повторное обнаружение Hp»), то, пользуясь критерием Уилкоксона, различия находятся на грани 1% уровня значимости, т. е. 5% уровень значимости достигнут безусловно; пользуясь статистикой погруппового сравнения (критерий Манна–Уитни) различия также безусловно достоверны ( $p=0,008$ ). Если результаты представлять через три характеристики («эрадикация», «сохранение штамма Hp» и «смена штамма Hp»), то мы получаем достоверное различие даже с 1% уровнем значимости при использовании статистики Уилкоксона; статистика Манна–Уитни даёт высокодостоверные различия ( $p<0,001$ ).

**Таблица 6.** Различия по результатам антихеликобактерной терапии, полученные сразу после проведения антихеликобактерной терапии у больных ЯБ

**Table 6.** Differences in the results of anti-Hp therapy, obtained 1.5–2 months after anti-Helicobacter pylori therapy in patients with ulcer

№	Критерий Уилкоксона, $W$	Критерий Манна–Уитни, $T$
1)	$W=21, n=6$ (число удалённых пар значений 6, осталось 6); $W_{21} = W_{\text{крит.}21}$ , где $W_{\text{крит.}21}$ является критическим значением для $n=6$ , при $p<0,032$ (1% уровень значимости). <b>Различие достоверно для 5% уровня значимости, находясь на грани достоверности 1% уровня значимости.</b>	$T=114$ Численность обеих групп = 12. Численность групп достаточна для применения нормального распределения при проверке значимости $T, p<0,008$ . <b>Различие достоверно.</b>
2)	$W=55, n=10$ (число удалённых пар значений 2, осталось 10); $W_{50} = W_{\text{крит.}45}$ , где $W_{\text{крит.}45}$ является критическим значением для $n=10$ , при $p<0,020$ (1% уровень значимости). <b>Различие достоверно для 1% уровня значимости (и тем более, для 5% уровня значимости).</b>	$T=90$ Численность обеих групп = 12. Численность групп достаточна для применения нормального распределения при проверке значимости $T, p<0,001$ . <b>Различие достоверно.</b>
3)	$W=45, n=9$ (число удалённых пар значений 3, осталось 9); $W_{45} = W_{\text{крит.}39}$ , где $W_{\text{крит.}39}$ является критическим значением для $n=9$ , при $p<0,020$ (1% уровень значимости). <b>Различие достоверно для 1% уровня значимости (и тем более, для 5% уровня значимости).</b>	$T=90$ Численность обеих групп = 12. Численность групп достаточна для применения нормального распределения при проверке значимости $T, p<0,001$ . <b>Различие достоверно.</b>

И наконец, что касается различий по вирулентности: здесь также имеются различия с 1% уровнем значимости (по Уилкоксону) и высокодостоверные различия по Манну–Уитни ( $p<0,001$ ). Интересным является тот факт, что заселённость желудков вирулентными штаммами в группе больных ЯБ снизилась через 1,5–2 мес. после антихеликобактерной терапии как за счёт эрадикации (эрадицированы 4 вирулентных штамма и 2 невирулентных штамма), так и за счёт «смены штамма Нр», когда исходно был вирулентный штамм, но через 1,5–2 мес. Нр повторно обнаруживается, только это уже невирулентный штамм (произошло в 3 случаях из 12).

Мы подошли к тому, чтобы сопоставить результаты, полученные в основной группе (больные ЯБ), с результатами, полученными в контрольной группе (больные ХГ). Сначала возьмём результаты, полученные у больных ЯБ сразу после антихеликобактерной терапии (см. табл. 4), и сопоставим их с результатами, полученными у больных ХГ, т. е. у больных, желудок которых был колонизирован хеликобактером, но которые находились без лечения, кроме симптоматического, в течение 1,5–2 мес. (см. табл. 2). Если оценивать результаты с точки зрения «эрадикации Нр» («исчезновения Нр» у больных ХГ) и «повторного обнаружения Нр», то в обеих таблицах наблюдаются либо недостоверные различия, либо различия на грани достоверности как по Уилкоксону, так и по Манну–Уитни. Аналогичная ситуация наблюдается и при оценке вирулентности штаммов: в обеих таблицах различия либо недостоверны, либо находятся на грани достоверности. И только во второй строке обеих таблиц, где приведены сравнения с использованием трёх параметров, — «эрадикация Нр» («исчезновение Нр» у больных ХГ), «сохранение штамма Нр», «смена

штамма Нр», — мы видим достоверные различия, что, впрочем, также указывает на схожесть таблиц по структуре полученных результатов. Можно сделать вывод, что изменения в колонизации желудков, наблюдаемые сразу после антихеликобактерной терапии, мало чем отличаются от тех изменений, что происходят с колонизацией желудка за 1,5–2 мес. без лечения. В обоих случаях, эти изменения минимальны; но если и выявляются достоверные изменения, то лишь после того, как мы вводим понятие «смены штамма Нр», т. е. когда начинаем анализировать повторное обнаружение хеликобактера.

Теперь обратимся к результатам, полученным у больных ЯБ через 1,5–2 мес. после антихеликобактерной терапии (табл. 6), и сопоставим их с результатами, полученными у больных ХГ, которые находились без лечения, кроме симптоматического, в течение 1,5–2 мес. (табл. 2). Сразу бросается в глаза контраст: у больных ЯБ через 1,5–2 мес. по всем трём строкам табл. 6 имеются достоверные различия, а у больных ХГ через 1,5–2 мес., как уже отмечалось, достоверность различий появляется только при введении оценки посредством трёх параметров (добавление «смены штамма») во второй строке табл. 2.

Вполне очевидный вывод из двух приведённых сопоставлений такой: оценивать результаты антихеликобактерной терапии следует не в ближайшие сроки после терапии (в этот период они близки к таковым, будто этих больных ЯБ вообще не лечили), а в весьма отдалённые сроки после антихеликобактерной терапии (1,5–2 мес.). Данный вывод только подтверждает рекомендации Маастрихтских соглашений об аналогичном подходе для оценки результатов, однако Маастрихтские соглашения нацелены исключительно на эрадикацию как исход антихеликобактерной те-

рапии; мы же видим, что положительная динамика в бактериологической картине идёт и по линии снижения вирулентности штаммов *Hp*. Так, сразу после антихеликобактерной терапии, набор вирулентных штаммов *Hp* у больных ЯБ не сильно отличался (различия на грани достоверности) с тем набором вирулентных штаммов *Hp*, который был в группе больных ЯБ при поступлении в стационар (табл. 4); зато через 1,5–2 мес. различия по вирулентности становились высокодостоверными (табл. 6). Но за счёт чего происходит такое значительное уменьшение вирулентных штаммов? Конечно, в первую очередь, за счёт эрадикации (у 6 пациентов из 12 в III исследовании, тогда как во II исследовании — у 4 из 12); но велика также доля смены штамма *Hp* — с вирулентного на невирулентный. У тех пациентов, где эрадикация не была достигнута (6 из 12), смена штамма произошла у 4 из 6 (т. е. у 2 больных штамм сохранился); из 4 штаммов, которые сменились, лишь в одном случае был снова выявлен вирулентный штамм (пациент № 2 табл. 5), а в 3 случаях штаммы сменились на не вирулентные (пациенты №№ 1, 8, 10 табл. 5). Обратим внимание, что этот процесс смены штаммов стал наблюдаться ещё во II исследовании (оценка сразу после антихеликобактерной терапии); тогда штаммы сменились лишь у двух больных ЯБ: в одном случае — на вирулентный (пациент № 4 табл. 3), а в другом случае — на невирулентный (пациент № 10 табл. 3). Таким образом, мы видим, что в отдалённые сроки после антихеликобактерной терапии нарастает как количество эрадикаций, так и количество смен штаммов с вирулентного на невирулентный. Этот вывод можно рассматривать как более широкий взгляд на структуру отдалённых результатов антихеликобактерной терапии, который не входит в противоречие с Маастрихтскими рекомендациями о поздних сроках контроля за антихеликобактерной терапией, а дополняет их, демонстрируя, что положительная динамика бактериологической картины (на поздних сроках наблюдения) может оцениваться и по изменению штаммового состава неэрадицированных *Hp*.

Многочисленные исследования, ориентированные на поздние сроки контроля антихеликобактерной терапии, приводят свои данные о допустимом сокращении этих сроков или, наоборот, об удлинении их; однако все они имеют один критерий эффективности — эрадикацию. Доказываются стандартные, по Маастрихт 5, жёсткие требования, при которых для контроля эрадикации требуется как минимум 28 дней [5], приводятся данные об эрадикации *Hp* именно через 4 недели после антихеликобактерной терапии у больных ХГ и хроническим гастродуоденитом (в 85% случаев), у больных язвенной болезнью двенадцати-

перстой кишки (в 89% случаев) и у больных язвенной болезнью желудка (в 82% случаев) [6]. Встречаются и работы по динамическому наблюдению за больными через 2, 4, 8 нед. и 6 мес. после антихеликобактерной терапии, так, например, через 4–8 нед. эрадикация отмечалась у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки в 96,3% случаев [7]; есть работы, в которых отсчёт ведётся от начала антихеликобактерной терапии, так есть данные, что спустя 2 нед. после начала антихеликобактерной терапии *Hp* не был обнаружен в 62% случаев, но к 30-у дню отсутствовал только у 39% больных, а через 6 мес. не определялся у 89% пациентов [8].

Вопрос о том, является ли эрадикация *Hp* безусловным критерием успешной антихеликобактерной терапии при лечении сложных в патогенетическом отношении заболеваний типа ЯБ или ХГ остаётся открытым. Мы даже не будем приводить ссылочные данные к информации, которой пестрит интернет, о 60–90% обнаружения *Hp* у здоровых лиц, о положительном влиянии присутствия *Hp* в организме на аллергические и аутоиммунные заболевания и т. д. В представленной работе мы попытались показать, что используя методику фиксации штаммов *Hp* (VNTR-типирование), выявляется более динамичный процесс, характеризующий колонизацию желудка хеликобактером после проведения антихеликобактерной терапии, успешной в клиническом плане. Кроме того, отслеживая штаммы *Hp* на достаточно длительном промежутке времени, обнаруживалась динамика заселения желудка хеликобактером и без проведения этиотропного лечения микроорганизма (у больных ХГ). В обоих случаях наблюдались и сохранения штаммов, и смены штаммов, и исчезновение *Hp*. Действительно, курс антибактериальной терапии менял отдалённую картину колонизации (по сравнению с не принимавшими антибиотики больными ХГ): нарастало число эрадикаций (при том что были самопроизвольные исчезновения *Hp* и у больных ХГ), резко уменьшалось число вирулентных штаммов у больных ЯБ, особенно на поздних сроках наблюдения, но надо принимать во внимание, что, например, исходно у некоторых больных ЯБ штамм *Hp* не содержал *saA* ген, а у больных ХГ, наоборот, исходно нередко были *saA*-содержащие штаммы. Напрашивается вывод о том, что есть смысл говорить о колонизационной резистентности к хеликобактеру, которая может исчезать под влиянием ряда факторов, приводящих к агрессивной колонизации слизистой оболочки желудка. Примером потери колонизационной резистентности может служить развитие псевдомембранозного колита при нарушении клостридиального комменсализма, а существование и изучение кишечного микробиота

уже имеет немалую историю [9]. В практическом плане проведённое нами исследование представляет аргументы в пользу проведения антихеликобактерной терапии как метода прервать процесс агрессивной колонизации желудка хеликобактером, когда макроорганизм потерял колонизационную резистентность к Нр; восстановление же колонизационной резистентности, по всей видимости, может происходить очень быстро (например, сразу же после курса антибиотикотерапии) и выражаться в разных формах — от заселения желудка новым штаммом Нр (вклю-

чая вирулентные штаммы) до сохранения штамма Нр (включая вирулентные) и исчезновения (эрадикации). Настоящее исследование вновь дало повод сомневаться в правоте бытующего мнения, что антихеликобактерная терапия оказалась неуспешной, если достигнутая эрадикация (II исследование, т. е. сразу после антихеликобактерной терапии) сменялась заселением желудка новыми штаммами, включая вирулентные (III исследование, т. е. через 1,5–2 мес. после антихеликобактерной терапии), при том, что пациенты находились в ремиссии по ЯБ.

## Литература/References

1. Malfertheiner P et al. Management of *Helicobacter pylori* infection — the Maastricht V/Florence Consensus Report Gut. 2017; 66: 6–30.
2. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Лапина Т.Л., Шептулин А.А., Трухманов А.С., Баранская Е.К. и др. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению инфекции *Helicobacter pylori* у взрослых. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2018; 28 (1): 55–77. [Ivashkin V.T., Maev I.V., Lapina T.L., Sheptulin A.A., Trukhmanov A.S., Baranskaya E.K. et al. Klinicheskie rekomendatsii Rossiiskoi gastroenterologicheskoi assotsiatsii po diagnostike i lecheniyu infektsii *Helicobacter pylori* u vzroslykh. Rossiiskii Zhurnal Gastroenterologii, Gepatologii, Koloproktologii 2018; 28 (1). 55–77. (in Russian)]
3. Sorokin V.M., Pisanov R.V., Vodop'janov A.S., Golubkina E.V. New tool for phylogenetic analysis of *Helicobacter pylori*. World Journal of Advanced Research and Reviews. 2020; 6 (2): 60–67. doi: 10.30574/wjarr.2020.6.2.0128.
4. Гланц С. Медико-биологическая статистика. «Практика», М.: 1999; 459. [Glants S. Mediko-biologicheskaya statistika. «Praktika», Moscow: 1999; 459. (in Russian)]
5. Wu W., Yang Y., Sun G. Recent Insights into Antibiotic Resistance in *Helicobacter pylori* Eradication. Gastroenterology Research and Practice. 2012; 723183 Published online 2012 Jul 5 doi: 10.1155/2012/723183.
6. Старостин, Б.Д., Старостина Г.А. Гибридная антихеликобактерная терапия. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, ко-

- лопроктологии (Приложение № 46). Материалы 21 Российской гастроэнтерологической недели. 2015; XXV (5): 31. [Starostin B.D., Starostina G.A. Gibridnaya antikhelikobakternaya terapiya. Rossiiskii Zhurnal Gastroenterologii, Gepatologii, Koloproktologii (Prilozhenie № 46) Materialy 21 Rossiiskoi Gastroenterologicheskoi Nedeli 2015; XXV (5): 31. (in Russian)]
7. Хамрабаева Ф.И. К вопросу оптимизации эрадикационной терапии при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. (Приложение № 44). Материалы Юбилейной 20 Российской гастроэнтерологической недели. 2014; XXIV (5): 30. [Khamrabaeva F.I. K voprosu optimizatsii eradikatsionnoi terapii pri yazvennoi bolezni dvenadtsatiperstnoi kishki. Rossiiskii Zhurnal Gastroenterologii, Gepatologii, Koloproktologii (Prilozhenie № 44). Materialy Yubileinoi 20 Rossiiskoi gastroenterologicheskoi nedeli 2014; XXIV (5): 30. (in Russian)]
8. Белова О.Л., Белова И.М. Эффективность противоязвенной и эрадикационной терапии язвенной болезни двенадцатиперстной кишки. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии (Приложение № 46). Материалы 21 Российской гастроэнтерологической недели. 2015; XXV (5): 17. [Belova O.L., Belova I.M. Effektivnost' protivoyazvennoi i eradikatsionnoi terapii yazvennoi bolezni dvenadtsatiperstnoi kishki. Rossiiskii Zhurnal Gastroenterologii, Gepatologii, Koloproktologii (Prilozhenie № 46). Materialy 21 Rossiiskoi gastroenterologicheskoi nedeli 2015; XXV (5): 17. (in Russian)]
9. Ivanov I.I., Honda K. Intestinal Commensal Microbes as Immune Modulators. Cell Host & Microbe. 2012; 12: 496–508.

## Информация об авторах

Голубкина Елена Вадимовна — к. м. н., доцент кафедры клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID 0000-0001-9203-5857. eLIBRARY SPIN-код: 1410-3092

Сорокин Владимир Михайлович — к. б. н., старший научный сотрудник, лаборатории туляремии ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-1835-1496. Scopus: 7201463407

Левитан Болеслав Наумович — д. м. н., профессор, заведующий кафедрой факультетской терапии и профессиональных болезней с курсом последипломного образования ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID 0000-0001-6725-8290. Scopus ID: 7003706105

Умерова Аделя Равильевна — д. м. н., доцент, заведующая кафедрой клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-3129-2443

Камнева Наталия Вячеславовна — д. м. н., доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-4453-8614

## About the authors

Elena V. Golubkina — Ph.D. in medicine, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russia. ORCID 0000-0001-9203-5857. eLIBRARY SPIN: 1410-3092

Vladimir M. Sorokin — Ph.D. in biology, Senior Researcher, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0002-1835-1496. Scopus: 7201463407

Boleslav N. Levitan — D.Sc. in medicine, Professor, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russia. ORCID 0000-0001-6725-8290. Scopus ID: 7003706105

Adelya R. Umerova — D.Sc. in medicine, Associate Professor, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russia. ORCID: 0000-0002-3129-2443

Natalia V. Kamneva — D.Sc. in medicine, Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Astrakhan, Russia. ORCID: 0000-0003-4453-8614